

DOI: <https://doi.org/10.32839/2304-5809/2019-10-74-83>

УДК 576.356:582.681.62

Настека Т.М., Артамонова В.С.

Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова

СПОНТАННИЙ ЦИТОМІКСИС У *LILIUM BULBIFERUM* VAR. *CROCEUM*

Анотація. Цитоміксис або міграція генетичного апарату – процес міжклітинної взаємодії, що спостерігається у рослинних тканинах. Воно широко поширене серед рослин, та, в той же час, має неоднозначний характер. На сьогоднішній день цитоміксис привертає увагу невідомими механізмами, що дають можливість ядрам мігрувати між сусідніми клітинами [1]. Достовірно невідомо до яких наслідків цей процес може призводити. Цитоміксис був знайдений та описаний ще у минулому столітті [2–4], але достовірних даних щодо процесу, причин та наслідків ще немає. Тому в цій роботі ми розглядали спонтанний цитоміксис у представниках *Liliaceae* та було встановлено, що без будь-яких зовнішніх впливів спостерігається міграція хроматину, тобто, наявність процесу може не залежати від зовнішніх стресових факторів. Під час дослідження ми спостерігали, як хроматин переходить в клітину – реципієнт під час мікроспорогенеза, тобто, ми можемо казати про локальний цитоміксис.

Ключові слова: спонтанний цитоміксис, міграція ядер, мікроспорогенез, мейотичний поділ.

Nasteka Tetiana, Artamonova Viktoriia

National Pedagogical Drahomanov University

SPONTANEOUS CYTOMIXIS AT *LILIUM BULBIFERUM* VAR. *CROCEUM*

Summary. Cytomixis, or migration of the genetic apparatus, is the process of intercellular interaction observed in plant tissues. It is widespread in plants, but at the same time is ambiguous. Cytomixis is considered to be a form of nucleus migration between cells, incorporating in its mechanism the interaction of cytoskeletal components that are in motion and dynamics and are not stable, with the nucleus through various signaling systems and linker complexes. Today, cytomixis attracts unknown mechanisms, allowing nuclei to migrate between adjacent cells [1]. But scientists did not come to the same opinion on the causes and consequences of this process. This phenomenon is interesting and insufficiently studied, as it is not yet clear whether cytomixis is beneficial or harmful to the plant. At present, cytomixis has not been tested in animal, bacterial, and human cells and has not been found to date. Today, there are no research by scientists about what this process can lead to and what consequences the plants will have. The process of cytomixis often observes in the meiosis of male representatives of higher plants. The process is the migration of nuclei between adjacent cells. Cytomixis has been found and described in the last century [2–4], but there is no reliable data on the process, cause and effect. Cytomixis studies are extensive due to the fact that this process is not well researched and the mechanisms that cause it are poorly understood. At the heart of the cellular mechanism is the transfer of nuclei, the so-called migration. Therefore, in this work we examined spontaneous cytomixis in the representatives of *Liliaceae* and without any external effects. We observed chromatin migration between cells during our research, so, we can assume that spontaneous cytomixis is independent of stress factors. This phenomenon can affect the exchange of information between cells, the formation of a single system and increase genetic diversity. We observed the migration of nuclear material in prophase 1 of the meiotic division and how microsporocytes were grouped into groups of 3-5 cells. In the research, we observed that chromosomes transiting to recipient cells have translocations.

Keywords: spontaneous cytomixis, nuclear migration, microsporogenesis, meiotic division.

Постановка проблеми: Цитоміксис у рослинних представників був виявлений ще у минулому столітті [2–4]. Але на сьогоднішній день вчені не прийшли до однієї думки щодо причин та наслідків цього процесу. Це явище є цікавим та недостатньо вивченим, адже на теперішній час не встановлено точно, чи є цитоміксис корисним чи шкідливим для рослини. Слід зазначити, що у клітинах тварин, бактерій та людини цитоміксис не був досліджений, і за даними, що є на сьогодні, він не був знайдений. Тому можна сказати, що міграція ядра характерна тільки для рослинних клітин. Частина дослідників поділяє думку, що цитоміксис є запрограмованою клітинною загибеллю, але це у випадку, коли на клітину впливають стресовими факторами, такими як, наприклад, опромінення радіоактивними елементами [5]. Але у випадку, коли на клітину не діють ніякими чинниками, даний процес у представників з великими геномами також спостерігається. Це явище може впливати на обмін інформацією між клітинами, формуван-

