

Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского

Л.П. ЛОБАНОВА

ГЕНЕТИКА РАЗВИТИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРУКТУР
ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ

*Учебно-методическое пособие
для студентов и аспирантов биологического факультета*

ИЗДАТЕЛЬСТВО САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА
2014

Лобанова Л.П.

Генетика развития репродуктивных структур покрытосеменных растений: Учеб.-метод. пособие. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2014. – 34 с.

В пособии представлены теоретический материал и вопросы для подготовки к семинарским и практическим занятиям по четырем темам дисциплин «Биология и генетика систем размножения» и «Современная генетика», а также тестовые задания для самоконтроля знаний, список рекомендуемой литературы и словарь терминов.

Пособие предназначено для студентов, обучающихся по направлениям подготовки бакалавров и магистров «020400 – Биология», аспирантов и преподавателей.

Рекомендуют к печати:

Кафедра генетики Саратовского государственного университета
Доктор биологических наук *О. И. Юдакова*

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
1. Развитие цветка.....	5
2. Мейоз.....	11
3. Развитие микрогаметофита.....	18
4. Развитие мегagamетофита.....	23
Словарь терминов.....	29
Ответы к задачам для самоконтроля.....	32

САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Н. ЧЕРНЫШЕВСКОГО

ВВЕДЕНИЕ

Генетика развития репродуктивных структур растений одно из наиболее бурно развивающихся направлений современной генетики, которое имеет важное теоретическое и прикладное значение. Выявление закономерностей проявления и наследования генеративных признаков способствует решению актуальных задач генетики и селекции растений, связанных с вопросами стерильности, гибридизации, изменения уровня ploидности, создания гомозиготных форм, закрепления гетерозиса путем перевода на апомиксис. К настоящему времени получена обширная информация по генетике развития цветка, мейоза, развития мужского и женского гаметофитов. Однако учебная литература на русском языке по данным вопросам практически полностью отсутствует, чем и объясняется выпуск данного учебного пособия.

Вопросы генетического контроля развития цветка наиболее сложны для усвоения и поэтому в данном учебно-методическом пособии приведен перечень основных генов, показано их взаимодействие, особенности экспрессии, даны определения основным терминам и понятиям.

В следующих темах приведены данные генетических исследований мейоза и развития микро- и мегагаметофитов. Этот раздел очень важен для студентов биологического и сельскохозяйственного профиля, поскольку наиболее тесно связан с практическими работами в области селекции и биотехнологии растений. Поэтому в пособии, с одной стороны, изложены современные данные в этой области исследований, а с другой – уделено внимание наглядности и разнообразию демонстрационного материала на практических занятиях.

Пособие содержит вопросы для подготовки к семинарским занятиям, дан план проведения практических занятий, а также тестовые задания для самоконтроля знаний. Приведён список рекомендуемой литературы и словарь терминов.

Пособие предназначено для студентов, обучающихся по направлениям подготовки бакалавров и магистров «020400 – Биология», аспирантов и преподавателей.

1. РАЗВИТИЕ ЦВЕТКА

У растений развитие цветка является наиболее перспективной генетической моделью, поскольку этот процесс наиболее строго детерминирован в пространстве и времени. Формирование цветковых меристем значительно меньше зависит от факторов внешней среды, чем процесс запуска программ цветения, и более жестко контролируется генотипом. Важность изучения именно цветка связана, во-первых, с наличием в цветке большого количества разнообразных структур, во-вторых, в процессе его развития происходит чередование гаметофитного и спорофитного поколений и, в-третьих, функции цветка очень многообразны: на разных стадиях его развития в нем происходят микро- и мегаспорогенез, опыление, сложный процесс оплодотворения и не менее сложный процесс образования зародыша и плода.

Цветок – это видоизменённый и укороченный побег, формирующийся из генеративной меристемы. При активации генеративной меристемы в цветковую происходит активация небольшой группы генов. Гены, контролирующие переход к цветению и развитие цветка лучше всего изучены у арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*), относящемуся к семейству Капустные (Brassicaceae). Это растение является удобным модельным объектом для молекулярно-генетических исследований растений. Его геном является наименьшим из известных у цветковых растений и первым секвенированным геномом у растений.

Развитие меристемы цветка. Основными генами, контролирующими появление цветковых меристем у арабидопсиса являются гены: *LEAFY (LFY)*, *UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO)*, *APETALA1 (API)*.

Ген *LFY* является ключевым в процессе образования цветков. Его транскрипция зависит от разных сигналов, инициирующих цветение: фотопериода, холодового воздействия, эндогенного уровня гиббереллина, ауксина, сахарозы. Геном-антогонистом *LFY* является ген *TFL1 (TERMINAL FLOWER1)*, который работает в вегетативной апикальной меристеме. Его главная функция поддержание ее недетерминированности и меристематической активности. Но, в какой-то момент, под действием внешних и внутренних факторов (продолжительности светового дня, температуры, фитогормонов и др.), ген *LFY* перебарывает *TFL1*, начинает тормозить его работу и запускает процесс образования цветка. Продукт гена *LFY* – фактор транскрипции, следовательно, ген *LFY* может регулировать экспрессию других генов.

Известно, что *LFY* является важнейшим активатором генов класса В и гомеозисных генов *API* и *AG* (см. ниже).

У мутантов *lfy* вместо цветков закладываются боковые побеги и только наверху соцветия могут образовываться аномальные цветки, имеющие признаки соцветия: прицветные листья, спиральное расположение органов цветка, увеличенное расстояние между органами. У мутантов *tfl1* цветение наступает значительно раньше и вместо точки роста соцветия образуется одиночный цветок. Таким образом, вместо соцветия открытого типа, характерного для арабидопсиса, образуется соцветие закрытого типа.

Мутанты *lfy* являются гомеозисными мутантами, так как их фенотип выражается в замене одной структуры на другую: цветка на генеративный побег. Они являются также гетерохроническими мутантами, так как приводят к повторению более ранней программы развития, то есть к временным изменениям в процессе развития.

Ген *UFO* считается корегулятором гена *LFY*. Он способен нормально функционировать только при наличии активности *LFY* и их совместное действие необходимо для регуляции экспрессии генов класса В. Считается, что ген *UFO* участвует в регуляции клеточных делений и пролиферации органов. Мутанты по гену *UFO* характеризуются множественностью фенотипов, что указывает на множественность его функций. У мутантов происходят изменения размеров и количества органов цветка, их слияние, замена одних структур на другие.

Ген *API* начинает экспрессироваться в момент приобретения меристемами морфологических различий, т.е. чуть позже чем *LFY*. Экспрессия идет по всему примордию цветка, а позже обнаруживается только в примордиях чашелистиков и лепестков. Ген *API* является регуляторным и кодирует белок с ДНК-связывающим MADS-доменом. Мутация гена проявляется в образовании вторичных цветковых меристем, закладывающихся в пазухах чашелистиков. В этих вторичных цветках могут закладываться третичные цветочные меристемы и образовывать третичные цветки. Таким образом формируется побегоподобная структура цветков.

Развитие органов цветка. Органы, составляющие зрелый цветок у большинства цветковых растений, располагаются четырьмя кругами: снаружи круг из чашелистиков, затем из лепестков, тычинок и в центре – из плодолистиков, образующих пестик. Цветок арабидопсиса состоит из четырех чашелистиков, четырех лепестков, шести тычинок и двух сросшихся плодолистиков. Наблюдения за гомеозисными мутациями у арабидопсиса, вызывающими превращение одних органов цветка в другие, привели к созданию модели развития цветка ABC.

Согласно модели ABC дифференциация органов цветка определяется работой 3-х классов регулирующих генов: гены класса А отвечают за развитие чашелистиков (Ч), в сумме с генами класса В они определяют формирование лепестков (Л), совместная работа генов класса В и С ведет к развитию тычинок (Т), а гены С сами по себе контролируют появление плодолистика (П) в центре цветка. Вероятно, не все еще найдены, но уже известно, что у арабидопсиса к

группе А относятся гены *AP1* (*APETALA1*) и *AP2* (*APETALA2*), к В – *AP3* (*APETALA3*) и *PI* (*PISTILATA*), к С – *AG* (*AGAMOUS*).

Судьба каждого отдельного цветка определяется комбинацией генов, экспрессируемых в каждом круге. При этом гены класса А и С являются антагонистами и взаимно подавляют экспрессию друг друга. По этой гипотезе дефектность генов класса А приводит к тому, что ген *AG* начинает экспрессироваться во всех четырех кругах. Сформировавшийся цветок имеет следующее расположение органов: П-Т-Т-П. Такой цветок полностью лишен чашелистиков и лепестков. И напротив, мутация гена *AG* приводит к активации генов класса А во всех четырех кругах. Цветок имеет тип: Ч-Л-Л-Ч.

Гены *AP1*, *AP3*, *PI* и *AG* кодируют транскрипционные факторы содержащие высококонсервативный ДНК-связывающий MADS-домен. Он состоит из 60 аминокислот и способен связываться с регуляторными последовательностями генов-мишеней. Гены, содержащие MADS-боксы являются гомеозисными, т.е. определяющими процессы роста и дифференцировки цветка, а их мутации вызывают превращение одного органа в другой.

В настоящее время модель ABC расширена. Гены, которые отвечают за развитие цветка, делят на 5 классов, которые проявляют пять видов активности, обозначаемых буквами А, В, С, D, Е. К классу D у арабидопсиса относится ген *AGL11* (*AGAMOUS-LIKE11*), который необходим для образования семян. Нарушение его функции превращает семяпочки в плодолистикоподобные структуры.

