

МИГРАЦИЯ ДНК-СОДЕРЖАЩИХ ОРГАНЕЛЛ МЕЖДУ МИКРОСПОРОЦИТАМИ ТАБАКА ПРИ ЦИТОМИКСИСЕ

© 2018 г. С. Р. Мурсалимов*, Ю. В. Сидорчук, А. А. Загорская, Е. В. Дейнеко

*Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН
630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10*

**E-mail: mursalimovsr@gmail.com*

Поступила в редакцию 13.01.2017 г.

Окончательный вариант получен 02.03.2017 г.

Выполнен ультраструктурный анализ межклеточной миграции ДНК-содержащих органелл (ядер, митохондрий и пластид) в микроспорогенезе табака при цитомиксисе. Впервые показано, что мигрирующая часть ядра покрыта рибосомами и может содержать скопления ядерных пор. Впервые доказана возможность миграции митохондрий между клетками растений. Показано, что митохондрии крайне редко переходят в соседние клетки, при этом их перемещение происходит по одному цитомиктическому каналу. В свою очередь, пластиды могут образовывать скопления вокруг цитомиктических каналов и активно мигрируют между клетками, даже через цитомиктические каналы малого размера. Установлено, что пластиды могут переходить в другую клетку по одному или нескольким цитомиктическим каналам, также несколько пластид могут одновременно мигрировать через один канал. Обсуждаются последствия миграции ДНК-содержащих органелл в клетках, продуцирующих пыльцу.

Ключевые слова: цитомиксис, микроспорогенез, цитомиктические каналы, *Nicotiana tabacum*, митохондрии, пластиды

DOI: 10.7868/S0475145018030047

ВВЕДЕНИЕ

Цитомиксис это процесс миграции ядер или их фрагментов, а также других органелл между растительными клетками. Такая миграция становится возможной при образовании межклеточных каналов особого типа – цитомиктических каналов (ЦК), которые значительно превосходят по размеру плазмодесмы. Это явление широко распространено в растительном мире и на сегодняшний день цитомиксис описан у сотен видов растений (см. обзоры Lone, Lone, 2013; Mursalimov et al., 2013). Межклеточная миграция ядер привлекает к себе внимание не только как уникальный клеточный феномен, но и как механизм, который может иметь эволюционное значение, поскольку, чаще всего, такая миграция выявляется в микроспороцитах – клетках, продуцирующих пыльцу и, в дальнейшем, гаметы.

Существует несколько взглядов на причины и последствия миграции ядер между клетками. Часть авторов придерживается мнения, что цитомиксис это процесс, который приводит к селективной гибели клеток (Kravets, 2011; Barton et al., 2014). Другие исследователи склонны рассматривать цитомиксис как нормальную характеристику мейоза, которая встречается у многих (или у всех) видов растений. Сторонники этой точки зрения

предполагают, что миграция ядер или их фрагментов между клетками, продуцирующими пыльцу, не приводит к их гибели или повреждению, а является причиной формирования жизнеспособных нередуцированных или анеуплоидных гамет (Falistocco et al., 1995; Ghaffari, 2006; Negron-Ortiz, 2007; Lavia et al., 2011; Pécricx et al., 2011). Именно эта точка зрения в последние годы получает все больше экспериментальных подтверждений. Было показано, что хроматин мигрирует между клетками окруженной неповрежденной ядерной оболочкой (Mursalimov, Deineko, 2011). Ядро может переходить в реципиентную клетку целиком, образуя двуядерный микроспороцит, или разделяться на несколько частей, образуя в реципиентной клетке одно или несколько микроядер (Farooq et al., 2014). Хроматин не проявляет признаков повреждения в момент миграции по ЦК и после попадания в реципиентную клетку. В клетках, вовлеченных в цитомиксис, не выявляются маркеры программируемой клеточной гибели (ПКГ) (Mursalimov et al. 2015). Также было показано, что у растений, с высокой частотой цитомиксиса в мейозе, обнаруживается определенный процент нередуцированной пыльцы (Falistocco et al., 1995; Ghaffari, 2006; Negron-Ortiz, 2007).

