

УДК 631.527.5

Тамара ЭННО*, Хильма ПЕУША*

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МЕЙОЗА У МЕЖРОДОВОГО ГИБРИДА F₁

TRITICUM AESTIVUM L. × *AEGILOPS CYLINDRICA* L.

Виды злаков, родственные пшенице, в том числе виды рода *Aegilops*, используются в отдаленных скрещиваниях и в селекции злаков для передачи возделываемым сортам мягкой пшеницы от эгилопса ценных хозяйственных свойств и признаков, таких как морозостойкость, устойчивость к болезням и вредителям и т. д., а также для изучения особенностей межгеномных взаимодействий и генетики систем воспроизведения. Однако примеры реального успеха в селекционном использовании видов эгилопса при создании новых форм и сортов мягкой пшеницы весьма ограничены. В значительной степени это обусловлено различиями в структуре и функциях хромосом скрещиваемых видов, что осложняет и затрудняет получение межвидовых гибридов и выделение ценных в селекционном отношении форм в результате интрогрессии.

Высказываются предположения о том, что виды эгилопса принимали участие в формировании возделываемых видов тетраплоидных и гексаплоидных пшениц. Имеются также данные о том, что в настоящее время интрогрессивные гибридизационные процессы могут происходить между видами пшеницы и эгилопса при совместном их произрастании (Гандилян, Мирзоян, 1985). П. А. Гандилян с сотрудниками в потомстве от скрещивания вида *Aegilops cylindrica* с сортами мягкой пшеницы был выделен целый ряд константных промежуточных форм и гибридов преимущественно пшеничного типа с отдельными свойствами и признаками эгилопса.

К настоящему времени созданы дополненные и замещенные линии мягкой пшеницы, у которых к 42-хромосомному набору добавлены чужеродные хромосомы видов эгилопса *Ae. umbellulata*, *Ae. variabilis*, *Ae. caudata*, *Ae. comosa*, *Ae. longissima* и др., или же отдельные хромосомы пшеницы замещены хромосомами эгилопса (Sears, 1961; Kimber, 1967; Riley et al., 1968; Jahier, Lucas, 1987; Blanco и др., 1987; Miller и др., 1987; Zeller и др., 1987; Delibes и др., 1988). Всего с участием хромосом эгилопса получено более 50 типов дополненных линий на основе разных сортов пшеницы. Показаны специфичные изменения морфологии и физиологии у сорта 'Чайниз Спринг' при добавлении в геном этого сорта хромосом от разных видов эгилопса. Получено более 15 замещенных линий, у которых в геном мягкой пшеницы введены хромосомы эгилопса, ответственные за такие морфологические и физиологические признаки как черная окраска чешуй, спельтоидная форма колоса, отсутствие воскового налета, устойчивость к болезням и т. д. С использованием дополненных и замещенных линий возможен перенос сегментов чужеродной хромосомы путем индуцированных транслокаций. Линии

* Eesti Teaduste Akadeemia Eksperimentaalbioloogia Instituut (Институт экспериментальной биологии Академии наук Эстонии), 203051 Harku, Instituudi tee 11. Estonia.

Особенности мейоза у гибридов F₁, полученных от скрещивания мягкой пшеницы с *Aegilops cylindrica*, и у родительских форм

