

19. Raju N. B. Postmeiotic mitosis without chromosome replication in a mutagen sensitive *Neurospora* mutant // Exp. Mycol. – 1986. – Vol. 10. – P. 243-251.
20. Ross K. J., Fransz P., Armstrong S. J. et al. Cytological characterization of four meiotic mutants of *Arabidopsis* isolated from T-DNA-transformed lines // Chromosome Research. – 1997. – Vol.5. – P. 551-559
21. Sanders P.M., Bui A.Q., Weterings K. et al. Anther developmental defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutants // Sexual Plant Reproduction. – 1999. – Vol. 11. – P. 297-322.

LISOVSKA T.P., KUZMISHYNA I.I., KOTSUN L.O., VOITIUK V.P.

*Lesia Ukrainka Estern European National University
Ukraine, 43025, Lutsk, Voli prosp. 13, e-mail: tliovska@ukr.net*

MEIOTIC MUTAT TOMATY CONTROLLING EXIT FROM MEIOSIS

Aims. This paper presents the results of cytological and genetic analysis of new meiotic mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Methods.** Studies on meiosis in microsporogenesis were made in iron-acetocarmine smears of anther fixed in acetic alcohol (3:1). **Results.** Cytological analysis revealed the normal course of meiosis until anaphase II, after which there is an additional second division of meiosis without S - phase. Meiotic mutation tomato *amd* (additional meiotic division) is monogenic recessive nature of inheritance. Mutant plants exhibit a complete male sterility but normal female fertility. **Conclusions.** Meiotic mutant of tomato *amd* controls the completion of meiosis.

Key words: *Lycopersicon esculentum*, meiosis, meiotic mutants, additional meiotic division.

ЛЫСЕНКО Н.Г., ЛЯН ХАОЮАНЬ, КЛИМЕНКО В.В.,

*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина,
Украина, 61077, Харьков, пл. Свободы 4, e-mail: stemway@gmail.com*

ОВОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И СПОНТАННЫЙ ПАРТЕНОГЕНЕЗ У ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА *BOMBYX MORI* L.

Вариабельность проявления морфологических и физиологических признаков, детерминированных в яйце в результате завершения процессов оогенеза (овогенетическая изменчивость), была показана на зрелых ооцитах тутового шелкопряда, полностью сформировавшихся в яичнике, трансплантированном в полость тела самца на стадии личинки [1]. В качестве донора яичников в этих опытах были использованы клоны, что позволяет продолжать исследования обнаруженного явления на том же самом материале в любое время. Задача сводится к изучению потенциала развития зрелого яйца в зависимости от его положения в овариоле. Партеноклоны являются удобной моделью для решения подобной задачи, поскольку в имаго зрелые ооциты заполняют восемь достаточно длинных овариол, которые легко можно разрезать на части, и, объединив ооциты соответствующих частей от бабочек одного клона, оценить тем или иным способом потенциал развития яиц в каждом отрезке овариолы. Так, овогенетическая изменчивость была подтверждена оценкой амейотического партеногенеза яиц из разных участков овариолы в клонах, отличных от астауровского

клона P29 и во всех изученных клонах без исключения – при оценке с помощью мейотического партеногенеза [2].

В настоящей работе мы используем для оценки потенциала развития неоплодотворенного яйца так называемый спонтанный партеногенез, который известен у тутового шелкопряда уже несколько сот лет и имеет интересную историю [3]. Причина этого очень проста: развивающееся яйцо меняет свою окраску после формирования серозы с желтой на темно-серую в течение нескольких дней после оплодотворения; когда то же самое происходило с яйцами, отложенными девственными самками, это вызывало и до сих пор вызывает живой интерес к развитию, начавшемуся явно без участия самца. Простой эксперимент показывает, что такое развитие не является совершенно самопроизвольным: аккуратно извлеченные из брюшка бабочки неоплодотворенные яйца остаются не пигментированными, а отложенные девственными самками того же клона пигментируются в разной степени с определенной, характерной для клона частотой, что свидетельствует о наличии факторов в половых путях самки, которые активируют зре-

лые ооциты в процессе откладки [4]. Оценка потенциала развития неоплодотворенных яиц клона в настоящей работе произведена двумя путями: в одном варианте учитывали на протяжении 12 суток пигментацию яиц, отложенных за день виргинными, синхронизированными по вылету бабочками, полагая при этом, что более поздние

порции яиц соответствуют более удаленным от яйцеклада участкам овариол, а в другом варианте – оценивали спонтанный партеногенез яиц, извлеченных из разных участков овариол имаго того же клона. Выводы основаны на сравнении полученных результатов.