Несмотря на значительный прогресс в изучении цитомиксиса, до сих пор остается много вопросов

о механизмах этого процесса. В первую очередь, возникают вопросы о функциональной активности хроматина, попадающего в другую клетку, и его дальнейшей судьбе. Установлено, что цитомиктичный хроматин не подвергается дополнительной гетерохроматизации и в нем присутствуют нормальные маркеры эухроматина, которые не исчезают после попадания хроматина в другую клетку (Mursalimov et al., 2015), однако неизвестно остается ли мигрирующее ядро функционально активным. Незученным аспектом цитомиксиса также остается межклеточная миграция других компонентов клетки. Известно, что по ЦК могут переходить не только ядра или их фрагменты, но также и другие элементы клетки, такие как цитоплазма, фрагменты цитоскелета, различные везикулы и другие органеллы (Sumner, Remphrey, 2005; Wang et al., 2002, 2004; Wang et al., 2006). Миграция ДНК-содержащих полуавтономных органелл — митохондрий и пластид, привлекает к себе интерес в первую очередь. К настоящему моменту миграция пластид в микроспорогенезе разных видов растений наблюдалась неоднократно (Feijo, Pais, 1989; Polowick, Sawhney, 1992; Sumner, Remphrey, 2005; Wang et al., 2002; Wang et al., 2006), но убедительных доказательств возможности миграции между микроспороцитами митохондрий предоставлено не было. Детальный анализ межклеточной миграции органелл возможен только с помощью электронной микроскопии, кроме того ультраструктурный анализ клеток с цитомиксисом может выявить морфологические особенности ядер, характеризующие их функциональное состояние.

Таким образом, целью данной работы было с помощью ультраструктурного анализа выявить признаки функциональной активности цитомиктичного ядра, установить возможность участия митохондрий в цитомиксисе, изучить ультраструктурные особенности пластид и митохондрий, мигрирующих через ЦК между микроспороцитами табака.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал. В работе была использована линия табака SR1 (*Nicotiana tabacum* L. cv. Petit Havana SR1, $2n=4x=48$). Пыльники для фиксации и последующего анализа собирали с пяти индивидуальных растений. Все растения выращивали в условиях гидропонной теплицы с фотопериодом 16/8 часов (день/ночь) при температуре 22/18°C (день/ночь).

Ультраструктурный анализ. Пыльники табака анализировали с помощью светового микроскопа и среди них отбирали содержащие микроспороциты на нужной стадии мейоза. После чего пыльники нарезали на куски размером 2–3 мм

и фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом (Serva, Германия) в фосфатном буфере (pH 7.2–7.4) в течение 4 часов при комнатной температуре. Затем материал промывали в фосфатном буфере 3 раза по 10 мин, с постфиксацией в 1% растворе тетраоксида осмия (Азурит, Россия) в течение 2 часов при комнатной температуре, и вновь промывали в фосфатном буфере 2 раза по 15 мин. Далее проводили дегидратацию этанолом в возрастающей концентрации. После этого образцы переносили в ацетон на один час и заливали в эпоксидную смолу Аралдит (Fluka, Швейцария).

Ультратонкие срезы толщиной около 80 нм получали на ультрамикротоме Ultracut UCT (Leica, Швейцария), после чего проводили двойное окрашивание цитратом свинца и уранил ацетатом (Serva, Германия). Окрашенные срезы исследовали с помощью просвечивающего электронного микроскопа Jeol JEM-1400 (Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Микроскопирование проводилось на базе группы микроскопических исследований института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Подготовка материала выполнялась на базе центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ультраструктурный анализ микроспороцитов табака проводился в первой профазе мейоза на стадии зиго-пахитены, когда ЦК уже сформированы и частота цитомиксиса максимальна. На рис. 1а представлена общая цитологическая картина миграции ядра между клетками через ЦК (стрелка). Все компоненты ядра (хроматин, ядрышко, ядерный матрикс) перемещаются между клетками, не покидая ядерной оболочки. Находясь внутри ЦК, хроматин испытывает сильное сжатие и выглядит как бесструктурная темная масса, однако после выхода из канала хроматин начинает восстанавливать свою исходную структуру (рис. 1а). Полученная картина совпадает с тем, что было описано для табака ранее и подтверждает гипотезу о сохранности мигрирующего хроматина (Mursalimov, Deineko, 2011). Однако использование больших увеличений позволило выявить новые детали этого процесса. На рис. 1б и 1в представлены фрагменты мигрирующего ядра, которые уже перешли через ЦК и оказались в реципиентной клетке. Отчетливо можно видеть неповрежденную двуслойную ядерную мембрану, которая окружает мигрирующее ядро, после выхода из ЦК. При этом содержимое мигрировавшей части ядра может быть различно. В некоторых случаях в реципиентную клетку переходит только ядерная оболочка без хроматина (рис. 1б). В других случаях мигрирующая