К генам с активностью Е у арабидопсиса относится 4 гена с MADS-боксами: *SEP1*, *SEP2*, *SEP3*, *SEP4* (*SEPALLATA1,2,3,4*). Эти гены участвуют в создании лепестков, тычинок, плодолистиков и, вероятно, семян. Установлено, что продукты генов ABC-классов работают в составе белковых «квартетов», в которых продукты генов Е-класса выполняют роль стабилизации и скрепления (склеивания) белков. Состав таких белковых комплексов определяет специфичность их связывания с генами-мишенями, отвечающими за развитие органов цветка. В целом модель ABCDE не изменила основных положений ABC-модели, но позволила детализировать ее молекулярные механизмы.

Генетические механизмы, определяющие время и место экспрессии гомеозисных генов цветка разнообразны. Основным транскрипционным активатором генов ABC-класса является ген *LFY* (см. выше). Правильная закладка органов цветка осуществляется также благодаря работе кадрастных генов, определяющих пространственные границы экспрессии других генов. Например, ген *SUP* (*SUPERMAN*) поддерживает границу между 3-й и 4-й мутовками, что определяет правильную границу экспрессии гена *AP3*. Поскольку ген *SUP* не определяет развитие органов цветка, то он является чисто кадрастным геном. Однако, многие гены, определяющие тип органов цветка, могут быть одновременно и кадрастными генами (*AP1*, *AP2*, *AG*).

Таким образом, развитие цветка это многоэтапный процесс, который значительно меньше зависит от внешних факторов, чем инициация цветения, а

определяется в основном генетической программой. Главную роль в регуляции экспрессии генов в данном случае играют не зависящие от условий среды межгенные взаимодействия и авторегуляторные процессы.

Вопросы к семинару

1. Биологическая и генетическая характеристика модельных объектов генетики развития растений.
2. Цветок как перспективная генетическая модель в генетике развития.
3. Строение цветка и расположение в нем органов.
4. Гены, определяющие развитие цветковых меристем.
5. Особенности проявления мутаций генов флоральной индукции.
6. Генетический контроль развития органов цветка.
7. Гомеозисные гены у растений, их роль при формировании структур цветка.
8. Проявления мутаций генов, определяющих развитие органов цветка.
9. Основные положения модели ABC развития цветка.
10. Доказательства модели ABC путем изучения морфологии одиночных, двойных и тройных мутантов.
11. Доказательства модели ABC путем исследования трансгенных растений.
12. Основные положения ABCDE-модели развития цветка.
13. Молекулярные механизмы развития цветка. Гены с MADS-боксом и их функция.
14. Активация и регуляция генов, контролирующих тип органов цветка. Гены посредники и каденцальные гены.

Список рекомендуемой литературы

1. Алексеев Д.В. Закономерности разметки органов цветка *Arabidopsis thaliana*. Математическое моделирование / Д.В. Алексеев [и др.] // Докл. АН. 2005. Т. 401, № 4. С. 570-573.
2. Генетика развития растений / Л.А. Лутова, Н.А. Проворов, И.А. Тихонович. СПб.: Наука, 2000. 539 с.
3. Генетика развития растений: для биологических специальностей университетов / Л.А. Лутова, Т.А. Ежова, И.Е. Додуева, М.А.Осипова / под ред. С.Г. Инге Вечтомов. СПб.: Изд-во Н-Л, 2010. 432 с.
4. Шестаков С.В. Новая модифицированная схема генетического контроля развития цветка / С.В. Шестаков [и др.] // Технологии живых систем. 2005. Т. 2, № 1-2. С. 37-46.
5. Шестаков С.В. Биология развития растений: прогресс и перспективы / С.В. Шестаков, Т.А. Ежова // Онтогенез. 2007. Т.38, №6. С.403-405.

План проведения практического занятия

1. Рассмотреть фотографии и слайды цветков (розы, тюльпана, лилии и др.) и описать морфологию цветков. Нарисовать схему строения цветков. В соответствии с моделью ABC составить формулу цветков и диаграмму распределения генной активности.
2. Решить задачу: Может ли существовать такая мутация цветка: чашелистики-лепестки-лепестки-чашелистики. Если да, то мутацией какого гена это вызывается? К какой группе он относится по ABC-системе? Нарисуйте диаграмму.
3. Решить задачу: Среди мутаций, вызывающих превращение одних органов цветка в другие, были найдены три мутации (назовем их А, В и С) со следующими свойствами: мутация А выключает ген А, мутация В выключает ген В, мутация С – ген С. Если выключен ген А, образуются цветки с таким порядком: пестики – тычинки – тычинки – пестики. Если выключен ген В, расположение органов такое: чашелистики — чашелистики — пестики — пестики. Если выключен ген С, порядок такой: чашелистики – лепестки – лепестки – чашелистики. **Вопросы:** А) Исходя из этих данных, попробуйте придумать модель взаимодействия генов А, В, С. Б) Какое строение будут иметь цветки у двойных мутантов с выключенными генами А и В? В и С? А и С? В) Как будет выглядеть цветок, если инактивированы все три гена.
4. Решить задачу: У арабидопсиса, цветок состоит из 4 чашелистиков, 4 лепестков, 2 коротких и 4 длинных тычинок, 2 плодолистиков. Ученые исследовали взаимодействие генов А и S, которые наследуются независимо. У мутантных растений с генотипом aa SS чашелистики и лепестки располагаются так же, как у нормальных растений, но все тычинки заменяются на лепестки, а вместо пестика развивается новый бутон. Далее программа развития цветка повторяется с начальной стадии. У других мутантных растений с генотипом AA ss чашелистики, лепестки и тычинки расположены так же, как у нормальных растений, а вместо плодолистиков развиваются дополнительные тычинки. Обе мутации рецессивны. При скрещивании двух растений с генотипами Aa Ss и Aa ss в потомстве наблюдали расщепление по четырем фенотипическим классам. **Вопросы:** А) Какое растение использовали как отцовское в скрещивании, а какое – как материнское? Б) Предскажите расщепление в потомстве от этого скрещивания. В) Используя предложенные обозначения, составьте диаграмму для растений aa ss. Г) Какой из генов – А или S – регулирует более ранние этап развития цветка?

Задачи для самоконтроля

Выберите правильные варианты ответов (1 и более) из предложенных.

1. Транскрипционными факторами являются: а) гены; б) микрРНК; в) белки.
2. Генами развития цветковых меристем у арабидопсиса являются: а) *LFY*; б)

- SEP1*; в) *AP1*; г) *AP2*; д) *AP3*; е) *PI*.
3. Генами развития органов цветка у арабидопсиса являются: а) *LFY*; б) *SEP1*; в) *AP1*; г) *AP2*; д) *AP3*; е) *PI*; ж) *AG*; з) *TFL*.
 4. Антогонистом гена *LFY* при закладке цветковых меристем является ген: а) *LFY*; б) *SEP1*; в) *AP1*; г) *TFL*; д) *SUP*.
 5. Гомеозисные гены развития цветка является регуляторным и в основном определяют синтез белка с ДНК-связывающим доменом: а) гомеодоменом; б) *MADS*- доменом; в) *AP2*-доменом; г) *GARP*-доменом.
 6. Мутации, нарушающие активность гена класса С (гена *AG*) приводят к усилению активности генов класса: а) А; б) В; в) Д; г) Е.
 7. У двойных мутантов (*ap2 pi* или *ap2ap3*) во всех четырех мутовках работают гены только одного класса, которые приводят к образованию цветков, состоящих только из одних: а) чашелистиков; б) лепестков; в) тычинок; г) плодолистиков.
 8. У двойных мутантов *ap3* и *ag* во всех четырех мутовках работают гены только одного класса, которые приводят к образованию цветков, состоящих только из одних: а) чашелистиков; б) лепестков; в) тычинок; г) плодолистиков.

Заполните пропуски в следующих утверждениях.

9. Модельный объект для изучения генетики развития цветка должен характеризоваться следующими качествами: 1) _____, 2) _____, 3) _____, 4) _____, 5) _____.
10. Формирование цветковых меристем в большей степени зависит от _____, а не от внешних условий.
11. В генетике развития растений именно формирование цветка считается наиболее перспективной и интересной генетической моделью в связи с 1) _____, 2) _____.
12. Мутация *lfy* при закладке цветковых меристем проявляется в образовании _____.
13. Мутация *ap1* при закладке цветковых меристем проявляется в образовании _____.
14. Мутанты, фенотип которых выражается в замене одной структуры на другую, называются _____ мутантами.
15. Мутации, которые приводят к повторению более ранней программы развития, т.е. временным изменениям в ходе развития называются _____ мутациями
16. Гены, которые пространственно регулируют активность генов развития органов цветка, называются _____ генами.
17. Модель, объясняющая взаимодействие генов в цветке называется _____ моделью.
18. При эктотипической экспрессии генов класса В, под контролем конституционного промотора в первой мутовке развиваются 1) _____, а в четвертой мутовке развиваются 2) _____.
19. Основными генами, участвующими в образовании органов цветка являются гены _____.

20. Для нормальной функции активности А (по гипотезе ABC) необходимы следующие гены: _____.
21. Для нормальной функции активности В (по гипотезе ABC) необходимы следующие гены: _____.
22. У мутантов *ag* цветок представлен 1) _____, так как во всех мутовках цветка в этом случае работают гены класса 2) _____.
23. Основным транскрипционным активатором генов ABC-класса является ген _____.
24. Ген *SUP* (*SUPERMAN*) поддерживает границу между 1) _____ мутовками, что определяет правильную границу экспрессии гена 2) _____.

2. МЕЙОЗ

Мейозом называется способ деления эукариотических клеток, при котором происходит сокращение вдвое (редукция) числа хромосом. Образующиеся в результате мейотического деления половые клетки, или гаметы, несут лишь по одному гомологу каждой пары хромосом. Независимое наследование разных генов и их сочетание у потомков основано на независимом расхождении разных пар гомологичных хромосом в гаметы. Кроме того, в мейозе могут обмениваться гены, лежащие в одной хромосоме.

