

УДК 633.11: 575.222.73: 576.354.4

О. Л. Січняк, канд. біол. наук, доц.Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,

Шампанський пров. 2, Одеса, 65058, Україна, e-mail: sechnyak@ukr.net

**ОСОБЛИВОСТІ МІКРОСПОРОГЕНЕЗУ ЗА ГІБРИДИЗАЦІЇ ПШЕНИЦІ
І *AEGILOPS TRIUNCIALIS* L.**

За гібридизації твердої пшениці і *Ae. triuncialis* відбувається гомеологічна кон'югація хромосом егілопсу і пшениці. На цей процес впливає генотип пшениці. Цитоплазма *Ae. triuncialis* слабкою мірою здатна індукувати гомеологічну кон'югацію хромосом. У нащадків від беккросування гібридів твердою пшеницею виявлена аномальна кількість хромосом.

Ключові слова: тверда пшениця, *Ae. triuncialis*, віддалена гібридизація, мейоз, гомеологічна кон'югація.

Хвороби групи кореневих гнилей (фузаріози, церкоспорельози, офіобольоз) на сьогоднішній день є дуже шкідливими захворюваннями. В окремі роки вони можуть викликати втрату до 80% врожаю [1]. Тому пошук донорів стійкості до цих захворювань займає важливе місце в створенні вихідного матеріалу для селекції пшениці. Одним із можливих джерел стійкості до цієї групи захворювань є *Ae. triuncialis*. За даними різних авторів, від 5% до 57% зразків *Ae. triuncialis* з колекції ВІРу виявилися цілком імунними чи слабо уражені комплексом збудників кореневої гнилі (*Fusarium culmorum* Sacc., *F. gramineum* Shwabe, *Ophiobolus graminis* Sacc.) [2, 3]. Істотною перешкодою для мобілізації генетичних ресурсів диких родичів є цитогенетичний дисбаланс гібридів, пов'язаний з порушенням нормальної кон'югації хромосом і їхнього розподілу. Тому дуже важливим є дослідження особливостей цитогенетичних процесів у зазначених міжродових гібридів.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень служили гібриди F_1 пшениць *Triticum turgidum* cv. Новинка 3 і *T. durum* cv. Корал Одеський з *Ae. triuncialis*, а також BC_1 на основі гібридів $4x$ пшениця \times *Ae. triuncialis* і *Ae. triuncialis* \times $4x$ пшениця (рекурентний батько – пшениця $4x$ та $6x$).

Для вивчення мейозу колосся на відповідній стадії розвитку фіксували за Карнуа (6 : 3 : 1) та забарвлювали 2% ацетокарміном [4]. У материнських клітинах пилку (МКП) враховували рівень кон'югації хромосом, виражений у середній кількості хіазм на одну хромосому, а також характер кон'югації хромосом, тобто кількість різних мейотичних фігур (відкритих та закритих бівалентів, унівалентів та мультівалентів), яка спостерігалася в середньому в одному МКП. На стадії тетрад мікроспор враховували мейотичний індекс (відсоток нормальних тетрад), а також частку різних типів аномалій. Статистичну обробку провадили з використанням критерію Стьюдента [5].

Результати і обговорення

Дослідження мейозу показали, що гібриди F_1 від прямих і зворотних схрещувань істотно не відрізнялися за рівнем кон'югації, що складав $0,10 \pm 0,01$ хіазм на хромосому (табл. 1). Однак вони вірогідно ($P < 0,05$) відрізнялися за характером кон'югації. У прямому схрещуванні кон'югучі хромосоми утворювали переважно відкриті біваленти, в той час як за зворотних схрещувань істотний внесок у рівень кон'югації вносили закриті біваленти і мультіваленти. Відмінності в залежності від виду та сорту використаної в схрещуваннях пшениці були несуттєвими, однак у гібридів пшениці Корал Одеський спостерігалось набагато більше закритих бівалентів, що відбилося в дещо більшому рівні кон'югації. Наведені дані не дають змоги зробити впевнений висновок щодо походження мейотичних фігур, зокрема чи утворені біваленти та мультіваленти лише хромосомами пшениці, чи є міжродові асоціації хромосом. Кількість хромосом у всіх гібридів відповідала теоретично очікуваній величині – 28 хромосом.