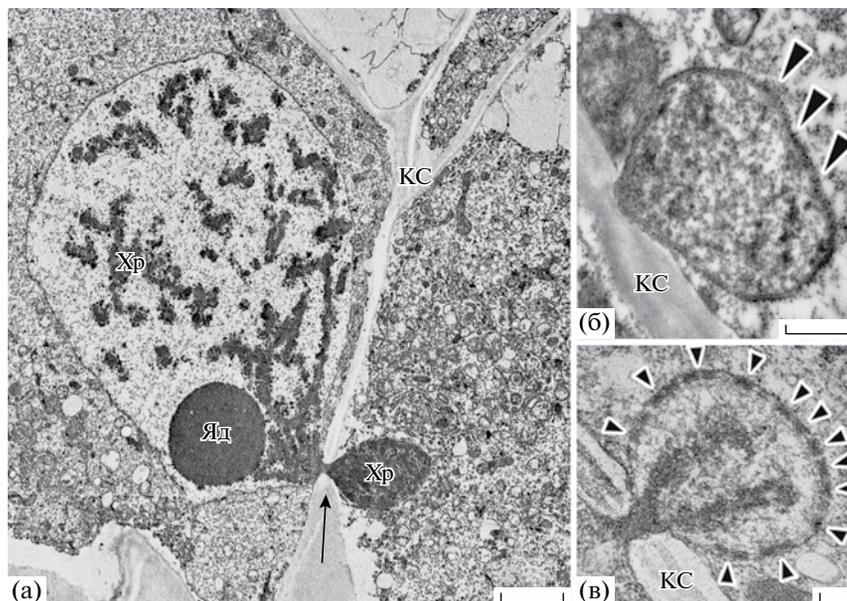


Рис. 1. Миграция ядер между микроспороцитами табака при цитомиксисе, ядра мигрируют слева направо: (а) – общая картина – переход ядра через ЦК (стрелка); (б) – мигрировавшая часть ядра, покрытая рибосомами (треугольные стрелки); (в) – мигрировавшая часть ядра, несущая ядерные поры (треугольные стрелки). Обозначения: Яд – ядрышко, КС – клеточная стенка, Хр – хроматин. Масштабная линейка: (а) – 2 мкм, (б) – 500 нм, (в) – 200 нм.

часть ядра содержит хроматин (рис. 1а, в). Следовательно, можно сделать вывод, что при цитомиксисе через ЦК в первую очередь перетягивается ядерная оболочка, которая затем увлекает за собой все содержимое ядра, в том числе и прикрепленный к ней хроматин. При этом попадание хроматина в мигрирующую часть ядра происходит случайным образом, в зависимости от того, находится ли в этом участке ядра место заякоривания хроматина или нет.

На поверхности мигрировавшего фрагмента ядра можно наблюдать большое количество рибосом (рис. 1б, чёрные точки, отмеченные треугольными стрелками), которые, вероятно, прикрепилась к ядерной оболочке уже после ее попадания в реципиентную клетку. В ряде случаев в мембране мигрировавшего фрагмента ядра выявляется большое количество ядерных пор (рис. 1в), которые являются ключевыми элементами ядерно-цитоплазматического транспорта и участвуют в большинстве синтетических процессов в клетке. Известно, что ядерные поры тесно связаны с белками ламины (ламиноподобными белками в случае растений) и распределяются по поверхности ядра неслучайным образом (Fiserova et al., 2009). Вполне возможно, что выявленное нами скопление (концентрация) ядерных пор в мигрировавшей части ядра также неслучайно, однако, этот вопрос требует дальнейшего исследования.

Таким образом, выявленные нами скопления рибосом на поверхности ядерной мембраны

и ядерных пор в оболочке мигрирующей части ядра, в совокупности с данными о сохранности хроматина, являются косвенными доказательствами функциональной активности ядер, вовлеченных в цитомиксис. Подобные наблюдения сделаны впервые.

Миграция неповрежденного и функционально-активного ядра или его фрагментов между клетками потенциально имеет эволюционное значение, так как может способствовать формированию анеуп-, ди- и полиплоидных гамет (Falistocco et al., 1995; Ghaffari, 2006; Negron-Ortiz, 2007; Lavia et al., 2011; Pécrix et al., 2011). Однако, ядро является не единственной ДНК-содержащей органеллой клетки и межклеточная миграция пластид и митохондрий, также может нести определённые последствия для развивающихся клеток, особенно в том случае, если популяции этих органелл становятся гетерогенными, например, в результате мутаций (Aldridge et al., 2005).