Вид, сорт, гибрид	Число хромосом	Просмотрено мейотом	Среднее число на клетку и пределы варьирования					хиазм	Тетрады	
			бивалентов			унивалентов	мультивалентов		Просмотрено	% с нарушениями
			закрытых	открытых	всего					
‘Чайниз Спринг’ (ЧС)	42	167	20,2	0,7	20,9 (20—21)	0,07 (2)	0	41,9 (40—42)	1724	1,9
Мутант сорта ЧС ph1	42	141	15,3	3,7	19,0 (13—21)	2,4 (1—14)	0,4 (1—2)	35,3 (24—41)	2551	22,8
Mv 14	42	60	20,3	0,6	20,9 (20—21)	0,09 (2)	0	41,2 (40—42)	297	1,3
<i>Ae. cylindrica</i>	28	52	13,5	0,4	13,9 (13—14)	0,07 (2)	0	27,6 (26—28)	185	1,6
Mv 14 × <i>Ae. cylindrica</i>	35	62	2,9	2,4	5,3 (1—9)	23,3 (16—33)	0,2 (1—2)	8,9 (2—17)	782	76,6
ЧС × <i>Ae. cylindrica</i>	35	153	2,5	2,3	4,8 (1—10)	23,7 (7—34)	0,3 (1—2)	8,4 (2—25)	855	72,1
Мутант сорта ЧС ph1 × <i>Ae. cylindrica</i>	35	86	5,2	2,6	7,8 (5—13)	16,6 (6—25)	0,8 (1—3)	15,3 (7—25)	822	73,4

пшеницы с отдельными замещенными участками хромосом (при сохранении центромер пшеничных хромосом) более сбалансированы и стабильны, поэтому они с большим успехом могут быть использованы в качестве исходного материала при создании перспективных для селекции форм. Поскольку различия в структуре кариотипов и функциональной организации геномов у растений находят свое отражение в морфогенетических процессах онтогенеза, то их можно диагностировать по завершающей фазе онтогенеза — характеру прохождения мейоза.

На начальном этапе осуществления программы исследований по получению линий мягкой пшеницы с чужеродными замещениями и дополнениями хромосом от вида *Ae. cylindrica* нами были получены гибриды F_1 и изучены особенности их мейоза.

Материал и методика

В межродовых скрещиваниях в качестве материнских родителей использовали сорт яровой пшеницы 'Чайниз Спринг', мутант *ph1* сорта 'Чайниз Спринг', сорт озимой пшеницы *Mv14* (*Triticum aestivum*, $2n=42$, *AABBDD*). Отцовским родителем был вид эгилопса (*Aegilops cylindrica*, $2n=28$, *CCDD*). Часть гибридных семян F_1 от скрещивания мягкой пшеницы с эгилопсом была получена в наших опытах, а часть — в Сельскохозяйственном НИИ Венгерской Академии наук (Мартонвашар) от профессора И. Шутка. Растения гибридов и исходных родительских сортов выращивались в теплице после предварительной яровизации озимых форм в фитотроне в течение двух месяцев. Для цитологического анализа молодые колосья гибридных растений F_1 фиксировали в фиксаторе Карнуа, пыльники окрашивали ацетокармином и на временных давленных препаратах под световым микроскопом анализировали метафазы первого деления мейоза (M1) в материнских клетках пыльцы (МКП). Учитывали число открытых и закрытых бивалентов, уни- и мультивалентов, хиазм (точек хромосомной ассоциации) и определяли процент тетрад с микроядрами и прочими нарушениями. У растений гибридов F_1 и родительских сортов оценивали устойчивость к бурой ржавчине в фазе проростков и в фазе флаг-листа.

Результаты и обсуждение

Оценка устойчивости родительских сортов и гибридов F_1 к местной популяции бурой ржавчины показала, что в фазе проростков и в фазе флаг-листа растения сорта *Mv14* были устойчивыми (тип реакции «0»). Растения сорта 'Чайниз Спринг' и *Ae. cylindrica* поражались патогеном с типом реакции «3», «4». Большая часть гибридных растений F_1 , полученных от скрещивания сорта *Mv14* с *Ae. cylindrica*, была устойчивой к возбудителю (тип реакции «0», «1») и лишь у отдельных растений наблюдался тип реакции «2+». Все гибридные растения, полученные от скрещивания 'Чайниз Спринг' $\times$ *Ae. cylindrica*, были восприимчивы к патогену — тип реакции «3—4».