Материал и методы

Выкормку материала для настоящей работы проводили в 2011-2012 годах на экспериментальной базе Харьковский национальный университет (ХНУ) имени В.Н. Каразина в соответствии с принятыми зоотехническими требованиями. В работе использовали партеноклон Р29, выбор которого обусловлен его большей способностью к спонтанному партеногенезу, чем других клонов лабораторной коллекции. Способность яйца к спонтанному партеногенезу оценивали двумя способами: по суточным сборам яиц, вынесенных неосемененными самками, и по порциям яиц, извлеченных по известной методике [3] из целых или поделенных на части

овариол; невынесенные яйца извлекали из бабочек сразу после их гибели и учитывали в оценке общего количества яиц в самках. В качестве интегрального показателя способности зрелых ооцитов n-го, считая от яйцеклада, участка овариолы (его «длина» соответствует доле сбора n-го дня в общем количестве вынесенных самками за 12 суток яиц), развиваться спонтанно после откладки использовали процент полностью пигментированных яиц в сборе n-го дня. Корреляция степени пигментации серозы со степенью развития зародыша подтверждена тем же методом, что и ранее [5].

Результаты и обсуждение

Данные по спонтанному партеногенезу яиц, отложенных в течение 12 суток виргинными самками клона Р29, представлены на рис. 1. Снижение доли пигментированных яиц в суточных кладках происходит на протяжении всего выбранного отрезка времени; на графике оно соотносено с распределением по

суткам всех вынесенных бабочками яиц; пик откладки приходится на 5-7 сутки. К этому времени доля пигментированных яиц падает с 24 до 15%. Соответственно объему суточных сборов яиц (табл. 1) ошибка доли оказывается больше в начале и в конце изученного периода.

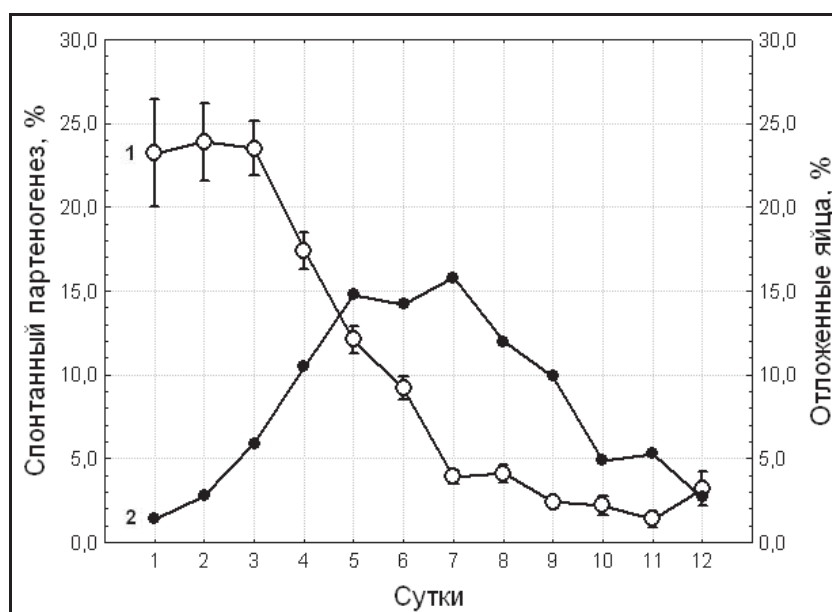


Рис. 1. Спонтанный партеногенез (1) в порциях суточной грены (2), отложенной виргинными самками клона Р29 за 12 суток

Из приведенных данных следует, что потенциал развития максимален у ооцитов, занимающих первые три от яйцеклада участка овариолы (первые трое суток откладки яиц) общей длиной около 10%, что составляет около 20-25 яиц, или примерно по 3 яйца в каждой из 8 овариол (табл. 1). На следующем участке в 40% всех зрелых яиц, идущем в направлении к нача-

лу овариол, то есть апексу, потенциал развития с каждым днем быстро и достоверно уменьшается и после 7 дня уже для всех ооцитов не превышает 5%. К этому времени в бабочке остаются не вынесенными еще 50% яиц (рис.1). Изученные таким способом последовательные участки овариол в расчете на одну бабочку представлены в табл. 1.