В микроспороцитах табака нам удалось наблюдать миграцию через ЦК митохондрий и пластид. Миграция митохондрий между клетками растений доказана и детально описана впервые (рис. 2а). Следует отметить, что эти события в значительной степени различались как по частоте проявления, так и по ультраструктурной организации самого процесса перемещения. Было показано, что межклеточная миграция митохондрий является крайне редким событием, и, несмотря на тщательный анализ большого количества образцов, нам удалось

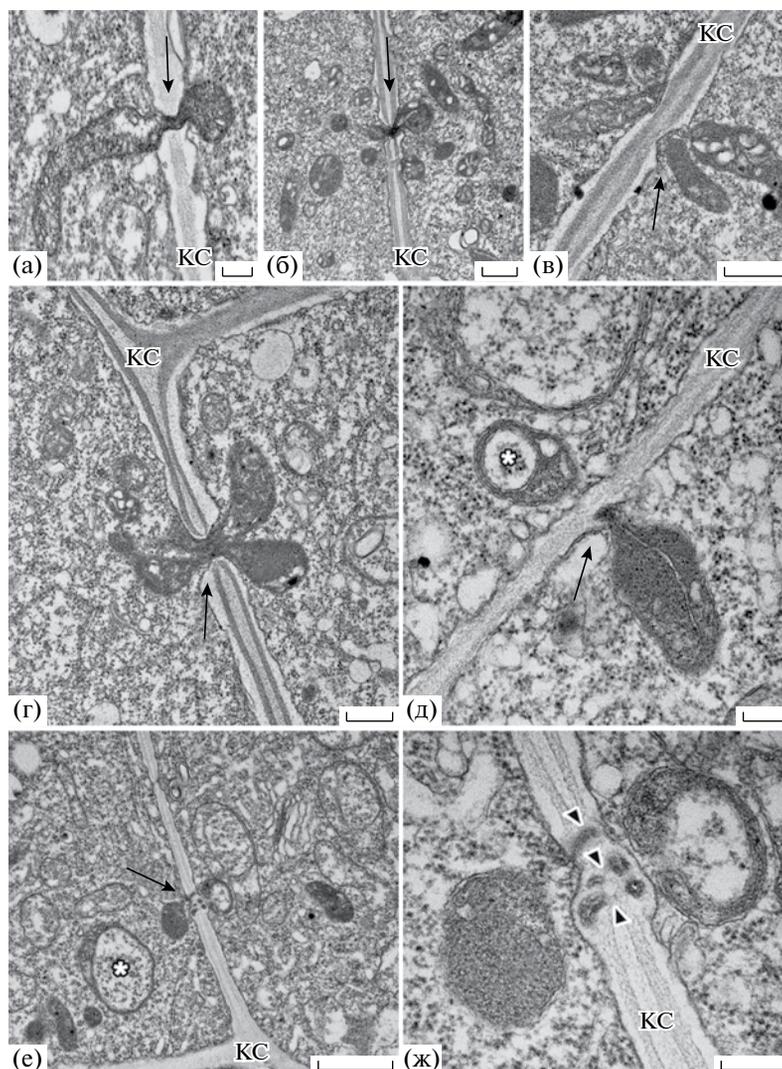


Рис. 2. Митохондрии и пластиды, мигрирующие через ЦК: (а) – митохондрия, переходящая через один ЦК; (б) – миграция единичной пластиды через одиночный ЦК; (в), (г) – миграция двух пластид через один ЦК; (д) – миграция аномальной пластиды через ЦК; (е) – миграция одиночной пластиды через три ЦК одновременно; (ж) – увеличенный фрагмент из (е). Обозначения: стрелками указаны ЦК, КС – клеточная стенка, звездочки – инвагинации пластидных мембран. Масштабная линейка (а), (д), (ж) – 200 нм, (б)–(г) – 500 нм, (е) – 1 мкм.

наблюдать лишь единичные случаи такой миграции. Во всех наблюдаемых случаях одна митохондрия мигрировала только по одному ЦК (рис. 2а). После сжатия в ЦК митохондрии восстанавливают свою исходную структуру в реципиентной клетке без каких-либо видимых изменений или повреждений во внешней и внутренней мембране. В целом митохондрии, вовлеченные в цитомиксис, не имеют видимых отличий от остальных митохондрий микроспороцитов. На данной стадии мейоза для них характерны небольшой размер и слабое развитие внутренней структуры (Polowick, Sawhney, 1992). Нормальная структура митохондрий в клетках с цитомиксисом подтверждает сделанные ранее

выводы об отсутствии маркеров ПКГ (Mursalimov et al., 2015).