Типичный мейоз состоит из двух последовательных клеточных делений, которые соответственно называются мейоз I и мейоз II. В первом делении происходит уменьшение числа хромосом в два раза, поэтому первое мейотическое деление называют редукционным. Во втором делении число хромосом не изменяется; такое деление называют эквационным (уравнивающим). В результате мейоза из одной диплоидной клетки образуется четыре гаплоидные клетки.

Биологическое значение мейоза заключается в поддержании постоянства числа хромосом при наличии полового процесса. Кроме того, вследствие кроссинговера происходит рекомбинация – появление новых сочетаний наследственных задатков в хромосомах. Мейоз обеспечивает также комбинативную изменчивость – появление новых сочетаний наследственных задатков при дальнейшем оплодотворении.

Ход мейоза находится под контролем генотипа организма, фитогормонов (у растений) и множества иных факторов (например, температуры). Изучение генетики мейоза позволяет выяснять принципы его регуляции. Важнейшим направлением исследования механизмов мейоза является изучение мутантов, у которых мейоз оказывается блокированным или существенно измененным. Специфические гены мейоза описаны для многих видов. Из высших растений наиболее полно изучены в отношении генетики мейоза арабидопсис, кукуруза, рожь и томаты. В составе их геномов в настоящее время известно от 15 до 30 мейотических генов, мутации в которых (мей-мутации) нарушают инициацию и правильность протекания этого процесса.

Анализ мутаций, нарушающих общий ход мейоза, позволил прийти к выводу, что есть, по крайней мере семь ключевых этапов, которые находятся

под контролем генов: 1) запуск мейоза, или переключение деления с митоза на мейоз; 2) попарное сближение и тесное соединение (синапсис) гомологичных хромосом; 3) обмен кусками гомологичных хромосом, или рекомбинация; 4) образование хиазм; 5) расхождение гомологичных хромосом и первое деление клетки; 6) инициация второго деления, протекающего по типу митоза; 7) собственно разделение каждой клетки надвое.

По действию мейотических мутантов на мужской и женский мейоз выделены две группы:

1) мей-мутации, имеющие специфический и сходный эффект в мужском и женском мейозе;

2) мей-мутации, проявляющие эффект только в микроспорогенезе.

Мутации предмейотических митозов. Эти мутации оказывают на мейоз опосредованное влияние и приводят к образованию спороцитов с измененными числами хромосом или с увеличенным числом ядер. Возможно также образование дополнительных археспориальных клеток, что может приводить к формированию дополнительных пыльцевых зерен (ПЗ) или зародышевых мешков (ЗМ).

Такие мутации описаны у ряда видов. У кукурузы мутации *ram1* и *ram2* приводят к образованию многоядерных материнских клеток микроспор, дальнейшее развитие которых происходит с аномалиями и завершается мужской стерильностью. Таким образом, мутантный ген блокирует цитокинез спорогенных клеток. Различаются эти мутации по действию на женский мейоз. Действие мутации *ram2* в женской сфере проявляется только на стадии формирования ЗМ и не влияет на женский мейоз. Мутация кукурузы *lar-487* характеризуется образованием многоклеточного археспория в семязачатках, что приводит к появлению добавочных ЗМ.

Мутации нарушающие мейотический цикл. К нарушению мейотического цикла у ржи приводят мутации *mei8* и *mei10*. Они имеют множественное проявление и, прежде всего, вызывают увеличение спирализации мейотических хромосом. При этом деление в большинстве мейоцитов прекращается начиная со стадии пахитены, но спирализация хромосом продолжается и хромосомы оказываются сверхкомпактизированными. Мейоциты с заблокированным делением покрываются пыльцевой оболочкой. Такие пыльцевые зерна содержат хромосомы на стадии диакинеза или телофазы I. Так как нормальная конденсация хромосом возможна только для реплицированных участков и при отсутствии повреждений в ДНК, то предполагают, что гены *mei8* и *mei10* в норме необходимы для нормальной репликации ДНК или репарации поврежденных участков в ДНК.

У кукурузы для запуска мейоза (а также для осуществления конъюгации и расхождения гомологичных хромосом) необходим нормальный аллель гена *Am* (*ameiotic*). Его мутантный аллель в гомозиготе выключает процесс мейоза полностью, заменяя его синхронными митотическими делениями. Началу мейоза у кукурузы препятствует также и мутация *afd1* (*absence of first division*). Сильный мутантный аллель гена *Afd1* превращает первое деление мейоза в

митоз, так как он предотвращает элонгацию когезиновой оси лептотенных хромосом и не даёт клеткам вступить в стадию зиготены. Ранний ген мейоза *Afd1* у кукурузы отвечает за построение когезиновой оси профазных мейотических хромосом.

Синаптические гены. Синапс (тесное сближение) гомологичных хромосом является центральным событием мейоза. Он обеспечивает редукцию хромосом, кроссинговер и независимое распределение гомологов в парах хромосом. Синапс – главное отличие мейоза от митоза. Он состоит из многих скоординированных в пространстве и времени событий. Поэтому синапс должен контролироваться большим числом генов, каждый из которых имеет специфическую функцию.

В норме конъюгация хромосом начинается с поиска гомологами друг друга, затем происходит их спаривание, затем собственно синапс, то есть ассоциация гомологов в полностью сформированном синаптонемальном комплексе и образование хиазм. Каждый этап этой последовательности находится под контролем генов и их мутации приводят к образованию унивалентов и других нарушений. Унивалентные хромосомы не могут быть правильно ориентированы в метафазе и поэтому беспорядочно распределяются между полюсами. В результате уже после первого деления дочерние клетки получают разное число хромосом и обычно погибают.

Синаптонемный комплекс состоит из 2-х латеральных элементов, соединяющихся с помощью белковой «застежки-молнии», которая формирует центральный элемент. Латеральные элементы представляют собой комплекс из четырех белков когезинов (от англ. cohesion – сцепление), который располагается внутри хромосомы между двумя сестринскими хроматидами, удерживая их вместе. Накануне мейоза в хромосомах появляется специфический белок когезин *Rec8*, который заменяет соматический когезин *Rad21*. С комплексом когезинов связываются и другие мейоз специфические белки. Ключевой мейоз-специфичный ген *Rec8* весьма консервативен и обнаруживается у разных видов. Было установлено, что мутация *afd1*, не позволяющая клеткам проходить профазу I мейоза у *Zea mays*, оказалась мутацией гена *Rec8*.

В анафазе митоза к полюсам клетки расходятся хроматиды, так как когезиновый комплекс, объединяющий хроматиды, подвергается гидролизу. Это генетически программируемое событие. В мейозе гидролиз когезинов оказывается невозможным и обе хроматиды каждой хромосомы остаются склееными в области кинетохора (кинетического центра хромосомы). Установлено, что в мейозе когезины защищены белком шугошином (*SGO1*). У кукурузы в метафазе I мейоза шугошин (*ZmSGO1*) расположен по обе стороны от кинетохоров и только в том случае если там уже есть когезин *Rec8*, который он и защищает от гидролиза.

Гены, контролирующие конъюгацию называются синаптическими и обозначаются символом *Sy* с соответствующим номером. Мутации, которые приводят к полному отсутствию конъюгации гомологичных хромосом называются асинаптическими. Десинаптические мутанты характеризуются

нарушением хиазмообразования или преждевременным их разрушением. Такие мутанты характеризуются полной или частичной мужской и часто женской стерильностью и наличием униввалентов в мейозе I. Для большинства синаптических генов установлен моногенный контроль их наследования.

У ржи синаптические мутанты характеризуются разным числом униввалентов. Время появления униввалентов у мутантов также различно. У трех (*sy1*, *sy9*, *sy19*) большинство хромосом находятся в униввалентном состоянии уже на стадии пахитены. У других унивваленты обнаруживаются в диплотене и диакинезе, и у всех – в метафазе I.

У истинно синаптических мутантов (*sy1*, *sy9*) полностью отсутствует образование синаптонемального комплекса. Вероятно, эти гены контролируют наиболее ранний этап его построения. Частично асинаптические мутанты (*sy3*) характеризуются незавершенным синапсом (неспаренными участками). У ряда мутантов (*sy2*, *sy6*, *sy7*, *sy10*) обнаружена возможность гетерологического синапса в зиготене-пахитене. Это проявляется в смене партнеров спаривания и образовании «шпилек». В результате в пахитене образуются мультиваленты, имеющие трехлучевые структуры в местах переключения синапса. Предполагается, что у таких мутантов нарушен процесс узнавания гомологов, то есть первый этап конъюгации. У таких мутантов возможно также образование униввалентов.

Мутанты с нарушением веретена деления и цитокинеза. У многих мей-мутантов нарушено распределение в анафазах I и II, которое определяется аномалиями строения веретена деления.

Мутация *ms43* у кукурузы нарушает процесс расхождения хромосом во втором делении мейоза. В норме в образовавшейся после первого мейоза диаде клеток образуются два веретена, параллельные друг другу. У мутантов *ms43* в части клеток после первого мейоза не происходит образования клеточной стенки и два веретена находятся в одной клетке. Они располагаются не параллельно, а под разными углами друг к другу или сближаются, вплоть до их полного слияния.

Мутация ржи *ms17* проявляется аналогично. Ядерные деления мейоза идут правильно до метафазы II. Но в метафазе II вновь формируется общая метафазная пластинка, затем в анафазе II – общее веретено и хроматиды расходятся к полюсам. В результате образуются полиплоидные микроспоры.