Таблиця 1

Характер і рівень кон'югації хромосом у гібридів між твердою пшеницею і *Ae. triuncialis* L.

Гібридна комбінація	Вивчено МКП	Середня кількість на МКП				Середнє число хіазм на хромосому
		унівалентів	бівалентів	відкритих бівалентів	мультівалентів	
Новинка 3 х <i>Ae. triuncialis</i>	165	22,3±0,3	2,6±0,2	2,6±0,2	0,08±0,03	0,10±0,004
<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3	386	23,3±0,1	2,3±0,1	2,1±0,1	0,10±0,02	0,10±0,002
<i>Ae. triuncialis</i> х Корал Одеський	124	23,8±0,3	2,3±0,1	1,4±0,1	0,12±0,04	0,12±0,005

Примітка: тут і в тексті МКП – материнські клітини пилку.

Мейотичний індекс у досліджуваних гібридів пшениці Новинка 3 складав 13,8–22,2%, за прямих схрещувань він був достовірно ($P < 0,01$) нижчим (табл. 2). У гібриду *Ae. triuncialis* і пшениці Корал Одеський мейотичний індекс був суттєво нижчим. Основну частку дефектних продуктів мейозу склали тетради з мікроядрами. Спостерігалася несподівано висока кількість тетрад з мостами (19,0–25,9%). Цей показник дає змогу впевнено стверджувати, що серед хромосомних асоціацій, які спостерігалися в метафазі I мейозу, істотну частку склали асоціації між хромосомами пшениці та егілопсу. Крім того, привертає увагу відносно висока частка поліад серед продуктів мейозу в гібридних комбінаціях, де за материнську форму використовували егілопс. Це свідчить про наявність конкурентних взаємовідносин між клітинними центрами егілопсу і пшениці, які виникають за дії плазмону егілопсу. В зворотному схрещуванні подібних взаємовідносин не виникає. Цілком ймовірно, що у пшеничній цитоплазмі егілопсний клітинний центр інактивується і функціонує лише пшеничний.

Аналіз мейотичних конфігурацій у гібридів (*Ae. triuncialis* × 4х пшениця) × 4х пшениця показав, що гібридна популяція розподілилася на 2 групи. У рослин першої групи МКП містили переважно 48 хромосом, а у рослин другої групи – 54 – 56 хромосом. В останній групі спостерігали майже вдвічі вищу частоту мультівалентів (табл. 3) і за рахунок цього істотно більший рівень кон'югації ($0,77 \pm 0,01$ хіазм на хромосому проти $0,40 \pm 0,01$ у 48-хромосомних рослин).

Таблиця 2

Частота нормальних і дефектних продуктів мейозу у гібридів між твердою пшеницею і *Ae. triuncialis* L.

Гібридна комбінація	Вивчено тетрад	Нормальних тетрад	Тетрад з мікроядрами	Поліад	Тетрад з мостами	Нетипових тетрад
Новинка 3 х <i>Ae. triuncialis</i>	185	13,5±2,5	57,8±3,6	1,1±0,8	25,9±3,2	1,6±0,9
<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3	1703	22,2±1,0	51,1±1,2	7,1±0,6	19,0±1,0	0,5±0,2
<i>Ae. triuncialis</i> х Корал Од.	294	7,8±1,6	64,3±2,8	7,1±1,5	20,4±2,4	0,3±0,3

Таблиця 3

Характер і рівень кон'югації хромосом в генерації ВС₁ гібридів між твердою пшеницею і *Ae. triuncialis* L. за беккросування твердою і м'якою пшеницею