В отличие от митохондрий, миграция пластид между микроспороцитами растений ранее была неоднократно описана у разных видов растений, однако детального ультраструктурного анализа этих органелл в ходе процесса межклеточного перемещения сделано не было (Feijo, Pais, 1989; Polowick, Sawhney, 1992; Wang et al., 2006). Кроме того, авторы не всегда верно толковали наблюдаемую картину. Так, например, Ван с коллегами (Wang et al., 2006) ошибочно объясняли нахождение пластид внутри межклеточных каналов не миграцией органелл, а образованием временных мостов между пластидами соседних клеток через

ЦК для “межклеточной коммуникации пластид”. Также авторы полагали, что пластиды не могут мигрировать через ЦК, размер которых не превышает плазмодесмы (10–80 нм) (Wang et al., 2006). Однако, как мы показали ранее, это утверждение также ошибочно – миграция пластид между микроспорами табака возможна при размере каналов 40–50 нм (Mursalimov et al., 2010). Кроме того, ранее предполагалось, что одним из возможных путей появления пластид внутри ЦК может быть заключение органелл в клеточную стенку в момент деления клетки (Wang et al., 2006), что нам также представляется маловероятным.

В нашей работе мигрирующие пластиды выявлялись практически во всех изученных микроспорах табака. Пластиды на изучаемом этапе мейоза малого размера, слабо дифференцированы и не имеют сложной внутренней структуры и включений (Rashid et al., 1982; Polowick, Sawhney, 1992). Весьма интересен тот факт, что в микроспорах табака пластиды часто образуют скопления вблизи ЦК (рис. 2б). При этом их миграция может происходить тремя разными способами: одна органелла переходит через один канал (рис. 2б, 2д), две или более органелл одновременно переходят через один канал (рис. 2в, 2г) и одна органелла переходит в другую клетку сразу по нескольким близкорасположенным каналам (рис. 2е, 2ж). Последний случай следует выделить особо. Наши наблюдения позволяют предположить, что в процессе миграции через несколько ЦК единичная пластида может разделяться на несколько частей, а затем вновь сливаться воедино в реципиентной клетке, что говорит о чрезвычайно высокой пластичности этих органелл. Мы допускаем, что из-за ограничений, накладываемых ультраструктурным анализом, возможна иная интерпретация наблюдаемой картины. Однако, учитывая большое количество проведенных наблюдений, предлагаемая нами версия представляется достаточно убедительной, хоть и отображает необычные, ранее не описанные свойства пластид.

В большинстве случаев видимых повреждений или изменений в структуре мембран пластид в результате межклеточной миграции не обнаруживалось. Однако, в некоторых случаях мы наблюдали миграцию через ЦК аномальных пластид с инвагинациями (рис. 2д). Подобные изменения в структуре пластид обычно являются симптомом их деградации (Parra-Vega et al., 2015). Появление пластид с инвагинациями мембран неоднократно было описано в нормальном мейозе разных видов растений, без связи с цитомиксисом (Rashid et al., 1982; González-Melendi et al., 2008) и, маловероятно, что появление аномальных пластид является следствием сжатия внутри ЦК. По нашему мнению, сначала в пластидах появляются инвагинации, а уже затем они мигрируют через ЦК.

Дальнейшая судьба пластид с инвагинациями известна – инвагинации в мембранах увеличиваются, как показано на рис. 2е (звездочка), что приводит к формированию аутофагических структур на основе пластид, что, однако, не является признаком повреждения клеток или маркером ПКГ (Parra-Vega et al., 2015). Появление подобных структур в ходе нормального мейоза связывают с перестройками в цитоплазме клетки в связи со вступлением в мейоз (Rashid et al., 1982). Интересно отметить, что митохондрии не образуют аномальных структур и, по всей видимости, не участвуют в аутофагических процессах как в мейозе табака, так и у других видов (Parra-Vega et al., 2015). Следует отметить, что никаких морфологических признаков ПКГ (конденсация хроматина, инвагинации ядерной оболочки и т.д.) в клетках с цитомиксисом обнаружено не было.

При изучении микроспорогенеза табака помимо миграции нормальных пластид, китайские ученые также наблюдали миграцию “пластидободобных тел” – темноокрашенных пластид без внутренней структуры (Wang et al., 2006). В нашей работе существование подобных структур в микроспорогенезе табака подтверждено не было.

Таким образом, установлено, что в микроспорогенезе табака миграция митохондрий происходит крайне редко. И, если судить по тому, что нам впервые удалось детально описать этот процесс, это верно и для других видов растений. В тоже время миграция между клетками пластид выявляется часто и это не может быть простой случайностью. Можно предположить два возможных объяснения таким различиям. С одной стороны, пластиды могут быть более мобильны и пластичны, чем митохондрии, что обеспечивает им легкое прохождение через каналы, как, например, было представлено на рис. 2ж, где одна пластида переходит сразу через три канала одновременно. Кроме того, митохондрии могут быть тем или иным образом закорены в цитоплазме, взаимодействуя с элементами цитоскелета или другими компонентами клетки. С другой стороны, можно предположить, что пластиды могут активно и целенаправленно мигрировать между клетками. Однако цель такой миграции определить сложно.