Результаты анализа мейоза у родительских сортов (таблица) показали, что у сортов 'Чайниз Спринг' и *Mv14*, а также у вида *Ae. cylindrica* мейоз проходил нормально с образованием у мягкой пшеницы в среднем 20,9 бивалентов, а у *Ae. cylindrica* 13,9 бивалентов на клетку. Показатели среднего числа хиазм на МКП и мейотический индекс (процент тетрад без нарушений) были высокими, что свидетельствует о высокой плотности конъюгации. Ход мейоза у мутантной линии *ph1* сорта 'Чайниз

Спринг' отклонялся от нормы, что выражалось в ослаблении конъюгации хромосом: в среднем на клетку у мутанта *ph1* наблюдалось 19 бивалентов, причем размах варьирования числа бивалентов был весьма значительным — от 13 до 21 бивалента. Частота встречаемости мейоцитов с 19—21 бивалентами не превышала 22—23% от числа всех изученных клеток, с 17—18 бивалентами была равна соответственно 12 и 10%. Клеток с 13 бивалентами было немного — 0,7%, а с 14—16 бивалентами — от 1 до 4%. У 'Чайниз Спринг' большая часть мейоцитов (96,4%) характеризовалась правильной конъюгацией с формированием 21 бивалента, оставшиеся 3,6% клеток содержали по 20 бивалентов. У мутанта *ph1* по сравнению с сортом 'Чайниз Спринг' было высокое число открытых бивалентов (в среднем 3,7 на клетку) и унивалентов (2,4). У 38% всех изученных мейоцитов было отмечено по 1—2 мультивалентных ассоциации. Мейотический индекс и среднее число хиазм на клетку у мутанта *ph1* были существенно ниже, чем у других сортов пшеницы.

Цитологический анализ выявил значительные различия между пшенично-эгилопсными гибридами по характеру конъюгации хромосом в *M1*. Растения гибрида *F₁*, полученного от скрещивания мутанта *ph1* с *Ae. cylindrica* по особенностям мейоза существенно отличались от растений других пшенично-эгилопсных гибридов. У этого гибрида наблюдалось формирование в среднем 7,8 бивалентов на клетку (закрытых — 5,2), число которых варьировало от 5 до 13, в то время как у гибридов, полученных от скрещивания сортов 'Чайниз Спринг' и *M14* с эгилопсом, было отмечено соответственно только по 4,8 и 5,3 бивалента на клетку, причем число закрытых бивалентов было вдвое меньше. Значимые различия между указанными гибридами отчетливо проявились также по среднему числу унивалентов, мультивалентов и хиазм на клетку. У гибрида *F₁*, полученного от скрещивания мутанта *ph1* с *Ae. cylindrica* 69,7% мейоцитов содержали мультиваленты (три- и тетраваленты), число которых на клетку достигало трех, в то время как у остальных пшенично-эгилопсных гибридов процент мейоцитов с мультивалентами не превышал 20—25%.

Полученные данные согласуются с результатами наших предшествующих исследований (Шнайдер, 1985, 1988; Shneider, Priilinn, 1987) и свидетельствуют о том, что использование в отдаленной гибридизации мутантной линии *ph1* с геном-супрессором конъюгации гомеологичных хромосом повышает степень рекомбинации генетического материала и способствует переносу генов от родственных видов в геном мягкой пшеницы (Sears, 1977; Law, 1981).

При анализе мейоза у пшенично-эгилопсных гибридов *F₁* нами была отмечена сильная фрагментация хромосом в мейоцитах. В литературе имеются сведения относительно способности хромосом видов *Aegilops* индуцировать структурные нарушения хромосом мягкой пшеницы (Endo, 1979, 1982, 1985, 1986, 1988; Finch и др., 1984). Установлено, что у пшенично-эгилопсных гибридов только гаметы, несущие чужеродную хромосому эгилопса, функционируют нормально, и эта хромосома селективно сохраняется в потомстве благодаря фертильности несущих ее растений. Отсутствие же в гаметах чужеродной хромосомы обуславливает их стерильность, независимо от плазматипа. В хромосомах эгилопса идентифицированы гены, оказывающие гаметоцидное действие на хромосомы мягкой пшеницы и индуцирующие фрагментацию, возникновение делеций и гетерологических транслокаций (Tsujimoto, Tsunewaki, 1985, 1988). В настоящее время механизм действия гаметоцидных хромосом еще не выяснен и требует дальнейших исследований. Высказывается предположение о том, что гаметоцидное действие может быть обусловлено нарушениями репарации ДНК, связано с процессами рекомбинации в мейоцитах или с транспозонными элементами (Tsujimoto, Noda, 1988, 1989).