У разных видов описана группа мутаций, которые подавляют цитокинез после первого и второго делений мейоза. У глицинии мутации *ms1* и *ms4* приводят к образованию ценоцитных микроспор, из которых развиваются способные к прорастанию гигантские пыльцевые зерна. У гомозиготных по мутантному аллелю растений *ms1/ms1* выпадение цитокинеза проявляется также в женской генеративной сфере. Ядра в ценомегаспорах могут сливаться, что приводит к развитию диплоидных зародышевых мешков, которые могут содержать увеличенное число клеточных элементов. Это является причиной образования у мутантов в потомстве полиплоидов, гаплоидов, близнецов.

Мутации, нарушающие образование веретен деления и цитокinesis описаны у многих видов: сахарной свеклы, картофеля, клевера, люцерны и др. У ряда видов такие мутации проявляются только в микроспорогенезе.

Специфичность генов, функционирующих только в мейозе, была показана в экспериментах при изучении двойных мутантов кукурузы. Так, у двойного мутанта *am1/am1* и *ms43/ms43*, эффект гена *ms43* не проявляется, поскольку мутация *am* вызывает в мейоците митотические деления.

Сочетая разные мутации можно выяснить последовательность функционирования генов в мейозе. Исследование мутантов кукурузы, содержащих мутантные гены *as1* (нарушает синапс гомологов в профазе I) и *ms43* (влияет на расхождение хромосом в анафазе II) показало, что эти гены действуют независимо и эффект их действия суммируется. При сочетании в одном растении мутации *afd1*, при которой первое деление мейоза заменено митозом, и мутации *am1*, при которой вообще нарушен запуск мейоза, первая мутация не проявляется. Это указывает на более раннюю экспрессию мутантного гена *am1*. Таким образом, была выстроена последовательность работы генов в мейозе. Вначале поступает сигнал к запуску мейоза (ген *Am1*), затем сигнал к началу первого деления мейоза (*Afd1*), затем узнавания гомологичных хромосом (*Dsy1*) и далее серия соответствующих генов.

В настоящее время у растений описано множество мей-мутаций, однако лишь немногие из них клонированы и для немногих известны молекулярно-генетические механизмы реализации наследственной информации при развитии признака.

Вопросы к семинару

1. Мейоз: определение и характеристика стадий.
2. Создание генетических коллекций мейотических мутаций у разных видов растений.
3. Основные этапы мейоза, контролируемые генами.
4. Основные группы мейотических мутаций в зависимости от характера их проявления в мейозе.
5. Предмейотические мутации. Проявление мутаций *ram1* и *ram2* в мейозе.
6. Сходство и различие проявления мей-мутаций в женском и мужском мейозе.
7. Мутанты с нарушением мейотического цикла.
8. Синаптические гены. Строение синаптонемального комплекса.
9. Функция гена *Rec8* и белков-шугошинов.
10. Синаптические мутации и механизм их проявления.
11. Мутации, нарушающие образование веретена деления.
12. Мутации, нарушающие цитокinesis после первого мейотического деления.
13. Проявление мутации *ms43* кукурузы во втором делении мейоза.
14. Результаты исследований двойных мутантов кукурузы.
15. Значение и перспективы исследования мейоза.

Список рекомендуемой литературы

1. Авалкина Н.А. Мей-гены и женский мейоз у кукурузы / Н.А. Авалкина // Генетика. 1992. Т.28, №8. С. 130-141.
2. Голубовская И.Н. Генетический контроль поведения хромосом в мейозе / И.Н. Голубовская // Цитология и генетика мейоза. М.: Наука, 1975. С. 312-338.
3. Голубовская И. Н. Экспериментальное исследование генного контроля мейоза у кукурузы / И.Н. Голубовская // Теоретические основы селекции. Новосибирск: Наука, 1985, С. 119-135.
4. Голубовская И.Н. Гены *pat1* и *pat2*, контролирующие цитокинез на разных этапах онтогенеза половых клеток кукурузы./ И.Н. Голубовская, Н. А. Авалкина, Е. Э. Перемыслова // Генетика. 1994. Т.30, № 10. С. 1392-1399.
5. Соснихина С. П. Изучение генетического контроля мейоза у ржи / С. П. Соснихина [и др.] // Генетика. 1994. Т. 30, N 8. С. 1043-1056.

План проведения практического занятия

1. На постоянных препаратах с использованием светового учебного микроскопа (объектив x40) изучить микроспорогенез в пыльниках табака, ландыша, пшеницы и кукурузы. Найти и зарисовать разные стадии мейоза, подписать на рисунках все видимые структурные элементы. Отметить особенности морфологии диад и тетрад микроспор у двудольных и однодольных растений.
2. Приготовить временные препараты микроспор из зафиксированных пыльников полиплоидных форм кукурузы. Найти на препаратах разные стадии мейоза и изучить их.
3. Соотнести картины обнаруженных нарушений мейоза у полиплоидов с описанием проявления разных генных мей-мутаций и описать их.

Задачи для самоконтроля

Выберите правильные варианты ответов (1 и более) из предложенных.

1. Что является материалом для построения белковых осей синаптонемального комплекса: а) гистоны; б) когезины; в) лизины; г) конденсины.
2. В анафаза I мейоза к полюсам расходятся: а) хромосомы; б) хроматиды; в) биваленты.
3. В анафаза II мейоза к полюсам расходятся: а) хромосомы; б) хроматиды; в) биваленты; г) униваленты.
4. Важнейшим событием профазы первого мейоза является: а) растворение ядерной оболочки; б) спирализация хромосом; в) синапс; г) конъюгация; д) образование бивалентов.

5. Мутации, вызывающие нарушения предмейотических митозов могут приводить к образованию материнских клеток микроспороцитов: а) многоядерных; б) диплоидных; в) гаплоидных; д) дополнительных.
6. Мейоз-специфическим белком когезинового комплекса является белок: а) Rec8; б) Rec11; в) Rad21.
7. К мутациям кукурузы, вызывающим остановку мейотического цикла относятся: а) *mei8*; б) *aml*; в) *ms43*; г) *afd*; д) *sy1*.
8. Последствием асинаптических мутаций является: а) образование унивалентов; б) образование поливалентов; в) нарушения в образовании синаптонемального комплекса; г) нарушение образования веретена деления.
9. Гетерологичный синапс приводит к образованию: а) унивалентов; б) бивалентов; в) поливалентов.
10. Нарушения распределения хромосом по клеткам определяются: а) аномалиями строения веретена деления; б) нарушением цитокинеза; в) отставанием хромосом; г) слипанием хромосом.
11. К мутациям, вызывающим нарушения в образовании веретена деления и подавляющим образование клеточных стенок после первого мейоза относятся: а) *mei8*; б) *aml*; в) *ms17*; г) *ms43*; д) *afd1*; е) *sy*.

Заполните пропуски в следующих утверждениях.

12. Процесс деления клетки, который приводит к образованию гамет с уменьшенным вдвое числом хромосом называется _____.
13. Генотипы дочерних клеток, образовавшиеся в результате мейоза различны, так как в процессе мейоза трижды происходит 1) _____ генетического материала за счет: 2) _____, 3) _____, 4) _____.
14. Какой набор хромосом и ДНК у клеток перед первым делением мейоза 1) _____, перед вторым делением мейоза 2) _____, после завершения мейоза 3) _____.
15. Структура, которая образуется при делении клетки на стадии 1) _____ и обеспечивает расхождение хромосом к полюсам называется 2) _____.
16. Пары хромосом, одна от матери и одна от отца, сходные между собой по морфологии и составу генов называются _____.
17. Особь, несущая генетическое изменение называется 1) _____, а любое изменение в гене или хромосомах – 2) _____.
18. В мейозе в зависимости от характера проявления выделены группы мутаций, вызывающих: 1) _____, 2) _____, 3) _____, 4) _____.
19. Основной фенотипический эффект проявления мутаций предмейотических митозов на стадии мейоза состоит в _____.
20. Мутации ржи *mei8* и *mei10* вызывают 1) _____ хромосом и образующиеся пыльцевые зерна содержат хромосомы на стадии 2) _____.
21. У кукурузы для запуска мейоза необходим нормальный аллель гена _____.

22. Молекулярно-генетические исследования показали, что мутация *afd1*, не позволяющая клеткам проходить профазу I мейоза у *Zea mays*, оказалась мутацией гена 1) _____, кодирующего 2) _____.
23. Белки-шугошины предотвращают гидролиз 1) _____ и располагаются по обе стороны от 2) _____, в результате чего обе хроматиды оказываются «склееными» между собой в этой области.
24. Гены, контролирующие конъюгацию называются 1) _____, а мутации приводящие к полному отсутствию конъюгации гомологичных хромосом 2) _____.
25. Мутация *ms43* кукурузы нарушает процесс расхождения хромосом во втором делении мейоза за счет: 1) _____, 2) _____.

3. РАЗВИТИЕ МИКРОГАМЕТОФИТА

Микрогаметофит или пыльцевое зерно (ПЗ) – это многоклеточная структура, образующаяся за счет одного или двух митотических делений в микроспоре. Зрелый микрогаметофит двудольных растений двухклеточный и состоит из двух клеток: вегетативной и генеративной. Микрогаметофит однодольных растений обычно трехклеточный и содержит вегетативную клетку и два спермия. Снаружи ПЗ покрыто оболочкой из экзины и интины. Строение, величина, форма пыльцы, число и строение пор являются систематическими признаками. Считается, что форма пылинки покрытосеменных растений детерминирована генетически.

Развитие пыльцы (микрогаметогенез) у всех видов происходит по строго определенной программе, а, следовательно, является результатом последовательной экспрессии генов. Поэтому признаки зрелого ПЗ наследственно обусловлены. Следует отметить, что на строение пыльцы в значительной степени опосредованное влияние оказывают и мейотические мутации. Мутаций, экспрессирующихся на этапе развития пылинки с одноядерной стадии до зрелой стадии, описано немного.