ням єдиної системи та збільшувати генетичне різноманіття.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Цитоміксис був знайдений ще у минулому столітті [2]. Вперше він описаний М. Керніке у мікроспороцитах *Crocus vernus* (L) Hill., а пізніше був знайдений у епідермальних клітинах *Allium nutans* L. [2]. Р. Гейтс та Л. Дігбі продовжили проводити дослідження та вивчати цитоміксис на *Galtonia candicans* (Baker) Decne та *Oenothera agigas* [3–4]. Вони охарактеризували це явище як міграцію хроматина, який переміщується по цитоплазматичним каналам, що з'єднують мікроспороцити. Р. Гейтс систематизував наявні знання про цей процес та запропонував термін «цитоміксис» [6]. Слід зазначити, що на початку досліджень цитоміксис розглядався як процес, що не відбувається у нормі у рослин. Патологічний процес, який включається через стресовий вплив на рослину. Було встановлено, що цитоміксис часто зустрічається у гібридів [7]. На сьогоднішній день не існує однієї думки щодо причин та наслідків

цього процесу. Деякі вчені вважають, що міграцію хроматину слід розглядати тільки в контексті запрограмованої загибелі клітини [8–9], інші вчені розглядають думку, що цитоміксіс є нерегулярним явищем, але є нормою для рослини [10]. Існує думка, що цитоміксіс є природнім процесом міжклітинної взаємодії між мікроспороцитами під час якого відбувається міграція ядерного матеріалу, трофічних факторів та клітинних органел [11–12]. Цю думку поділяв Р. Гейтс, який вважав, що цитоміксіс є клітинним процесом, який є спонтанним та нормальним для рослини [6].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. На сьогоднішній день цитоміксіс привертає увагу дослідників невідомими причинами запуску цього процесу та можливими наслідками. Вважається, що міграція хроматину може призводити до дестабілізації мейотичного поділу [13]. Деякі вчені вважають, що така міжклітинна взаємодія позитивно впливає на процес мейотичного поділу, і як наслідок, позитивно впливає на якість пилку [14].

В даній роботі висвітлюється механізми цитоміксісу та його протікання. Як саме цей процес відбувається на прикладі багаторічних цибулинних рослин родини Liliaceae, а саме, культивованих форм виду *Lilium bulbiferum* var. *croceum* (Chaix) Pers., 1805.

Мета статті. Головною метою цієї роботи є аналіз механізмів міжклітинних взаємодій, а саме спонтанного цитоміксісу у *L. bulbiferum*.

Виклад основного матеріалу. Цитоміксіс – це явище переносу ядерного матеріалу між суміжними мікроспороцитами.

Цитоміксіс характеризується різною інтенсивністю. Видів цитоміксісу є три: локальний, інтенсивний та деструктивний [15].

Слабо інтенсивний цитоміксіс зустрічається у рослинному матеріалі, що не піддається будь-яким стресовим чинникам. Тому можна припустити, що даний вид цитоміксісу може бути нормою для рослини. Така міграція ядерного матеріалу відбувається у профазі 1 мейотичного поділу. Можна спостерігати, як МСЦ будуть об'єднуватися у групи, які містять по 3-5 клітин. Всі ці клітини, що утворюють групу, будуть мати цитоміксісні канали, через які відбувається міграція генетичного матеріалу [16].

При такому виді цитоміксісу, він не впливає на життєдіяльність рослини. Не спостерігається деструктивних невірних наслідків для мейотичного поділу.

Важливо відмітити, що цитоміксіс не є регулярним явищем. Неправильно казати, що усі мікроспороцити одночасно вступають у цитоміксіс [15]. Але, якщо додаються додаткові стресові фактори, а саме: гібридизація, фізичні фактори, хімічні реактиви, іонізуюче опромінення і гербіциди, то нормальній локальній слабкій цитоміксіс переходить у деструктивний [7]. В даному випадку, інтенсивність різко зростає, цитоміксіс починається у більшості мікроспороцитів та характеризується порушеннями у протіканні мейозу. Як наслідок, з'являється велика кількість аглютинованого хроматину. Цей хроматин не дає можливості розвиватися і утворюватися нормальному хроматину. Аглютинований вид заповнює усю порожнину пиляка [17].