Таблица 1. Распределение отложенных одной и всеми бабочками яиц по суткам

Откладка яиц	Сутки (номер участка овариолы по порядку от яйцеклада)												Всего яиц
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
55 самок	169	345	711	1275	1792	1715	1909	1447	1193	588	640	324	12108
%	1,4	2,8	5,9	10,5	14,8	14,2	15,8	12	9,9	4,9	5,3	2,7	100,0
1 самка	3	6	13	23	33	31	35	26	22	11	12	6	221

В яйцах с полностью пигментированной серозой, которые использовали в оценке потенциала развития, наличие сформированных эм-

брионов было подтверждено цитологически (рис.2).

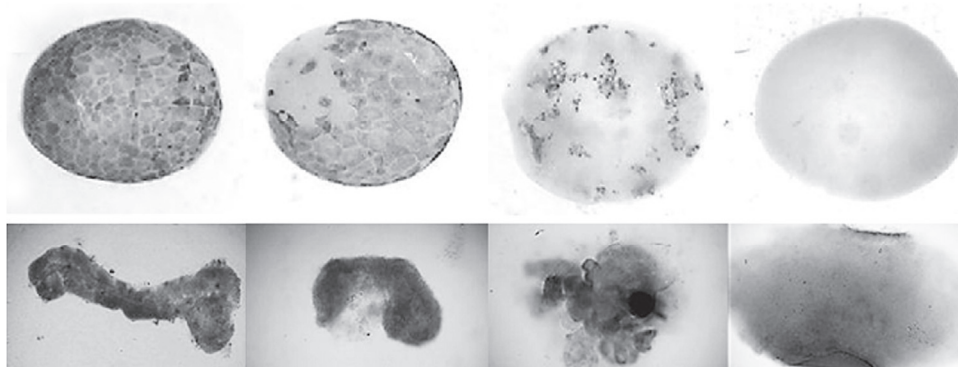


Рис. 2. Сформированный зародыш выявляется только в яйцах с завершенной пигментированной серозной оболочкой (крайнее слева яйцо)

Отдельно исследовали потенциал развития яиц в трех равных участках овариолы, варьируя продолжительность (0, 60, 120 с) принятой в методе Астаурова [3] процедуры механического удаления остатков овариол с яиц путем обкатывания их на густой марле под струей водопроводной воды. Если яйца извлекали из целых овариол, то наблюдали достоверное увеличение процента полностью пигментированных яиц при увеличении длительности обкатки, причем чувствительность яиц к этой процедуре возрастала с увеличением возраста бабочки (рис. 3).

В соответствии с целью работы выясняли затем, зависит ли степень механической активации яиц от их положения в овариоле и от воз-

раста имаго. Полученные данные (рис. 4, табл. 2) показывают, что разные участки по-разному реагируют на использованное механическое воздействие. Так, в день вылета изучаемая процедура не оказывает влияния на ооциты ни в одном из трех изученных участков овариол даже при увеличении ее продолжительности. С возрастанием, общим повышением чувствительности зрелых ооцитов, яйца из крайних отрезков овариолы реагируют на увеличение длительности механической обработки на марле значительно сильнее ооцитов середины части овариолы, что еще раз подтверждает отсутствие эквивалентности зрелых ооцитов овариолы [2].