У некоторых линий картофеля (*Solanum tuberosum* и *S. phurej*) обнаружена генная мутация препятствующая делению генеративной клетки в пыльцевой трубке, что ведет к одинарному оплодотворению ЗМ.

У кукурузы имеется ряд линий, в том числе линия ЗМС-8, в которых мутация вызывает функциональную дефектность одного или обоих спермиев. Это препятствует нормальному оплодотворению ЗМ. Поэтому в ряде ЗМ осуществляется одинарное оплодотворение или оно не происходит вовсе.

Данные о влиянии мутации *ig* у кукурузы на развитие пыльцы свидетельствуют о высокой мужской стерильности мутантных растений. Показано, что *ig* мутация в микрогаметогенезе обычно подавляет пролиферацию ядер. Это приводит к появлению 1-2-ядерной пыльцы с четко выраженной тенденцией к дегенерации. Значительно реже появляется многоядерная пыльца с дополнительными вегетативными ядрами и спермиями.

Мутации, затрагивающие признаки микрогаметофита относятся к гаметофитным мутациям, которые могут определяться как геномом материнского спорофита, так геномом самого гаметофита.

Наиболее изучена в настоящее время цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), которая описана у сотен видов растений. Свое название ЦМС получила потому, что этот признак наследуется по материнской линии, через цитоплазму яйцеклетки, и не передается спермиями, т. е. через мужского родителя. ЦМС обуславливается определенными ядерно-цитоплазматическими отношениями и выражается в дегенерации большинства пыльцевых зерен и пыльников на определенных этапах их развития.

Для пыльцевых зерен с ЦМС характерны аномальная вакуолизация генеративных и вегетативных клеток, гидратация кариоплазмы ядра вегетативной клетки, нарушение движения генеративной клетки, нарушение движения ядер в микроспоре и вегетативной клетке. Кроме того, в пыльце ЦМС отмечается пикноз ядер и цитоплазмы. Характерный признак развития пыльника при ЦМС – задержка лизиса тапетального слоя клеток, а для многих растений с ЦМС свойственны его гипертрофия, многоядерность и активное разрастание в полость гнезда пыльника.

Показано, что формирование фертильной пыльцы находится под контролем как ядерных, так и цитоплазматических генов. Стерильность пыльцы также может быть вызвана как действием ядерных генов (генная мужская стерильность, ГМС), так и цитоплазматических генов, проявление которых находится под контролем ядерных генов.

Цитоплазматическая мужская стерильность возникает в результате определённой мутации в геноме митохондрий, в результате чего происходит либо дегенерации пыльников, либо нераскрытие пыльников, либо образование нежизнеспособной пыльцы. Генотипы с диким типом митохондрий обозначаются N (т.е. нормальный тип цитоплазмы), генотипы с мутантным геномом митохондрий обозначаются как S, C и T (стерильная цитоплазма). В ядерном геноме клетки растений имеются особые гены-восстановители фертильности (*restorer of fertility* или *Rf*-гены), доминантные аллели которых полностью либо частично восстанавливают фертильность андроцея. При S-типе стерильности только генотипы, имеющие стерильную цитоплазму и являющиеся рецессивными гомозиготами по *Rf*-генам, будут стерильными (например, *Sfirrf*), все остальные генотипы – фертильны.

За последние годы благодаря развитию методов молекулярной генетики выявлены гены, обуславливающие ЦМС. Показано, что каждый тип стерильности – T, C и S характеризуется своим уникальным спектром фрагментов мтДНК при эндонуклеазной рестрикции. У кукурузы с T-типом ЦМС была обнаружена область, экспрессирующаяся во всех тканях стерильных растений иначе, чем у нормальных. Так был впервые локализован ЦМС-ген *T-urf13*. Гены ЦМС являются химерными т.е. составлены из фрагментов разных генов. У кукурузы выявлено 3 различных типа ЦМС, при всех этих типах обнаруживаются разные химерные гены. У митохондрий кукурузы S-типа такими генами являются *orf355* и *orf77*.

У *Petunia* с ЦМС связан участок мтДНК, называемый *S-pcf* локус, который состоит из частей трех котранскрибируемых генов: *pcf*, *nad3* и *rps12*. Предполагают, что гибридный белок, кодируемый геном *pcf*, включается в митохондриальные мембраны и вызывает нарушение в дыхательной цепи митохондрий.

При S-типе стерильности кукурузы восстановителем фертильности является ген *Rf3*, который модифицирует структуру митохондриального генома. Он приводит к появлению более коротких транскриптов митохондриальных генов *cob*, *atp6*, *orf355*, *orf77* в пыльце восстановленных растений по сравнению со стерильной пыльцой.

Для восстановления фертильности при T-типе цитоплазмы у кукурузы необходимо два гена: *Rf1* и *Rf2*. Присутствие гена *Rf1* подавляет транскрипцию мРНК *urf13* и изменяет процессинг. У таких растений с *Rf1*-аллелем образуется «укороченный» транскрипт, содержащий неполную последовательность *urf13*. Однако, лишь в присутствии доминантного аллеля второго гена-восстановителя – *Rf2* восстанавливается нормальный процесс формирования жизнеспособной пыльцы. Механизм действия гена *Rf2* неизвестен.

В целом, восстановители фертильности разных ЦМС-систем могут:

- снижать количество полноразмерных транскриптов ЦМС-генов, влияя на РНК-процессинг;
- изменять число копий митохондриальных хромосом, несущих ЦМС-ген;
- уменьшать количество продукта ЦМС-генов, действуя посттрансляционно.

Мутации ЦМС и ГМС часто обозначают общим символом *ms* (мужская стерильность). У кукурузы и томата выявлено примерно по 40 таких генов, у ячменя около 19. Мутация *ms1* кукурузы, экспрессирующаяся во время или сразу после первого митоза в пыльце, подавляет последующее развитие ПЗ.

Вопросы к семинару

1. Строение и развитие пыльника.
2. Функциональная роль и типы тапетума.
3. Развитие пыльцевого зерна.
4. Строение двух- и трехклеточных пыльцевых зерен.
5. Функциональное значение генеративной и вегетативной клеток.
6. Гены, влияющие на развитие микрогаметофита.
7. Влияние на проявление признаков гаметофита мутаций цитоплазматических генов.
8. Механизм генетического контроля мужской стерильности.
9. Типы цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) у кукурузы.
10. Особенности строения ЦМС-генов.
11. Значение генов восстановителей фертильности и механизм их действия.
12. Проявление мутации «дефектности спермиев» у линии ЗМС кукурузы и ее генетические последствия.

Список рекомендуемой литературы

1. Батыгина Т.Б. Размножение растений: Учебник / Т.Б Батыгина., В.Е Васильева. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2002. 232 с.
2. Еналеева Н.Х. Гаметофитные мутации / Н.Х. Еналеева, В.С. Тырнов // Эмбриология цветковых растений: терминология и концепции. Т.3. Системы репродукции / Под ред. Т.Б. Батыгиной. СПб.: Мир и семья, 2000. С. 378-384.
3. Еналеева Н.Х. Одинарное оплодотворение и проблема гаплоиндукции кукурузы / Н.Х. Еналеева [и др.] // Докл. РАН. 1997. Т. 353, №3. С. 405-407.
4. Крупнов В.А. Генная и цитоплазматическая мужская стерильность растений / В.А. Крупнов. М.: Колос, 1973. 277 с.
5. Нокс Р.Б. Пыльцевое зерно // Эмбриология растений: использование в генетике, селекции, биотехнологии: в 2 т./ Под редакцией В.М. Джори: М.: Агропромиздат, 1990. Т. 1. С. 224–317.
6. Поддубная–Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений / В.А. Поддубная–Арнольди. М.: Наука, 1976. 508 с.
7. Эмбриология цветковых растений: Терминология и концепции: в 3 т./ Под ред. Т.Б. Батыгиной. СПб.: Мир и семья, 1994. т.1. 508 с.

План проведения практического занятия

1. Изучить на постоянных препаратах строение пыльников и развитие пыльцевых зерен у разных видов растений (табака, ландыша, пшеницы и кукурузы) с использованием светового учебного микроскопа (объектив х40).
2. Отметить отличительные особенности морфологии зрелой пыльцы у однодольных и двудольных растений. Обратит внимание на количество пыльцы в пыльниках, на размер пыльцевых зерен и их форму, на структуру экзины, на строение вегетативного и генеративного ядра, форму спермиев у разных видов. Зарисовать пыльцевые зерна и строение пыльников; подписать на рисунках все видимые в световой микроскоп структурные элементы.
3. Приготовить временные препараты и проанализировать пыльцу растений сорго фертильных форм и форм с цитоплазматической мужской стерильностью.
4. Подсчитать количество дефектных пыльцевых зерен и определить степень дефектности пыльцы у фертильных и стерильных форм. Результаты занести в таблицу.
5. Описать проявление мутации, вызывающей функциональную дефектность спермиев у линии кукурузы ЗМС во время оплодотворения. Отобрать на початках кукурузы, опыленных пылью линии ЗМС, зерновки с окрашенными и неокрашенными зародышами. Объяснить причину различной окраски зародышей и наличие зерновок без зародыша.

Задачи для самоконтроля

Выберите правильные варианты ответов (1 и более) из предложенных.