Як було зазначено раніше, цитоміксіс можуть розглядати як патологічний процес у рослинному матеріалі. Якщо розглядати це явище з цитологічної та генетичної точки зору, то справді, міграція хроматину супроводжується генетичною нестабільністю і, як наслідок, порушенням гомеостазом клітини.

Існують думки, що хроматин, який мігрує до клітини-реципієнта не буде вбудовуватися у ядро через те, що цей генетичний матеріал через деформації може бути пошкодженим [18].

Для досліджень використовували лілію шафранну (*L. bulbiferum*.) Предметом вивчення був спонтанний цитоміксіс без втручання зовнішніх факторів. Пиляки фіксували по Бродському (ФСО). Вміст пиляків фарбували 2%-ним ацетокарміном.

За результатами дослідження, в період зигопакітени мікроспорогенеза цитоміксіс охоплює велику частину мікроспороцитів

Даний тип цитоміксіса не викликає значних порушень чи будь-яких критичних змін у клітині після поділу. Однак, у багатьох випадках такий цитоміксіс може супроводжуватися залученням в міжклітинні зв'язки системи з багатьох клітин і утворенням великої кількості тимчасових, так званих транзиторних мікроядер.

Структурний тип міжклітинної взаємодії у вигляді цитоміксіса з прямим між'ядерним взаємодією протікає без утворення тимчасових мікроядер, а після закінчення пахітени, ядра розходяться і повертаються на свої позиції, що були до поділу в клітині, де продовжують мейоз.

За результатами проведеного дослідження цитологічні наслідки інтенсивного цитоміксіса проявлялися в зміні протікання процесу мейозу, а саме у вигляді втрати синхронності і зміні часу вступу кожної клітини до мейозу в межах пиляка. Спостерігалася асинхронність. Ми спостерігали порушення та труднощі у формуванні метафазних пластинок, затримку та зсув по часу в метафазі. Відбувалося викидання фрагментів хромосом, що є ацентричними, за межі веретена поділу та, як наслідок, спостерігалася порушення у розходженні хромосом та з'являлися нехарактерні формування у вигляді хромосомних мостів і перетяжок.

Під час цитоміксісу ми розрізняли цитоміксісний хроматин – хроматин, що утворювався під час цитоміксісу [1; 19].

Під час досліду ми спостерігали, як під час метафазі ацентричні хромосоми не вбудовувалися до метафазної пластинки. Вони знаходяться у клітині, але залишаються поза процесу вбудовування метафазного ряду.

Доволі велика частина фрагментованих хромосом є у телофазі 1. Вони формують дрібні мікроядра, які в свою чергу формують окремий мікрополус. У другому поділі мейозу ми спостерігали як картина цитогенетичних особливостей повторювалася, але, слід зазначити, що частота аномалій була меншою.

Причина, походження та механізми цього процесу на даний момент ще не достатньо вивчені. Генетичний та молекулярний контроль сучасними роботами досліджується, але неможливо точно стверджувати як саме проходить контролювання цитоміксісу.

В даній роботі ми дослідили як в рослинному матеріалі, що не піддавався ніякому впливу, що травмує, спостерігався спонтанний цитоміксіс. Тому, можна припустити що думка про патологію, заснована на тому, що даний процес притаманний рослинам з вираженою генетичною нестабільністю. Однак, локальний цитоміксіс можна спостерігати на прикладі багатьох видах рослин.

У фізіологічному аспекті цитоміксіс запускає утворення цитоміктичних каналів між суміжними клітинами. Існує думка, що через утворення цитоміктичних каналів та недостатньої активності новобудованих клітинних стінок, в клітину поступають гідролітичні ферменти. А це, в свою чергу призводить до того, що починається руйнування клітини та можна спостерігати деструктивні явища [17; 20].

Кількість та фізіологічні параметри цитоміктичних каналів є варіативними. Залежить від приналежності до певного виду.