Индукция структурных перестроек хромосом в мейозе у отдаленных пшенично-эгилопсных гибридов представляет большой интерес для цитогенетиков и она может быть использована в селекции с целью переноса чужеродных генов с желательными признаками в геном мягкой пшеницы.

ЛИТЕРАТУРА

- Гандилян П. А., Мирзоян Г. В. 1985. Эгилопско-пшеничные гибриды и выведение продуктивных форм для селекции. — В кн.: Роль отдаленных гибридов в эволюции и селекции пшеницы (тез. докл.). Тбилиси, 62—63.
- Шнайдер Т. М. 1985. Индукция гомеологичной конъюгации хромосом у пшенично-ржаных гибридов, полученных с участием мутанта *ph*. — Генетика, **21**, № 2, 288—294.
- Шнайдер Т. М. 1988. Особенности мейоза у отдаленных гибридов пшеницы, полученных с участием мутанта *ph*. — Цитология и генетика, **22**, № 3, 18—22.
- Blanco, A., Simeone, R., Resta, P., Perrone, V. 1987. Durum wheat — *Ae. caudata* addition lines. — EWAC Newsletter. Cambridge—Martonvásár, 51—54.
- Delibes, A., Lopez-Brana, I., Mena, M., Garcia-Olmedo, F. 1988. Present progress in the characterization of *Triticum aestivum*/*Aegilops ventricosa* transfer lines. — Proc. 7th Intern. Wheat Genet. Symp., **1**. Cambridge, 249—252.
- Endo, T. R. 1979. Selective gametocidal action of a chromosome of *Aegilops cylindrica* in a cultivar of common wheat. — Wheat Inform. Service, **50**, 24—28.
- Endo, T. R. 1982. Gametocidal chromosomes of three *Aegilops* species in common wheat. — Canad. J. Genet. Cytol., **24**, 201—206.
- Endo, T. R. 1985. Two types of gametocidal chromosomes of *Aegilops sharonensis* and *Ae. longissima*. — Jap. J. Genetics, **60**, 125—135.
- Endo, T. R. 1986. Gametocidal chromosomes in *Aegilops* species. — Wheat Inform. Service, **63**, 33—35.
- Endo, T. R. 1988. Induction of chromosomal structural changes by a chromosome of *Aegilops cylindrica* L. in common wheat. — J. Heredity, **79**, 366—370.
- Finch, R. A., Miller, T. E., Bennett, M. D. 1984. "Cuckoo" *Aegilops* addition chromosome in wheat ensures its transmission by causing chromosome breaks in meiospores lacking it. — Chromosoma (Berl.), **90**, 84—88.
- Jahier, J., Lucas, H. 1987. Study of the 7D chromosome of Roazon carrying *Ae. ventricosa* genes for resistance to eyespot. — EWAC Newsletter. Cambridge—Martonvásár, 51—54.
- Kimber, G. 1967. The addition of the chromosomes of *Aegilops umbellulata* to *Triticum aestivum* (var. Chinese Spring). — Genet. Res., **9**, 1, 111—115.
- Law, C. N. 1981. Chromosome manipulation in wheat. — Chromosomes today, **7**, 289—296.
- Miller, T. E., Forster, B. P., Koebner, R. M., Rogers, W. J., Reader, S. M., King, I. P., Faridi, N. I. 1987. Wheat/alien genetic group. — EWAC Newsletter. Cambridge—Martonvásár, 11—17.
- Riley, R., Chapman, V., Johanson, R. 1968. Introduction of yellow rust resistance of *Aegilops comosa* into wheat by genetically induced homoeologous recombination. — Nature, **215**, 5126, 383—384.
- Sears, E. R. 1961. Identification of the wheat chromosome carrying leaf-rust resistance from *Aegilops umbellulata*. — Wheat Inform. Service, **12**, 12—13.
- Sears, E. R. 1977. An induced mutant with homoeologous pairing in common wheat. — Canad. J. Genet. Cytol., **19**, 4, 585—593.
- Shneider, T., Prülin, O. 1987. Aneuploid studies at the Estonian SSR. — EWAC Newsletter. Cambridge—Martonvásár, 51—54.
- Tsujimoto, H., Noda, K. 1988. Chromosome breakage in wheat induced by gametocidal gene of *Aegilops triuncialis* L.: its utilization for wheat genetics and breeding. — Proc. 7th Intern. Wheat Genet. Symp., **1**. Cambridge, 455—460.
- Tsujimoto, H., Noda, K. 1989. Structure of chromosome 5A of wheat speltoid mutants induced by the gametocidal genes of *Aegilops speltoides*. — Genome, **32**, 6, 1085—1090.
- Tsujimoto, H., Tsunewaki, K. 1985. Hybrid dysgenesis in common wheat caused by gametocidal genes. — Jap. J. Genetics, **60**, 6, 565—578.
- Tsujimoto, H., Tsunewaki, K. 1988. Gametocidal genes in wheat and its relatives. III. Chromosome location and effects of two *Aegilops speltoides*-derived gametocidal genes in common wheat. — Genome, **30**, 2, 239—244.
- Zeller, F. J., Cermen, M.-C., Friebe, B., Martin, R. 1987. Utilization of *Aegilops ventricosa* chromosomes conferring disease resistance in wheat breeding. — EWAC Newsletter. Cambridge—Martonvásár, 30—33.