Известно, что даже при однородительском наследовании пластид по женской линии, с небольшой частотой мужские пластиды все же попадают в зиготу (Yu, Russell, 1994; Thyssen et al., 2012a). Однако, чтобы миграция пластид между клетками имела смысл нужно допустить, что микроспора имеет в локуле пыльника неравноценны. Например, часть из них может быть выведена из мейотического деления в результате непрохождения контрольных точек мейоза. В таком случае можно допустить, что питательные вещества и часть

клеточных органелл, в том числе пластиды могут быть перенаправлены в активно развивающиеся клетки, в ущерб поврежденным. Такие возможности предоставляют ЦК, намного превосходящие по размерам плазмодесмы и объединяющие цитоплазматическими мостами большинство микроспороцитов в локуле пыльника (Кравец, 2012, 2013). Однако, в данном случае непонятно, почему митохондрии практически не участвуют в процессах межклеточной миграции и перераспределения. К тому же было показано, что клетки, вовлеченные в цитомиксис, не проявляют признаков повреждения или ПКГ (Mursalimov et al., 2015).

Межклеточную миграцию органелл также удавалось наблюдать не только в тканях развивающегося пыльника, но и в вегетативных органах растений, например, в меристематических клетках (Guzicka, Wozny, 2005). Возможным объяснением присутствия цитомиксиса в вегетативных тканях является реорганизация пластидной популяции клеток. Особенно ярко этот феномен проявляется при срастании гетерогенных тканевых трансплантатов. Показано, что при сращивании трансплантатов табака, несущих разные селективные маркеры в ядерном и хлоропластном геноме, постепенно происходит перенос генетического материала трансплантатов через зону срастания, что проявляется в присутствии в клетках в зоне срастания селективных маркеров обоих типов (Stegemann, Bock, 2009; Thyssen et al., 2012b; Fuentes et al., 2014). Предполагается, что в данном случае между клетками трансплантатов происходит миграция пластидной ДНК, несущей селективные маркеры (Stegemann, Bock, 2009; Thyssen et al., 2012b; Fuentes et al., 2014). Однако авторы этих работ не могут объяснить механизм переноса пластидного генома через плазмодесмы. Опираясь на наши результаты, мы можем обоснованно предполагать, что в зонах срастания трансплантатов образуются ЦК, сходные с тем что мы наблюдаем в развивающемся пыльнике, через которые возможна миграция органелл. То есть, в указанных экспериментах, между клетками трансплантатов происходит перенос не части пластидного генома, а целых пластид с помощью цитомиксиса. Интересно отметить, что в работах по изучению тканевых трансплантатов авторы показали отсутствие или минимальную возможность переноса селективных маркеров, принадлежащих митохондриям (Thyssen et al., 2012b), что совпадает с нашими наблюдениями на микроспороцитах.

Важным вопросом является механизм межклеточной миграции органелл. Маловероятно, что митохондрии и пластиды пассивно перетекают через ЦК, которые меньше их по размеру, тем более это касается ядра. Наиболее вероятно, что