Ширина цитоміктичних каналів достатня для того, щоб по ним мігрували хромосоми. За існуючими даними, ця цифра становить від 250 нм до 10 мкм [1; 14; 17–19]. Ми можемо припустити, що така ширина надає можливість переходити з клітини не тільки ланцюгу хромосом, але й ядрам, про що зазначалося раніше.

Утворення цитоміктичних каналів має два шляхи розвитку. Перший – перетворюються плазмодесми. Другий шлях, коли в процес вступають ферменти *de novo*, які за допомогою свої властивостей розчиняють каллозний шар [18; 21].

У тварин, можна зазначити, також утворюються цитоплазматичні тяжі для перенесення частини органел з цитоплазми. Це забезпечується цитоскелетним механізмом та структурами. Як наслідок, контролює перенесення речовин, що будуть мігрувати по цьому каналу. У рослин же цитоміктичні канали заповнені цитоплазмою, для більш простішого пересування.

У рослин найбільше спостерігається цитоміктична активність, коли можна казати про інтенсивність, у лептотені-зиготені. Після цих стадій, активність зменшується. Це можна пояснити, що утворюються каллозні пробки. Але, канали, при присутності великої кількості пробок, можуть утворюватися заново [22].

По утворенні цитоміктичних каналам, що сполучають клітину-донор та клітину-акцептор мігрують не тільки ядро з генетичним матеріалом. Також, перенесення може відбуватися з органелами, сигнальними молекулами. Ці фактори будуть в подальшому запускати та регулювати клітинний цикл та сегрегацію хромосом у мейотичному поділі [11; 12].

Під час міграції матеріалу з однієї клітини до іншої, присутній так званий цитоплазматичний градієнт. Він спрямовує рух, надає вектор для міграції. Саме так переходять ядра, генетичний

матеріал, що міститься в них, а також органели, частина цитоплазми за необхідності [16].

Це проявляється у вигляді цитоміктичних ланцюгів. Це з'єднання мікроспороцитів, візуальне утворення ядерних мостів, що можна спостерігати при переході хроматину. Під час міграції транзиторий хроматин йде в одному напрямі. Можна спостерігати однотипну асиметрію ядер, що можна побачити ще до настання мейотичного поділу.

Цитоміксіс не тільки процес переміщення ядерного матеріалу. Цей процес можна розглядати як переміщення частини цитоплазми з органелами. Також, під час цієї міграції сигнальні молекули та різноманітні трофічні фактори також покидають клітину-донор. Як наслідок, ми можемо спостерігати регуляторну функцію цитоміксісу та регулювання розвитку клітини.

Існує у рослинній клітині геномна нестабільність. Особливо це притаманне рослинному матеріалу, який містить велику кількість геному, тобто великий та довгий геном. Цитоміксіс може впливати на це явище, адже він впливає на клітинний відбір. Тобто, клітини, у яких, є велика кількість геномного матеріалу можуть піддаватися впливу цитоміксісу.

Цитоміксіс надає можливість здійснювати передачу інформації. Цим самим, процес провокує зміну генеративних клітин. І як ми можемо судити, все це змінює кількість клітинної системи взагалі. А саме: відбувається знищення тих клітин, які не пристосовані, і за рахунок них виживають інші. Тобто, можна припустити, що знищуються надлишкові клітини, які не знадобляться рослинному організму у майбутньому.

Висновки та пропозиції. В результаті проведеного дослідження було встановлено:

- Процес спонтанного цитоміксісу доцільно вивчати на культивованих формах виду *Lilium bulbiferum* L.

- Явище цитоміксісу найчастіше відбувається у першому мейотичному поділі, а саме: у профазі, під час якої, спостерігається міграція хроматину. Міграція хроматину підпадає під генетичну регуляцію [22]. На даний момент не встановлено, які саме гени можуть відповідати за спонтанний цитоміксіс.

- Найбільш чітко спостерігається локальний цитоміксіс, тобто, перехід хроматину в клітину – реципієнт під час мікроспорогенеза.

- Хромосоми, що переходять до суміжної клітини характеризуються транслокаціями. Їх ацентричні фрагменти можуть формувати мікроядра, які скупчуються у групи.