SUGUKONDADEVAHELISE HÜBRIIDI *TRITICUM AESTIVUM* L. $\times$ *AEGILOPS CYLINDRICA* L. F₁ MEIOOSI TSÜTOLOOGILINE ANALÜÜS

Esimese põlvkonna nisu-aegilopsi hübriidide (saadud pehme nisu sortide Mv14, 'Chinese Spring' ja 'Chinese Spring' mutandi ph1 ristamisel liigiga *Ae. cylindrica*) meioosi tsütoloogiline analüüs tõi esile olulised erinevused hübriidide vahel kromosoomide konjugatsioonis M1. Hübriididel, mis olid saadud mutandi ph1 osavõtul, oli bivalentide ja multivalentide arv raku kohta keskmiselt 1,5—2 korda kõrgem kui teistel nisu-aegilopsi hübriididel. Nisu-aegilopsi hübriidide kromosoomide struktuurimuutusi võib ära kasutada homöoloogsete kromosoomide rekombinatsioonisageduse tõstmiseks ja võõra geneetilise materjali introgressiooniks pehme nisu genoomi.

Tamara ENNO and Hilma PEUSHA

THE CYTOLOGICAL ANALYSIS OF MEIOSIS IN THE INTERGENERIC HYBRIDS F₁ *TRITICUM AESTIVUM* L. $\times$ *AEGILOPS CYLINDRICA* L.

The cytological analysis of meiosis in the intergeneric hybrids F₁ derived from crosses of common wheat varieties Mv14, 'Chinese Spring' and ph1 mutant with *Aegilops cylindrica* had revealed significant differences between the wide hybrids F₁ in M1 pairing configurations. The using in crosses of ph1 mutant exhibited relatively high homoeologous pairing — the mean numbers of bivalent and multivalent associations per cell were increased 1.5—2 times as compared with the other wheat-aegilops hybrids. The experiments carried out indicated that the high levels of homoeologous chromosome pairing of wheat-aegilops and, consequently, the recombination frequencies obtainable by the use of ph1 mutations may be employed in plant breeding and genetics for transferring the alien genetical material to the common wheat genome.