Гібридна комбінація	Вивчено МКП	Середня кількість на МКП				Середнє число хіазм на хромосому
		унівалентів	бівалентів	відкритих бівалентів	мультивалентів	
(Новинка 3 х <i>Ae. triuncialis</i>) х Новинка 3	125	28,7±0,9	12,3±0,4	5,5±0,3	0,08±0,03	0,64±0,008
(<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3) х Новинка 3*	101	23,1±0,4	11,5±0,2	4,9±0,2	0,31±0,05	0,40±0,007
(<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3) х Новинка 3**	192	5,2±0,3	23,5±0,2	6,4±0,2	0,58±0,05	0,77±0,006
(<i>Ae. triuncialis</i> х Корал Одеський) х Корал Од.	98	21,7±0,5	11,6±0,2	4,3±0,2	0,89±0,09	0,43±0,009
(<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3) х Одеська 267***	50	20,5±0,5	9,9±0,2	4,5±0,3	0,22±0,06	0,38±0,01
(<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3) х Одеська 267****	51	19,5±0,6	15,1±0,3	5,3±0,3	0,27±0,06	0,50±0,01
(<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3) х Альбатрос Одеський	50	22,7±0,6	12,3±0,3	5,3±0,3	0,30±0,07	0,41±0,009
(<i>Ae. triuncialis</i> х Корал Одеський) х Одеська 267	50	22,2±0,5	12,0±0,3	4,5±0,2	0,40±0,09	0,43±0,01
(<i>Ae. triuncialis</i> х Корал Од.) х Альбатрос Од.	50	23,1±0,6	10,3±0,3	4,9±0,3	0,68±0,10	0,37±0,01
(<i>Ae. triuncialis</i> х Харківська 1) х Одеська 267	50	21,6±0,5	12,1±0,3	6,5±0,3	0,64±0,11	0,40±0,009
(<i>Ae. triuncialis</i> х Харківська 1) х Альбатрос Од.	49	23,2±0,5	9,6±0,3	4,0±0,3	0,53±0,09	0,37±0,01

Примітка: * — 48 хромосомні рослини; ** — 56 хромосомні рослини; *** — 41 хромосомні рослини; **** — 51 хромосомні рослини.

Виявлено вплив цитоплазми на характер і рівень кон'югації хромосом. У гібридів (Новинка 3 × *Ae. triuncialis*) × Новинка 3 бівалентна кон'югація хромосом виявилася істотно порушеною: у 56 хромосомних МКП співвідношення між бі-, уні- та мультивалентами складало $12,3_{II} + 28,7_I + 0,64_M$, а рівень кон'югації склав 0,37 хіазм на хромосому. В той же час у гібридів (*Ae. triuncialis* × Новин-

ка 3) × Новинка 3 у 54 - 56 хромосомних МКП зазначене співвідношення було $23,5_{11} + 5,2_1 + 0,58_M$, що відповідає рівню кон'югації 0,77 хіазм на хромосому. Імовірно, плазмон *Ae. triuncialis* здатний певною мірою індукувати гомеологічну кон'югацію хромосом.

Нашадки від беккросу егілопсно-пшеничних гібридів м'якою пшеницею мали, як правило, меншу кількість хромосом, ніж насадки від беккросування твердою пшеницею. Згідно теоретичних розрахунків кількість хромосом в BC_1 наступна. Реституційна яйцеклітина егілопсно-пшеничного гібриду, здатна до запліднення, містить 28 хромосом, або має невеликий ступінь гіпоанеуплоїдії. Спермії твердої пшениці несуть 14 хромосом, м'якої пшениці – 21 хромосому. Таким чином BC_1 (егілопс × 4х пшениця) × 4х пшениця мають містити 42 хромосоми, чи можуть бути гіпоанеуплоїдами з числом хромосом, близьким до 42. Нашадки BC_1 (егілопс × 4х пшениця) × 6х пшениця мають містити 49 хромосом, або можуть бути гіпоанеуплоїдами з числом хромосом, близьким до 49. Нашадки від беккросу м'якою пшеницею цілком відповідають цій моделі. Нашадки від беккросу твердою пшеницею мають суттєве збільшення кількості хромосом — до 52–56. Можливо, аномальна кількість хромосом у насадків BC_1 від беккросування твердою пшеницею обумовлена особливостями протікання мегаспорогенезу. Зокрема, у віддалених гібридів пшениці добре відоме явище цитоміксису, за рахунок якого у спороцити можуть потрапляти додаткові хромосоми [6]. Збільшення кількості хромосом може бути наслідком асиметричних премейотичних мітозів. Крім того, можна було б припустити запліднення яйцеклітини двома сперміями, але характер кон'югації хромосом вказує, що це мало ймовірно, оскільки відбувалася переважно бівалентна кон'югація хромосом.