- Під час метафази, метафазна пластинка формується з порушеннями. Цитоміксіс, а саме реципієнтні хромосоми, що потрапили у клітину, блокують розходження хромосом. Це, в свою чергу, може блокувати поділ у клітині. Дане питання потребує подальших досліджень.

Список літератури:

1. Кравец Е.А. Цитоміксіс, его природа, значение и цитологические последствия *Цитология и генетика*. 2012. № 3. С. 75–85.
2. Körnicke M. Über Ortsveränderung von Zellkärnern. *Niederrhein S.B. Ges.Natur. U. Heilk. Bonn*. 1901. № 8. Pp. 14–25.
3. Miede H. Ueber Wanderungen des pflanzlichen-zellkernes. *Flora*. 1901. № 88. Pp. 105–142.
4. Digby L. Observation on «chromatin bodies» and their relation to the nucleolus in *Galtonia candicans* Decsne. *Ann. Bot.* 1909. № 23. Pp. 491–502.

5. Gates R.R. Pollen formation in *Oenotera gigas*. *Ann. Bot.* 1911. № 25. Pp. 909–940.
6. Morisset P. Cytomixis in the pollen mother cells of *Ononis* (Leguminosae). *Can. J. Genet. Cytol.* 1978. № 20. Pp. 383–388.
7. Gates R.R., Rees E.M. A cytological study of pollen development in *Lactuca*. *Ann. Bot.* 1921. № 35. Pp. 365–391.
8. Stern H. The formation of polynucleated pollen mother cells. *J. Hered.* 1946. № 37. Pp. 110–121.
9. Tarkowska J. Cytomixis in the pollen mother cells of the lily – *Lilium candidum* L. *Acta Soc. Bot. Pol.* 1966. № 35. Pp. 25–40.
10. Takats S.T. Chromatin extrusion and DNA transfer during microsporogenesis *Chromosoma*. 1959. № 10. Pp. 430–453.
11. Dagne K. Meiosis in interspecific in *Guizotia* Cass. (Composite). *Hereditas*. 1994. № 121. Pp. 119–129.
12. Guanq-Qin Guo, Guo-Chang Zheng. Hypothesis for functions of intercellular bridges in male germ cell development and its cellular mechanisms. *J. Theor. Biol.* 2004. № 229. Pp. 139–146.
13. Bellucci M., Roscini C., Mariani A. Cytomixis in the Pollen Mother Cells of *Medicago sativa* L. *J. Heredity*. 2003. № 6. Pp. 512–516.
14. Kravets E. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants. *Tsitol Genet.* 2013. № 3. Pp. 75–85.
15. Кравец Е.А. Клеточные и тканевые механизмы восстановительных процессов в вегетативных и генеративных меристемах при воздействии облучения. *Цитология и генетика*. 2009. № 1. С. 11–22.
16. Mursalimov S., Deineko E. An ultrastructural study of cytomixis in tobacco pollen mother cells. *Protoplasma*. 2011. № 4. Pp. 717–724.
17. Kravets E., Yemets A., Blume Y. Cytoskeleton and nucleoskeleton involvement in processes of cytomixis in plants. *Cell Biol Int.* 2017. № 9. Pp. 999–1009.
18. Mursalimov S., Deineko E. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants. *Planta*. 2013. № 3. Pp. 415–423.
19. Kravets E. Cytomixis and its role in the regulation of plant fertility. *Russian Journal of Developmental Biology*. 2013. № 3. Pp. 113–128.
20. Кравец Е.А., Сидорчук Ю.В., Горюнова И.И., Дейнеко Е.В. Внутри- и межтканевые цитомиктические взаимодействия в микроспорогенезе одно- и двудольных растений. *Цитология и генетика*. 2016. № 5. С. 3–16.
21. Kravets E. The role of cell selection for pollen grain fertility after treatment of barley sprouts (*Hordeum distichum* L.) with UV-B irradiation. *Acta Biol. Slov.* 2011. № 54. Pp. 31–41.
22. Mursalimov S., Deineko E. Cytomixis in plants: facts and doubts. *Protoplasma*. 2018. № 3. Pp. 719–731.