перемещение органелл через ЦК – это активный процесс, осуществляемый с участием цитоскелетных структур. Как известно из данных, представленных в научной литературе, мигрирующее ядро, а также другие органеллы контактируют с большим количеством нитеобразных структур (Zhang et al., 1990), однако идентифицировать их до сих пор не удалось. Анализ динамики тубулинового цитоскелета в мейозе растений табака не выявил участие микротрубочек в цитомиктической миграции ядер (Sidorchuk et al., 2007). В связи с этим, логично предположить, что основную роль в миграции органелл при цитомиксисе играет не тубулиновая, а актиновая часть цитоскелета растительной клетки. В пользу этого предположения свидетельствуют данные о том, что перемещение содержимого клетки по ЦК останавливается в присутствии цитохалазина В, который препятствует росту актиновых микрофиламентов (Zhang et al., 1985). Однако прямых доказательств участия актинового цитоскелета в цитомиксисе до сих пор нет, в первую очередь, из-за его высокой нестабильности и, связанной с этим, сложностью визуализации актинового цитоскелета в микроспороцитах растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно данным электронной микроскопии ядро, мигрирующее через ЦК, не проявляет каких-либо видимых признаков повреждения. В реципиентной клетке ядерная оболочка мигрирующего ядра покрыта рибосомами и может содержать участки скопления ядерных пор. Эти наблюдения свидетельствуют в пользу сохранности функциональной активности ядра в ходе цитомиксиса. Впервые доказана и детально описана миграция митохондрий по ЦК между растительными клетками. Показано, что пластиды могут образовывать скопления вокруг ЦК и активно мигрируют между клетками, даже через ЦК малого размера. Выявлена способность нескольких пластид мигрировать одновременно через один ЦК, а также возможность одной пластиды мигрировать через несколько ЦК. Не выявлено каких-либо признаков повреждения митохондрий и пластид в момент миграции по ЦК и после попадания в реципиентную клетку. Полученные данные подтверждают идею о том, что цитомиксис это нормальный клеточный процесс, который может приводить к изменению генетического статуса вовлеченных в этот процесс клеток.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 16-34-60007-мол_а_дк, а также частично поддержана Проектом Сибирского Отделения Российской Академии Наук Молекулярно-генетические основы регуляции экспрессии генов, морфологии, дифференцировки и перепрограммирования клеток (№ 0324-2018-0019).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aldridge C., Maple J., Moller S.G. The molecular biology of plastid division in higher plants // J. Exp. Bot. 2005. V. 56. № 414. P. 1061–1077.
- Barton D.A., Cantrill L.C., Law A.M.K. et al. Chilling to zero degrees disrupts pollen formation but not meiotic microtubule arrays in *Triticum aestivum* L. // Plant. Cell Environ. 2014. V. 37. № 12. P. 2781–2794.
- Falisticco E., Tosti N., Falcinelli M. Cytomixis in pollen mother cells of diploid *Dactylis*, one of the origins of 2n gametes // J. Hered. 1995. V. 86. P. 448–453.
- Farooq U., Lovleen, Saggo M.I.S. Male meiosis and behaviour of sex chromosomes in different populations of *Rumex acetosa* L. from the Western Himalayas, India // Plant Syst Evol. 2014. V. 300. № 2. P. 287–294.
- Feijo J.A., Pais M.S. Cytomixis in meiosis during the microsporogenesis of *Ophrys lutea*: an ultrastructural study // Caryologia. 1989. V. 42. P. 37–48.
- Fiserova J., Kiseleva E., Goldberg M.W. Nuclear envelope and nuclear pore complex structure and organization in tobacco BY-2 cells. // Plant J. 2009. V. 59. P. 243–255.
- Fuentes I., Stegemann S., Golczyk H. et al. Horizontal genome transfer as an asexual path to the formation of new species. // Nature. 2014. V. 511. P. 232–235.
- Ghaffari S.M. Occurrence of diploid and polyploid microspores in *Sorghum bicolor* (Poaceae) is the result of cytomixis // Afr. J. Biotech. 2006. V. 5. P. 1450–1453.
- González-Melendi P., Uyttewaal M., Morcillo C.N. et al. A light and electron microscopy analysis of the events leading to male sterility in Ogu-INRA CMS of rapeseed (*Brassica napus*) // J. Exp. Bot. 2008. V. 59. № 4. P. 827–838.
- Guzicka M., Wozny A. Cytomixis in shoot apex of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] // Trees. 2005. V. 18. P. 722–724.
- 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. V. 54. P. 31–41.
- Kravets E. Nature, significance, and cytological consequences of cytomixis // Cytol. Genet. 2012 V. 46. P. 188–195.
- Kravets E. Cytomixis and its role in the regulation of plant fertility // Russ. J. Devel. Biol. 2013, V. 44 P. 113–128.
- Lavia G.I., Ortiz A.M., Robledo G. et al. Origin of triploid *Arachis pintoi* (Leguminosae) by autopolyploidy evidenced by FISH and meiotic behaviour // Ann Bot. 2011. V. 108. P. 103–111.
- Lone A., Lone S. Cytomixis – a well known but less understood phenomenon in plants // Int. J. Recent Sci. Res. 2013. V. 4. P. 347–352.
- Mursalimov S., Permyakova N., Deineko E. et al. Cytomixis doesn't induce obvious changes in chromatin modifications and programmed cell death in tobacco male meiocytes // Front. Plant Sci. 2015. V. 6. № 846. P. 1–13.
- Mursalimov S.R., Baiborodin S.I., Sidorchuk Y.V. et al. Characteristics of the cytomictic channel formation in *Nicotiana tabacum* L. pollen mother cells // Cytol Genet. 2010. V. 44. P. 14–18.
- Mursalimov S.R., Deineko E.V. An ultrastructural study of cytomixis in tobacco pollen mother cells // Protoplasma. 2011. V. 248. № 4. P. 717–724.
- Mursalimov S.R., Sidorchuk Y.V., Deineko E.V. New insights into cytomixis: specific cellular features and prevalence in higher plants. // Planta. 2013. V. 238. № 3. P. 415–423.
- Negron-Ortiz V. Chromosome numbers, nuclear dna content, and polyploidy in *Consolea* (Cactaceae), an endemic cactus of the Caribbean Islands // Am.J. Bot. 2007. V. 94. P. 1360–1370.
- Parra-Vega V., Corral-Martínez P., Rivas-Sendra A. et al. Formation and excretion of autophagic plastids (plastolysomes) in *Brassica napus* embryogenic microspores // Front. Plant Sci. 2015. V. 6. № 94.
- Pécricx Y., Rallo G., Folzer H. et al. Polyploidization mechanisms: temperature environment can induce diploid gamete formation in *Rosa* sp. // J. Exp. Bot. 2011. V. 62. № 10. P. 3587–3597.
- Polowick P.L., Sawhney V.K. Ultrastructural changes in the cell wall, nucleus and cytoplasm of pollen mother cells during meiotic prophase I in *Lycopersicon esculentum* (Mill.) // Protoplasma. 1992. V. 169. № 3. P. 139–147.
- Rashid A., Siddiqui A., Reinert J. Subcellular aspects of differentiation of microspore mother cells of *Nicotiana tabacum* // Protoplasma. 1982. V. 113. P. 80–84.
- Sidorchuk Y.V., Deineko E.V., Shumny V.K. Role of microtubular cytoskeleton and callose walls in the manifestation of cytomixis in pollen mother cells of tobacco *Nicotiana tabacum* L. // Cell Tissue Biol. 2007. V. 1. P. 577–581.
- Stegemann S., Bock R. Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts // Science. 2009. V. 324. P. 649–651.
- Sumner M.J., Remphrey W.R. Microsporogenesis in *Amelanchier alnifolia*: sporogenous cells, microsporocytes, and tetrads // Can. J. Bot. 2005. V. 83. P. 1106–1116.
- Thyssen G., Svab Z., Maliga P. Cell-to-cell movement of plastids in plants // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012b. V. 109. P. 2439–2443.
- Thyssen G., Svab Z., Maliga P. Exceptional inheritance of plastids via pollen in *Nicotiana sylvestris* with no detectable paternal mitochondrial DNA in the progeny // Plant J. 2012a. V. 72. № 1. P. 84–88.
- Wang C.Y., Li X., Wu Q.F. et al. Cytoplasmic channels and their association with plastids in male meiocytes of tobacco, onion and lily // Cell Biol. Int. 2006. V. 30. P. 406–411.
- Wang X.Y., Nie X.W., Guo G.Q. et al. Ultrastructural characterization of the cytoplasmic channel formation between pollen mother cells of David lily // Caryologia. 2002. V. 55. P. 161–169.
- Wang X.Y., Yu C.H., Li X. et al. Ultrastructural aspects and possible origin of cytoplasmic channels providing