За беккросів м'якою пшеницею спостерігався вплив пшеничного генотипу на рівень кон'югації хромосом. Нашадки від запилення пшеницею Одеська 267 мали вірогідно ($P < 0,01$) вищий рівень кон'югації, ніж у насадків від беккросів пшеницею Альбатрос Одеський.

Слід зазначити, що в обох групах беккросних насадків — від беккросування твердою і м'якою пшеницями — виявився вплив пшеничного генотипу, який брав участь в первинному схрещуванні, на частоту утворення мультивалентів. Гібриди з участю пшениці Корал Одеський мали більшу частоту мультивалентів, ніж гібриди з участю пшениці Новинка 3. Частота мультивалентів у гібридів пшениці Харківська 1 залежала від рекурентного батька. В сполученні з пшеницею Одеська 267 ці гібриди дещо переважали гібриди з участю Коралу Одеського за частотою мультивалентів, а в сполученні з Альбатросом Одеським виявляли тенденцію до зниження цього показника. Визначитися, чи є ці відмінності сортовими, важко, оскільки Корал Одеський і Харківська 1 відносяться до виду *T. durum* Desf., а Новинка 3 — до виду *T. turgidum* L. Тому більш вірогідно, що ці відмінності видові. Однак незалежно від цього, форми з більшою частотою мультивалентів, дуже вірогідно, є носіями хромосом з міжгеномними (міжродовими) обмінами.

Мейотичний індекс в BC_1 істотно не змінився (табл. 4). У насадків на основі гібридів прямого схрещування він був, як і раніше, нижчим ($P < 0,01$), ніж у насадків на основі зворотного схрещування. Виключення склали 48-хромосомні рослини (*Ae. triuncialis* × Новинка 3) × Новинка 3, BC_1 , які мали меншу частку нормальних тетрад, ніж насадки від прямого схрещування.

Слід зазначити дуже високу частку поліад у насадків за беккросування пшеницею, за виключенням 56-хромосомних рослин. Частота поліад, на відміну від першого покоління, від напрямку схрещування не залежала.

Частка тетрад з мостами у більшості форм коливалась у межах 1,0–9,7%, що менше, ніж у гібридів F_1 . Однак дані цифри свідчать про наявність хромосом з перебудовами внаслідок гомеологічної кон'югації, у тому числі між хромосомами пшениці та егілопсу, у гібридів BC_1 .

Таблиця 4

Частота нормальних і дефектних продуктів мейозу у гібридів між твердою пшеницею і *Ae. triuncialis* L. за беккросування твердою і м'якою пшеницею

Гібридна комбінація	Вивчено тетрад	Нормальних тетрад	Тетрад з мікроядрами	Поліад	Тетрад з мостами	Нетипових тетрад
(Новинка 3 х <i>Ae. triuncialis</i>) х Новинка 3	240	12,1±0,8	20,0±2,6	66,7±3,0	1,3±0,7	—
(<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3) х Новинка 3*	473	10,1±1,4	39,1±2,2	38,9±2,2	9,7±1,4	2,1±0,7
(<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3) х Новинка 3**	609	28,9±1,8	69,8±1,9	0,8±0,4	0,2±0,2	0,3±0,2
(<i>Ae. triuncialis</i> х Корал Одеський) х Корал Од.	402	2,2±0,7	81,1±2,2	15,2±1,8	1,0±0,5	0,5±0,4
(<i>Ae. triuncialis</i> х Новинка 3) х Одеська 267***	365	11,0±1,6	23,8±2,2	63,0±2,5	1,9±0,7	0,3±0,3
(<i>Ae. triuncialis</i> х Корал Одеський) х Одеська 267	252	6,7±1,6	85,3±2,2	2,8±1,0	4,0±1,2	1,2±0,4
(<i>Ae. triuncialis</i> х Корал Од.) х Альбатрос Од.	154	5,0±1,8	78,6±3,3	6,5±2,0	9,1±2,3	0,6±0,6
(<i>Ae. triuncialis</i> х Харківська 1) х Одеська 267	210	6,7±1,7	91,0±2,0	1,0±0,7	1,0±0,7	0,5±0,5
(<i>Ae. triuncialis</i> х Харківська 1) х Альбатрос Од.	194	2,1±1,0	93,3±1,8	4,1±1,4	—	0,5±0,5

Примітка: * — 48 хромосомні рослини; ** — 56 хромосомні рослини; *** — дані по 41 хромосомним і 51 хромосомним рослинам об'єднані, оскільки вони суттєво не відрізнялися.