1. Самый внутренний слой стенки пыльника называется: а) эпидермис; б) эндотелий; в) париетальный слой; г) тапетум.
2. Процесс микроспорогенеза – это деление: а) археспориальных клеток; б) материнских клеток микроспор; в) клеток тетрады микроспор; г) одноядерной пыльцы.
3. Мужской гаметофит – это: а) микроспора; б) пыльцевое зерно; в) пыльник; г) тычинка.
4. Снаружи ПЗ покрыто оболочкой из а) экзины; б) интины; в) калозы; г) целлюлозы.
5. На строение пыльцы в значительной степени опосредованное влияние оказывают мейотические мутации: а) да; б) нет.
6. Генами ядерно-цитоплазматической мужской стерильности растений кукурузы (ЦМС), определяющими образование стерильной пыльцы являются: а) *pcf*; б) *urf13*; в) *orf355*; г) *rps12*.
7. Для пыльцевых зерен с ЦМС характерны: а) аномальная вакуолизация генеративных и вегетативных клеток, б) нарушение движения генеративной клетки, в) нарушение движения ядер в микроспоре и вегетативной клетке, г) пикноз ядер и цитоплазмы.
8. Стерильную пыльцу при S- типе стерильности цитоплазмы кукурузы будут иметь генотипы, при определенном сочетании стерильной цитоплазмы и генов восстановителей фертильности *Rf*: а) *SRf3Rf3*; б) *SRf rf3*; в) *Srf3rf3*.
9. Гены-восстановители фертильности разных ЦМС-систем могут:
а) снижать количество полноразмерных транскриптов ЦМС-генов, влияя на РНК-процессинг; б) изменять число копий митохондриальных хромосом, несущих ЦМС-ген; в) уменьшать количество продукта ЦМС-генов, действуя посттрансляционно.

Заполните пропуски в следующих утверждениях.

10. Микрогаметофит двудольных растений двухклеточный и состоит из 1) _____ и 2) _____ клеток
11. Микрогаметофит однодольных растений обычно трехклеточный и содержит _____.
12. У картофеля обнаружена генная мутация препятствующая делению генеративной клетки в пыльцевой трубке, что ведет к 1) _____ оплодотворению ЗМ и появлению 2) _____ растений.
13. У линии кукурузы ЗМС-8 нормальному двойному оплодотворению зародышевых мешков препятствует 1) _____, что в ряде случаев приводит к 2) _____ оплодотворению и появлению в потомстве 3) _____ растений.
14. Основное влияние мутации *ig* у кукурузы на развитие пыльцы проявляется в образовании _____ пыльцы.

15. Признак ядерно-цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) наследуется по 1) _____ линии, через цитоплазму 2) _____, и не передается 3) _____ мужского родителя.
16. Характерный признак развития пыльника при ЦМС задержка лизиса _____ клеток пыльника.
17. Цитоплазматическая мужская стерильность возникает в результате определенной мутации в геноме 1) _____, в результате чего происходит 2) _____ пыльников и образование 3) _____ пыльцы.
18. Стерильность пыльцы при ЦМС вызывается действием цитоплазматических генов входящих в состав 1) _____ генома, проявление которых находится под контролем 2) _____ генов.
19. Для восстановления фертильности при Т-типе стерильности цитоплазмы у кукурузы необходимо два гена _____.
20. Присутствие гена *Rf1* при Т-типе стерильности цитоплазмы кукурузы подавляет 1) _____ мРНК *urf13* и изменяет 2) _____, в результате у растений с *Rf1*-аллелем образуется «укороченный» 3) _____, содержащий неполную последовательность гена *urf13*.
21. Обобщенно мутации ЦМС и ГМС часто обозначают символом _____.

4. РАЗВИТИЕ МЕГАГАМЕТОФИТА

Мегагаметофит или зародышевый мешок (ЗМ) является ключевым элементом генеративной сферы. В нем происходит оплодотворение и развитие зародыша и эндосперма. От его структурно-функциональной организации зависит осуществление этих процессов и генетическая конституция следующего поколения.

Генетические исследования показывают, что мегагаметофит влияет на эмбрио- и эндоспермогенез на нескольких уровнях. Во-первых, в ЗМ синтезируется набор белков, которые подавляют этот процесс в отсутствие оплодотворения. Во-вторых, ЗМ содержит материнские факторы перед оплодотворением, которые будут необходимы для развития зародыша и эндосперма после оплодотворения. В-третьих, ЗМ играет важную роль в контроле геномного инпринтинга, необходимого для развития семени.

У большинства цветковых растений ЗМ развивается по Polygonum-типу, т.е. из халазальной мегаспоры в результате трех митотических делений, с равномерным распределением ядер по полюсам клетки и образованием клеточных стенок на стадии восьмиядерного ценоцита. Зрелый ЗМ в этом случае является моноспорическим, биполярным, восьмиядерным и семиклеточным. На микропилярном полюсе находится яйцеклетка и две синергиды, а на халазальном – три антиподы. В центре располагается центральная клетка с двумя полярными ядрами.

Таким образом, развитие ЗМ проходит по определенной программе, которая, несомненно, является результатом последовательной экспрессии генов, а значит признаки зрелого ЗМ, являющегося итогом этого развития, наследственно обусловлены. В случае нарушения программы мегагаме-

тогенеза, возможны сбои в осуществлении цитологических событий в ЗМ. Это приводит или к стерильности женского гаметофита, или к возникновению гаплоидов, полиплоидов и полностью гомозиготных диплоидов. Т.е. существует возможность реконструкции геномов потомков путем изменения гаметофитогенеза. Поэтому некоторые гаметофитные мутации могут рассматриваться как основа для генетической инженерии.

Значение генотипа материнского спорофита на развитие ЗМ хорошо изучено на арабидопсисе. Показано, что для нормального развития семязачатка необходимы ряд генов, в том числе *AG* и *BEL1*. Мутации *ag* и *bell* вызывают недоразвитие наружного интегумента, а также подавление развития ЗМ в семязачатках или его аномальное развитие.

Мутация *ram2* у кукурузы вызывает цитокинез при каждом митотическом делении в мегагаметогенезе. Она действует в течение 3-х митотических делений и в результате вместо 2-, 4- и 8-ядерных ценоцитных ЗМ формируется 8 гаплоидных одноядерных клеток.

Известным примером мегагаметофитных мутаций, нашедших широкое селекционное применение для получения андрогенных гаплоидов, является мутация *ig* (*indeterminate gametophyte*) кукурузы. Мутация *ig* кукурузы характеризуется плеiotропным действием на развитие зародышевого мешка, и в первую очередь влияет на количество митотических делений. Женские гаметофиты *ig* мутанта имеют длительные фазы свободной ядерной генерации, ведущие к различным аномалиям зародышевого мешка, в том числе к формированию дополнительных яйцеклеток, дополнительных полярных ядер и дополнительных синергид. В зародышевых мешках, *ig*-транскрипты обнаруживаются уже на одноядерной стадии, но отсутствуют в функциональных мегаспорах. В зрелых зародышевых мешках содержание *ig*-транскриптов самое высокое.

Проявление андрогенеза у мутантов *igig* определяется наличием мутантного гена в зародышевом мешке. Доказано, что *ig* отцовского происхождения не влияет на частоту андрогенеза, то есть ядро спермия может быть индуцировано к развитию независимо от его конституции в отношении гена *Ig*. Считается, что если под влиянием мутации *ig* в самом зародышевом мешке образуются дополнительные гаметофитные клетки, то спермий в среде такого зародышевого мешка может развиваться только в зародыш, а не производить дополнительные мужские гаметы.

Мутация *ig* может быть использована в селекции растений. Присутствие у материнского родителя мутантного гена неопределенного гаметофита (*ig*), приводит к появлению потомства с высокой долей дефектных семян и сильно увеличенной частотой гаплоидов как матроклинных, так и андрогенных.

У *Nicotiana tabacum* также выделено несколько мутаций, проявляющихся в изменении числа элементов ЗМ. Эти формы были получены экспериментально с использованием радиации. Частота аномалий ЗМ составила 17,7- 83% с преобладанием у каждой формы ЗМ конкретного морфологического типа (ЗМ с яйцеклеткоподобными синергидами, ценоцитные ЗМ с уменьшенным числом ядер, клеточные ЗМ с уменьшенным числом ядер;

клеточные ЗМ с увеличенным числом ядер). Доказана мутационная природа вариаций мегагаметофита у выделенных форм и возможность их сохранения в коллекции путем семенного и/или микрклонального размножения. Результаты анализа фенотипического проявления мутаций позволили сделать принципиально важное заключение, что осуществление митотических циклов в ценоцитной фазе мегагаметогенеза и становление функциональной специализации клеток зародышевого мешка контролируется генотипом гаметофита.

У разных видов описано ряд мутаций, вызывающих остановку развития ЗМ. У кукурузы блокаду развития на 1-2-х и 4-х ядерных стадиях развития вызывает мутация *lo2*. Мутации арабидопсиса *gf*, *gfa*, *fem2*, *fem3* блокируют развитие ЗМ на одноядерной стадии. Мутации *hdd* и *prf* на 2-х и 4-х ядерной стадии.

На стадии зрелого дифференцированного ЗМ проявляются мутации, изменяющие его структуру или функцию. Например, мутация преждевременного деления яйцеклетки до оплодотворения обнаружена у линии льна RA91 (*Linum usitatissimum*) и линии АТ кукурузы. Обе линии характеризуются высокой частотой полиэмбрионии типа 2n-n. Объясняется это тем, что неоплодотворенная яйцеклетка ЗМ делится и образовавшиеся при этом клетки могут функционировать в качестве самостоятельных яйцеклеток, способных к оплодотворению или самостоятельному развитию.

Для линии АТ характерно также автономное образование эндосперма, развитие которого прекращается на ранних стадиях. Мутации, вызывающие автономное развитие эндосперма в отсутствие оплодотворения получены у арабидопсиса. Это мутации *fie*, *fis1*, *fis2*, *fis3*. У арабидопсиса описаны также мутации *gfa2*, *gfa3* и *gfa7*, препятствующие слиянию полярных ядер в зрелом ЗМ.