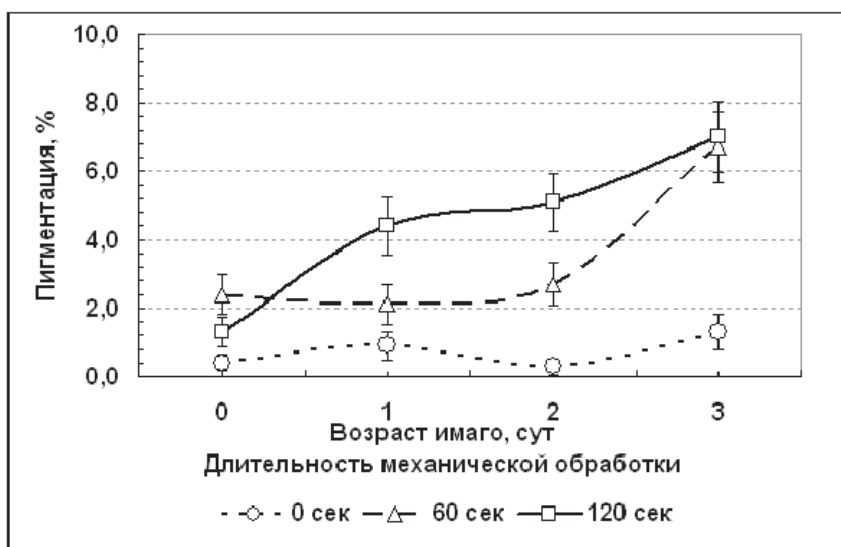


Рис. 3. Зависимость способности неоплодотворенных яиц тутового шелкопряда к спонтанному партеногенезу от возраста и интенсивности механического воздействия

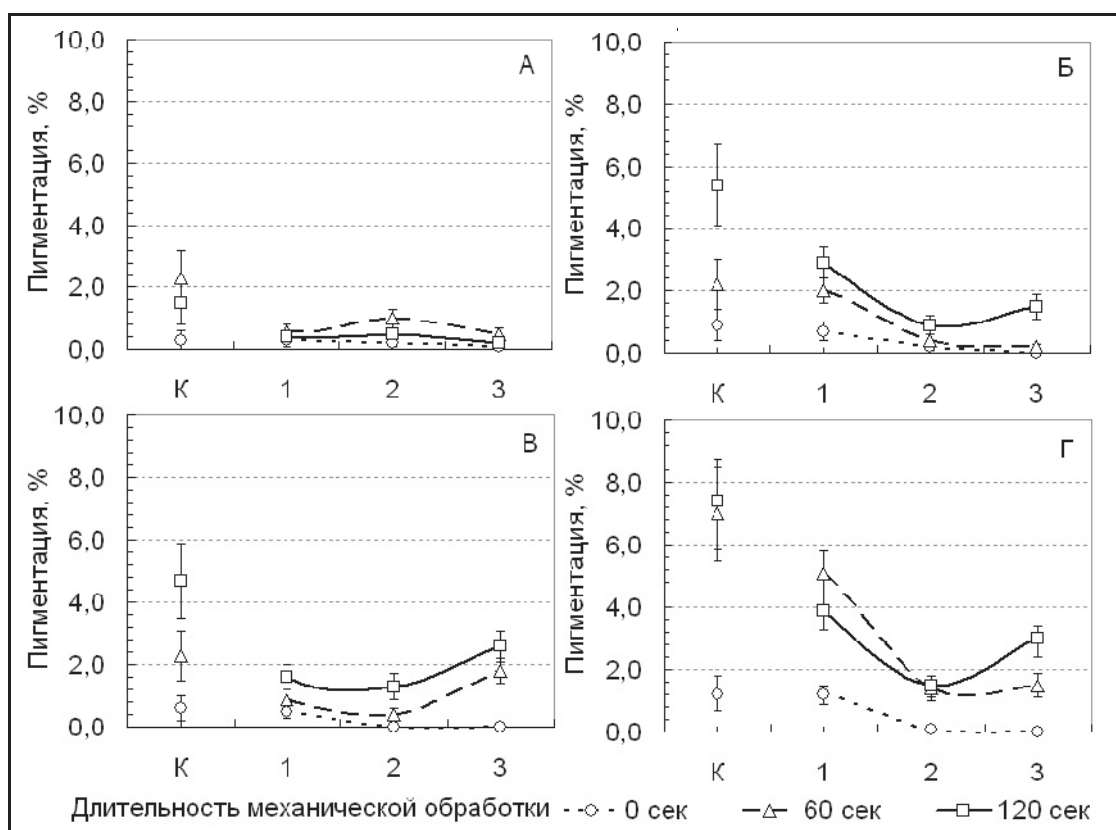


Рис. 4. Способность яиц из трех разных отрезков овариолы к пигментации в зависимости от длительности механического воздействия. Возраст бабочки после вылета из кокона: А – 0 день вылета, Б – 1, В – 2, Г – 3 дня