References:

1. Kravets, E. (2012). Citomixis, ego priroda, znachenie i citologicheskie posledstviya [Cytomixis, its nature, significance and cytological consequences]. *Citologiya i genetika*, vol. 3, pp. 75–85.
2. Körnicke, M. (1901). Über Ortsveränderung von Zellkärnern. Niederrhein S.B. *Ges. Natur. U. Heilk. Bonn*, vol. 8, pp. 14–25.
3. Miede, H. (1901). Ueber Wanderungen des pflanzlichen-zellkernes. *Flora*, vol. 88, pp. 105–142.
4. Digby, L. (1909). Observation on «chromatin bodies» and their relation to the nucleolus in *Galtonia candicans* Decsne. *Ann. Bot.*, vol. 23, pp. 491–502.
5. Gates, R.R. (1911). Pollen formation in *Oenotera gigas*. *Ann. Bot.*, vol. 25, pp. 909–940.
6. Morisset, P. (1978). Cytomixis in the pollen mother cells of *Ononis* (Leguminosae). *Can. J. Genet. Cytol.*, vol. 20, pp. 383–388.
7. Gates, R.R., & Rees, E.M. (1921). A cytological study of pollen development in *Lactuca*. *Ann. Bot.*, vol. 35, pp. 365–391.
8. Stern, H. (1946). The formation of polynucleated pollen mother cells. *J. Hered.*, vol. 37, pp. 110–121.
9. Tarkowska, J. (1966). Cytomixis in the pollen mother cells of the lily – *Lilium candidum* L. *Acta Soc. Bot. Pol.*, vol. 35, pp. 25–40.
10. Takats, S.T. (1959). Chromatin extrusion and DNA transfer during microsporogenesis. *Chromosoma*, vol. 10, pp. 430–453.
11. Dagne, K. (1994). Meiosis in interspecific in *Guizotia* Cass. (Composite). *Hereditas*, vol. 121, pp. 119–129.
12. Guanq-Qin Guo, Guo-Chang Zheng (2004). Hypothesis for functions of intercellular bridges in male germ cell development and its cellular mechanisms. *J. Theor. Biol.*, vol. 225, pp. 139–146.
13. Bellucci, M., Roscini, C., & Mariani, A. (2003). Cytomixis in the Pollen Mother Cells of *Medicago sativa* L. *J. Heredity*. vol. 6, pp. 512–516.
14. Kravets, E. (2013). New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants. *Tsitol Genet.*, vol. 3, pp. 75–85.
15. Kravets, E. (2009). Kletochnye i tkanevye mehanizmy vosstanovitelnyh processov v vegetativnyh i generativnyh meristemah pri vozdejstvii oblucheniya [Cellular and tissue mechanisms of restoration processes in vegetative and generative meristems when exposed to radiation]. *Citologiya i genetika*, vol. 1, pp. 11–22.
16. Mursalimov, S., & Deineko, E. (2011). An ultrastructural study of cytomixis in tobacco pollen mother cells. *Protoplasma*, vol. 4, pp. 717–724.
17. Kravets, E., Yemets, A., & Blume, Y. (2017). Cytoskeleton and nucleoskeleton involvement in processes of cytomixis in plants. *Cell Biol Int.*, vol. 9, pp. 999–1009.
18. Mursalimov, S., & Deineko, E. (2013). New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants]. *Planta*, vol. 3, pp. 415–423.
19. Kravets, E. (2013). Cytomixis and its role in the regulation of plant fertility. *Russian Journal of Developmental Biology*. vol. 3, pp. 113–128.
20. Kravets, E. A., Sidorchuk, Y., Goryunova, I., & Deineko, E. (2016). [Vnutri- i mezhtkanevye citomikticheskie vzaimodejstviya v mikrosporogeneze odno- i dvudolnyh rastenij]. *Citologiya i genetika*, vol. 5, pp. 3–16.
21. Kravets, E. (2011). The role of cell selection for pollen grain fertility after treatment of barley sprouts (*Hordeum distichum* L.) with UV-B irradiation. *Acta Biol. Slov.*, vol. 54, pp. 31–41.
22. Mursalimov, S., & Deineko, E. (2018). Cytomixis in plants: facts and doubts. *Protoplasma*, vol. 3, pp. 719–731.