Таким чином, при гібридизації *Ae. triuncialis* з твердою пшеницею відбувається гомеологічна кон'югація хромосом егілопсу і пшениці. На цей процес впливає генотип пшениці. Цитоплазма *Ae. triuncialis* слабкою мірою здатна індукувати таку кон'югацію. Виявлено феномен аномальної кількості хромосом у нащадків від беккросування твердою пшеницею. Найбільш імовірно, це явище пов'язане з порушенням функціонування веретена поділу, про що свідчить дуже висока частка поліад у таких рослин.

Висновки

1. При гібридизації *Ae. triuncialis* з твердою пшеницею відбувається гомеологічна кон'югація хромосом егілопсу і пшениці. На цей процес впливає генотип пшениці.

2. Цитоплазма *Ae. triuncialis* здатна слабо індукувати гомеологічну кон'югацію хромосом.

3. За гібридизації *Ae. triuncialis* з твердою пшеницею виявлена аномальна кількість хромосом у нащадків від беккросування твердою пшеницею.

Література

1. Ямалеев А. М., Долотовский И. М., Исаев Р. Ф. Устойчивость разных видов эгилопса к корневым гнилям // Селекция и семеноводство. – 1990. – № 6. – С. 29–30.
2. Пшеница / Животков Л. А., Бирюков С. В., Степаненко А. Я. и др. / Под ред. Л. А. Животкова. – К.: Урожай, 1989. – С. 107.
3. Удачин Р. А., Шахмедов И. Ш., Юсупбаева Р. С. Оценка коллекции *Aegilops* L. на устойчивость к корневым гнилям в условиях орошения Средней Азии // НТБ ВНИИ растениевод. им. Н. И. Вавилова. – 1988. – Вып. 177. – С. 62–64.
4. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
5. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. – Минск: Вышэйшая школа, 1973. – 320 с.
6. Ригин Б. В., Орлова И. Н. Пшенично-ржаные амфидиплоиды. – Л.: Колос, 1977. – 279 с.

А. Л. Сечняк

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
Шампанский пер. 2, Одесса, 65058, Украина,
e-mail: sechnyak@ukr.net

ОСОБЕННОСТИ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА ПРИ ГИБРИДИЗАЦИИ ПШЕНИЦЫ И *AEGILOPS TRIUNCIALIS* L.

Резюме

При гибридизации твердой пшеницы и *Ae. triuncialis* происходит гомеологичная кон'югация хромосом эгилопса и пшеницы. На этот процесс влияет генотип пшеницы. Цитоплазма *Ae. triuncialis* способна в слабой степени индуцировать гомеологичную кон'югацию хромосом. У потомков от беккроссирования гибридов твердой пшеницей выявлено аномальное количество хромосом.

Ключевые слова: твердая пшеница, *Ae. triuncialis*, отдаленная гибридизация, мейоз, гомеологичная кон'югация.

A. L. Sechnyak

Odessa National University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St. 2, Odessa, 65082, Ukraine e-mail: sechnyak@ukr.net

**THE FEATURES OF MICROSPOROGENESIS AT HYBRIDIZATION OF WHEAT WITH
AEGILOPS TRIUNCIALIS L.**

Summary

At hybridization of durum wheat and *Ae. triuncialis* homoeologous pairing of aegilops and wheat chromosomes occurs. The wheat genotype has an influence upon this process. Cytoplasm *Ae. triuncialis* is capable to induce in a slight degree the homoeologous pairing of chromosomes. Anomalous amount of chromosomes are revealed at progenies from hybrids backcrossing of durum wheat.

Key words: durum wheat, *Ae. triuncialis*, meiosis, wide crosses, pairing homeology.