Таблица 2. Объемы выборок в материале опыта, представленных на рис. 3 и 4

Возраст самки, сут.	Контроль (целая овариола)	Отрезки овариолы			Всего яиц
		1	2	3	
0 (10 ♀)	1082	934	1001	953	3970
1 (10 ♀)	1103	1025	1105	906	4139
2 (10 ♀)	1007	943	958	896	3804
3 (10 ♀)	943	959	1016	974	3892
Всего яиц	4135	3861	4080	3729	15805

Выводы

Оценив уровень спонтанного партеногенеза по проценту полностью пигментированных яиц в последовательных суточных кладках бабочек партеноклона P29, установили:

1). потенциал развития откладываемых самками неоплодотворенных яиц зависит от их положения в овариоле;

2) потенциал развития зрелых ооцитов максимален в дистальной, близкой к яйцекладу, части овариолы и минимален в ее проксимальной по отношению к апексу части, уменьшаясь в промежуточной части с 25 до 5%;

3) потенциал развития яйца приобретает в процессе откладки за счет неизвестного внутреннего фактора, возможно, механического раздражения при прохождении яйца через яйцеклад, поскольку аккуратно извлеченные ооциты

имеют нулевой потенциал; спонтанный партеногенез в этом случае следует считать искусственным, но без участия человека.

4) механическое раздражение извлеченных зрелых яиц имаго путем обкатывания их на марле под струей воды увеличивает (с возрастом бабочки – заметнее) процент пигментированных яиц при увеличении длительности процедуры, на которую ооциты средней части овариолы реагируют значительно слабее ооцитов с обоих краев овариолы. В данном случае партеногенез – искусственный по определению.

5) отсутствие эквипотенциальности зрелых ооцитов в овариолах тутового шелкопряда может быть причиной внутриклональной изменчивости и стать основой для уточнения ряда понятий генетики и эпигенетики.

Литература

1. Zabelina V., Klymenko V. Ovary transplanted in the silkworm *Bombyx mori* L.: parthenocloning by eggs produced in male recipient // *Sericologia*. – 2008. – Issue 48, №2. – P. 123-128.
2. Лысенко Н.Г., Клименко В.В. Отсутствие эквипотенциальности зрелых яиц в овариоле имаго тутового шелкопряда // *Вестник УОГиС*. – 2013. – Т. 11, №1. (в печати)
3. Астауров Б.Л. Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1940. – 240 с.
4. Klymenko V. V. Parthenogenesis and cloning in the silkworm *Bombyx mori* L.: problems and prospects // *J. Insect Biotechnol. Sericology*. – 2001. – Vol. 70. – P. 155–165.
5. Лян Х., Клименко В.В. Спонтанный партеногенез в оценке потенциала развития неоплодотворенного яйца тутового шелкопряда // *Вестник УОГиС*. – 2013. – Т. 11, №1. (в печати)

LYSENKO N.G, LIANG HAOYUAN, KLYMENKO V.V.

V.N. Karazin Kharkiv National University

Ukraine, 61077, Kharkiv, Svobody Sq. 4. e-mail: stemway@gmail.com

OOGNETIC VARIABILITY AND SPONTANEOUS PARTHENOGENESIS IN THE SILKWORM *BOMBYX MORI* L.

Aims. The change of the mature oocyte developmental ability along the ovariole has been studied to find oogenetic basis for intracloonal variation. **Methods.** Parthenoclone P29 reproduced by ameiotic parthenogenesis (Astaurov, 1940) was used. The percentage of complete serosa formation among spontaneously developing eggs laid day by day during 12 days by virgin P29 females or among eggs mechanically extirpated from the ovarioles was taken as an estimate of developmental potential for the oocytes. **Results.** The developmental oocyte potential was shown to depend on the oocyte position in the ovariole, its maximum being among the first formed oocytes and located nearest to the ovipositor and its minimum being among the youngest mature oocytes. The mechanical irritation stimulates eggs to develop and its effect also depends on the oocyte position in the ovariole, the minimum being in the middle region of the latter. **Conclusion.** The shown absence of equipotentiality of the mature oocytes in the ovariole can be considered as the cause of intracloonal variability in the silkworm and can be used for analysis of some basic concepts of genetics and epigenetics.

Key words: parthenogenesis, clones, intracloonal variation, oogenesis, silkworm.