Выделены мутации нарушающие функцию зрелого ЗМ нормального строения и приводящие к неполноценному взаимодействию пыльцы и ЗМ при оплодотворении. У арабидопсиса известны мутации *gfa2* (*factor2*) и *srn* (*sirene*), которые характеризуются нормальным развитием ЗМ, но оплодотворения после проникновения в них пыльцевой трубки не происходит. Мутант арабидопсиса по гену *SRN* (*CERHALOPOD*) характеризуется тем, что пыльцевые трубки от дикого типа, попав в ЗМ мутанта, не могут прекратить рост, сохраняют целостность и не изливают содержимое.

Таким образом, важным направлением исследования механизмов, определяющих развитию микро- и макрогаметофитов является изучение мутаций, нарушающих различные цитологические события. Исследование таких мутаций приводит к выявлению системы генов, контролирующей развитие гаметофитов и их структурно-функциональную организацию.

Вопросы к семинару

1. Строение пестика, завязи, семязачатка.
2. Мегаспорогенез.
3. Развитие зародышевого мешка Polygonum-типа. Его структура и функциональная роль отдельных элементов.
4. Особенности проявления мутаций в мегагаметогенезе.
5. Проявление мутации *ig* в зародышевых мешках кукурузы и генетические последствия мутации.
6. Мутации табака изменяющие структуру ЗМ.
7. Особенности проявления мутаций на стадии зрелого зародышевого мешка.
8. Мутации, вызывающие автономное развитие эндосперма.
9. Проявление мутации *AT* в зародышевых мешках кукурузы и и генетические последствия мутации.
10. Мутации, препятствующие оплодотворению.

Список рекомендуемой литературы

1. Батыгина Т.Б. Размножение растений: Учебник / Т.Б. Батыгина, В.Е. Васильева. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2002. 232с.
2. Еналеева Н.Х. Цитологическое проявление элементов апомиксиса у линии кукурузы *AT-1* и ее гибридов / Н.Х. Еналеева, В.С. Тырнов // Тр. Межд. симп. «Апомиксис у растений: состояние, проблемы и перспективы исследований». Саратов, 1994. С. 57-59.
3. Еналеева Н.Х., Отькало О.В., Тырнов В.С. Фенотипическое проявление мутаций *ig* в мегагаметофите кукурузы линии Зародышевый маркер / Н.Х. Еналеева, О.В. Отькало, В.С. Тырнов // Генетика. 1998. Т.34, №2. С. 259-265.
4. Еналеева Н.Х. Гаметофитные мутации / Н.Х. Еналеева, В.С. Тырнов // Эмбриология цветковых растений: терминология и концепции. Т.3. Системы репродукции / Под ред. Т.Б. Батыгиной. СПб.: Мир и семья, 2000. С. 378-384.
5. Виллемсе М.Т.М. Женский гаметофит / М.Т.М. Виллемсе, Дж. Л. Вент // Эмбриология растений: использование в генетике, селекции, биотехнологии: в 2 т. М.: Агропромиздат, 1990. Т. 1. С. 184-223.
6. Поддубная–Арнольди В.А. Цитозембриология покрытосеменных растений / В.А. Поддубная–Арнольди. М.: Наука, 1976. 508 с.
7. Yadegaria R. Female Gametophyte Development / R. Yadegaria, G. N. Drewsb // The Plant Cell, 2004. V. 16, № 11 S. 133-141.

План проведения практического занятия

1. Изучить на постоянных препаратах строение семязачатков и развитие зародышевых мешков у разных видов растений (табака, петунии,

- примулы, лилии, лотоса, пшеницы и кукурузы) с использованием светового учебного микроскопа (объектив х40).
- Отметить сходство и различие в морфологии семязачатков и зародышевых мешков у разных видов растений. Обратить внимание на количество гнезд в завязи, на количество семязачатков и их форму. Зарисовать разные стадии развития зародышевых мешков и зрелые сформировавшиеся зародышевые мешки; подписать все видимые в световой микроскоп структурные элементы.
 - На временных препаратах и фотографиях изучить влияние мутации *ig* на строение зародышевых мешков кукурузы. Зарисовать разные типы аномалий.
 - На временных препаратах и фотографиях изучить проявление мутации *AT* в зародышевых мешках кукурузы. Зарисовать атипичные зародышевые мешки и зародышевые мешки с развитием партеногенетического зародыша.

Задачи для самоконтроля

Выберите правильные варианты ответов (1 и более) из предложенных.

- Центральная часть семяпочки называется: а) фуникулюс; б) халаза; в) нуцеллус; г) зародышевый мешок.
- Женским гаметофитом называют: а) завязь; б) семяпочку; в) мегаспору; г) зародышевый мешок.
- Зародышевый мешок, развивающийся из одной клетки тетрады макроспор, называется: а) тетраспорическим; б) биспорическим; в) моноспорическим; г) апоспорическим.
- Моноспорический, биполярный, восьмиядерный и семиклеточный зародышевый мешок развивается по типу: а) *Allium*; б) *Drusa*; в) *Oenothera*; г) *Polygonum*.
- Зрелый зародышевый мешок *Polygonum*-типа образуется в ходе мегagamетогенеза, который включает: а) одно митотическое деление; б) два; в) три; г) четыре.
- Нитчатый аппарат является структурой, характерной для: а) яйцеклетки; б) синергиды; в) центральной клетки; г) антиподы.
- У кукурузы образование 8 гаплоидных одноядерных клеток вместо 2-, 4- и 8-ядерных ценоцитных ЗМ вызывает мутация: а) *pat1* б) *pat2* в) *lo2* г) *fem2*.
- При мутации *ig* у кукурузы в ходе развития ЗМ возможно нарушение следующих цитологических событий: а) деление ядер; б) цитокинез; в) распределение клеток по полюсам; г) клеточная дифференциация.
- У мутантных растений кукурузы *ig ig* с высокой частотой образуются аномальные зародышевые мешки: а) с числом ядер менее 8; б) с числом ядер более 8; в) ценоцитные; г) с дополнительными яйцеклетками и полярными ядрами.

10. У линии кукурузы АТ мутация вызывает: а) аномальное развитие ЗМ; б) дегенерацию ЗМ; в) преждевременное деление яйцеклетки до оплодотворения; г) партеногенетическое развитие зародыша.

Заполните пропуски в следующих утверждениях.

11. Зрелый ЗМ Polygonum-типа на микропиллярном полюсе содержит 1) _____, на халазальном 2) _____ и в центре 3) _____ клетку.
12. Нарушения строения зародышевых мешков приводят или к 1) _____ женского гаметофита, или к возникновению 2) _____ зародышей.
13. Мутация *ram2* у кукурузы вызывает 1) _____ при каждом митотическом делении в мегагаметогенезе; она действует в течение 2) _____ митотических делений и в результате вместо ЗМ формируется 3) _____ клеток.
14. Мутация *ig* кукурузы характеризуется плеiotропным действием на развитие зародышевого мешка, и в первую очередь влияет на _____ в ЗМ.
15. В зародышевых мешках, *ig*-транскрипты обнаруживаются на 1) _____ стадии развития и отсутствуют в 2) _____.
16. Содержание *ig*- транскриптов самое высокое в _____ зародышевых мешках.
17. Практическое использование мутации *ig* в селекции связано с возможностью образования в мутантных ЗМ дополнительных 1) _____, их 2) _____ развития, что приводит к появлению 3) _____ растений.
18. Развитие андрогенных зародышей при мутации *ig* определяется наличием мутантного гена в 1) _____ и не зависит от его присутствия или отсутствия в 2) _____.
19. У арабидопсиса остановку развития ЗМ на одноядерной стадии вызывают мутации 1) _____, а на 2-х и 4-х ядерной стадии мутации 2) _____.
20. Для линии АТ характерно автономное развитие 1) _____ и автономное образование 2) _____.
21. Мутации, вызывающие автономное развитие эндосперма в отсутствие оплодотворения, экспериментально получены у _____.
22. Мутации, нарушающие функцию зрелого ЗМ нормального строения, приводят к неполноценному взаимодействию 1) _____ при оплодотворении, что проявляется в нарушении поведения в зародышевом мешке 2) _____.

Словарь терминов

Аллель – один из вариантов гена; различают нормальные и мутантные аллели
Антиподы – группа клеток, обычно из трех, составляющая халазальную часть зародышевого мешка.

Апомиксис – 1 - размножение семенами без оплодотворения; 2 - образование зародыша без слияния гамет.

Вегетативная клетка мужского гаметофита – большая клетка пыльцевого зерна, дающая при его прорастании пыльцевую трубку.

Веретено – структура, которая образуется на определенной стадии деления клетки и обеспечивает расхождение хромосом к полюсам.

Гаметофит – гаплоидная фаза в цикле развития спорообразующих растений, во время которой образуются гаметы, чередующаяся со спорофитом.

Гаметофит мужской – зрелое пыльцевое зерно, содержащее мужские гаметы – спермии.

Гаметофитные мутации – изменяют признаки микро- и мегагаметофитов и определяются как геномом материнского спорофита, так геномом самого гаметофита.

Гаметы – женские и мужские половые клетки, принимающие участие в процессе оплодотворения, как правило, имеющие гаплоидный набор хромосом.

Ген – участок молекулы ДНК, представляющий собой последовательность нуклеотидов, которой может быть приписана та или иная функция в организме.

Ген-регулятор – ген, модифицирующий или регулирующий активность других генов.

Генеративная клетка мужского гаметофита – меньшая клетка двухклеточного пыльцевого зерна, образующаяся в результате дифференцирующего митоза, и образующая при последующем делении два спермия.

Генная мутация – любая мутация, приводящая к изменению последовательности нуклеотидов какого-либо гена.