- intercellular connection in vegetative tissues of anthers // Russ. J. Plant Physiol. 2004. V. 51. P. 110–120.
- Yu H.S., Russell S.D.* Populations of plastids and mitochondria during male reproductive cell maturation in *Nicotiana tabacum* L.: A cytological basis for occasional biparental inheritance // Planta. 1994. V. 193. № 1. P. 115–122.
- Zhang W.C., Yan W.M., Lou C.H.* Intercellular movement of protoplasm in vivo in developing endosperm of wheat caryopses // Protoplasma. 1990. V. 153. P. 193–203.
- Zhang W.C., Yan W.M., Lou C.H.* Mechanism of intercellular movement of protoplasm in wheat nucellus // Sci China. 1985. V. 28. P. 1175–1183.

Migration of DNA-Containing Organelles between Tobacco Microsporocytes during Cytomixis

S. R. Mursalimov*, Yu. V. Sidorchuk, A. A. Zagorskaya, and E. V. Deineko

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

**e-mail: mursalimovsr@gmail.com*

Received January 13, 2017; in final form, March 2, 2017

Ultrastructural analysis of intercellular migration of DNA-containing organelles (nuclei, mitochondria, and plastids) in tobacco microsporogenesis during cytomixis was conducted. It was demonstrated for the first time that the migrating part of the nucleus is covered with ribosomes and can contain the accumulation of nuclear pores. The possibility of mitochondrial migration between the plant cells was proven for the first time. It was demonstrated that mitochondria extremely rarely pass into neighboring cells, and their movement occurs through one cytomictic channel. In turn, plastids can generate the accumulations around cytomictic channels and actively migrate between the cells, even through small size cytomictic channels. It was established that plastids can pass into another cell through one or several cytomictic channels, and several plastids can also simultaneously migrate through one channel. The consequences of migration of DNA-containing organelles in the cells producing the pollen are discussed.

Keywords: cytomixis, microsporogenesis, cytomictic channels, *Nicotiana tabacum*, mitochondria, plastids