Генотип – наследственная информация, закодированная в генах. Существует несколько оттенков смысла термина: 1) генотип как генетическая структура организма по одному или нескольким изучаемым генным локусам; 2) генотип как совокупность всех генов организма.

Гомеозисные гены – гены, определяющие процессы роста и дифференцировки в организме. Гомеозисные гены контролируют транскрипционные факторы, контролирующие программы формирования органов и тканей.

Гомеозисные мутанты – организмы, у которых на месте одного органа развивается орган другого типа.

Гетерозигота – особь с разными аллелями в данном гене.

Гетерохронические мутации – приводят к повторению более ранней программы развития, то есть к временным изменениям в процессе развития.

Гомозигота – особь с одинаковыми аллелями в данном гене.

Гомологи – пары хромосом, по одной от матери и от отца, сходные между собой по морфологии и составу генов.

Женский гаметофит (зародышевый мешок) – развивается из гаплоидной мегаспоры в ходе трех митотических делений. Женский гаметофит – это структура, состоящая чаще всего из семи клеток: яйцеклетки, двух синергид, центральной клетки и трех антипод.

Интегумент – покров семязачки высших растений, окружающий и защищающий её центральную часть – нуцеллус.

Кадастальные гены – определяют пространственные границы экспрессии других генов.

Мейоз – процесс деления, происходящий в развивающихся половых клетках и приводящий к редукции числа хромосом и к рекомбинации генов.

Мегаспорогенез – процесс формирования мегаспор путем мейотического деления мегаспороцитов, развивающихся в семязачатке.

Мегаспора – первая клетка гаметофитной генерации, образующаяся в результате двух мейотических делений и дающая начало женскому гаметофиту.

Микроспорогенез – процесс формирования микроспор путем мейотического деления микроспороцитов, развивающихся внутри гнезда пыльника.

Микроспороцит – спорогенная клетка, вступающая в мейоз после прекращения в ней митозов. Синонимы: материнская клетка микроспор, мейоцит.

Микроспора – первая клетка гаметофитной генерации, образующаяся в микроспорангии в результате двух мейотических делений микроспороцита.

Митоз – деление клетки, при котором каждая из дочерних клеток получает точные копии всех хромосом.

Молекулярно-генетические методы – методы, используемые в молекулярной генетике.

Моногенный тип наследования – тип наследования, при котором признак определяется только одним геном.

Морфогенез – формообразование, возникновение новых форм и структур как в онтогенезе, так и в филогенезе организмов.

Мутант – особь, несущая генетическое изменение.

Мутация – любое изменение в гене или в хромосомах.

Пестик – женский репродуктивный орган в цветке покрытосеменных растений, образованный одним или несколькими плодолистиками.

Плодолистик – генеративная структура в цветке покрытосеменных, гомологичная мегаспорофиллу, образующая пестик.

Пыльцевая трубка – специализированная структура мужского гаметофита, обеспечивающая доставку спермиев в зародышевый мешок для дальнейшего двойного оплодотворения.

Пыльник – фертильная часть тычинки, в микроспорангиях которой осуществляется микроспорогенез.

Пыльцевое зерно – мужской гаметофит семенного растения, развивающийся из микроспор, содержит кроме вегетативного ядра (вегетативной клетки), контролирующего рост пыльцевой трубки, генеративное ядро.

Расхождение хромосом – перемещение хромосом с помощью нитей веретена к полюсам во время клеточного деления.

Регуляторные гены (regulator genes) – управляющие гены, запускающие или подавляющие действие других генов в соответствии с «календарем» развития.

Семязачаток (семяпочка) – орган, формирующийся в завязи, в котором происходит мегаспорогенез, формирование женского гаметофита, оплодотворение и из которого формируется семя.

Синапсис – тесное соединение пар гомологичных хромосом в профазе первого деления мейоза.

Синаптонемальный комплекс (СК) – белковая нитевидная структура, которая возникает в профазе мейоза I и обеспечивает синапсис гомологичных хромосом.

Синергида – клетка-спутница яйцеклетки в зародышевом мешке покрытосеменных.

Спермий – мужская половая клетка или мужская гамета.

Тапетум – полифункциональная ткань, непосредственно прилегающая к спорогенной ткани пыльника, обеспечивающая прохождение мейоза, нормальное развитие микроспор и созревание пыльцевых зерен.

Тетрада – группа из четырех гаплоидных клеток растений (тетрада спор), образующаяся в результате мейоза *микро-* или *мегаспороцита*.

Хиазма – видимый в микроскоп участок, в области которого гомологи обмениваются фрагментами в профазе мейоза.

Хромосома – вместилище генов, гигантская линейная молекула клеточного ядра, состоящая из комплекса нуклеиновой кислоты (ДНК) и белков.

Центромер – область хромосомы, куда прикрепляются нити веретена и перемещают ее к тому или иному полюсу во время деления клетки.

Экспрессия гена – проявление генетической информации, записанной в гене в виде рибонуклеиновой кислоты, белка и фенотипического признака.

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) – это контролируемое внеядерными генетическими системами нарушение развития пыльцы у растений.

Яйцеклетка – женская половая клетка. Содержит гаплоидный набор хромосом и питательные вещества, необходимые для развития зародыша.

Ответы к задачам для самоконтроля

Развитие цветка

- 1) в;
- 2) а; в; г;
- 3) б; в; г; д; е; ж;
- 4) г;
- 5) б;
- 6) а;
- 7) г;
- 8) а;
- 9) 1 – коротким циклом развития; 2 – хорошим размножением в лабораторных условиях; 3 – малым размером генома; 4 – наличием большого числа мутаций; 5 – высокой способностью к регенерации и трансформации;
- 10) генотипа;
- 11) 1 – большим количеством разнообразных структур; 2 – ограниченностью развития во времени и пространстве;
- 12) вторичных и третичных меристем соцветий;
- 13) вторичных и третичных цветковых меристем;
- 14) гомеозисными;
- 15) гетерохроническими;
- 16) кадастральные;
- 17) АБС;
- 18) 1 – лепестки; 2 – тычинки;
- 19) $AP1$; $AP2$; $AP3$; PI ; AG ;
- 20) $AP1$; $AP2$;
- 21) $AP3$; PI ;
- 22) 1 – чашелистиками и лепестками; 2 – А;
- 23) LFY ;
- 24) 1 – между 3-й и 4-й; 2 – $AP3$.

Мейоз

- 1) б;
- 2) а;
- 3) б;
- 4) в; г; д;
- 5) а; б; д;
- 6) а;
- 7) б; г;
- 8) а; б; в;
- 9) в;
- 10) а; б; в; г;
- 11) в; г;

- 12) мейоз;
- 13) 1 – рекомбинация; 2 – кроссинговера; 3 – случайного, независимого расхождения гомологичных хромосом; 4 – случайного расхождения хроматид;
- 14) 1 – $2n4c$; 2 – $1n 2c$; 3 – $1n 1c$;
- 15) 1 – анафаза; 2 – веретено деления;
- 16) гомологичными;
- 17) 1 – мутантной; 2 – мутация;
- 18) 1 – нарушения предмейотических митозов; 2 – нарушения мейотического цикла; 3 – нарушения синапса; 4 – нарушение образование веретена деления и цитокинеза;
- 19) образовании многоядерных микроспороцитов;
- 20) 1 – сверхкомпактизацию; 2 – диакинеза;
- 21) *aml*;
- 22) 1 – *Rec8*; 2 – белок когезин;
- 23) 1 – когезинов; 2 – кинетохора;
- 24) 1 – синаптические; 2 – асинаптические;
- 25) 1 – нарушения ориентации веретена деления; 2 – отсутствия цитокинеза после первого мейоза.

Развитие микрогаметофита

- 1) г;
- 2) б;
- 3) б;
- 4) а;
- 5) а;
- 6) б; в;
- 7) а; б; в; г;
- 8) в;
- 9) а; б; в;
- 10) 1 – вегетативной; 2 – генеративной;
- 11) вегетативную клетку и два спермия;
- 12) 1 – одинарному; гаплоидных;
- 13) 1 – функциональная дефектность спермиев; 2 – одинарному; 3 – гаплоидных;
- 14) стерильной;
- 15) 1 – по материнской; 2 – яйцеклетки; 3 – спермиями;
- 16) тапетальных;
- 17) 1 – митохондрий; 2 – дегенерация и нераскрытие; нежизнеспособной;
- 18) 1 – митохондриального; 2 – ядерных;
- 19) *Rf1* и *Rf2*;
- 20) 1 – транскрипцию; 2 – процессинг; 3 – транскрипт;
- 21) *ms*.

Развитие мегagamетофита

- 1) г;
- 2) г;
- 3) в;
- 4) г;
- 5) в;
- 6) б;
- 7) б;
- 8) а; б; в; г;
- 9) а; б; в; г;
- 10) в; г;
- 11) 1 – яйцеклетку и две синергиды; 2 – три антиподы; 3 – центральную клетку с двумя полярными ядрами
- 12) 1 – стерильности; 2 – гаплоидных и полиплоидных;
- 13) 1 – цитокинез; 2 – трех; 3 – восемь гаплоидных клеток;
- 14) число митотических делений;
- 15) 1 – одноядерной стадии; 2 – мегаспорах;
- 16) зрелых;
- 17) 1 – яйцеклеток; 2 – партеногенетического; 3 – гаплоидных;
- 18) 1 – зародышевом мешке; 2 – пыльце;
- 19) 1 – *gf*, *gfa*, *fem2*, *fem3*; 2 – *hdd* и *prf*;
- 20) 1 – яйцеклетки; 2 – эндосперма;
- 21) арабидопсиса;
- 22) 1 – пыльцы и ЗМ; 2 – пыльцевой трубки и спермиев.