

УДК 633.11.575.222.73.576.354.4

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ВИКОРИСТАННЯ АМФІПЛОЇДУ *HAUNATRICUM* ДЛЯ ІНТРОГРЕСІЇ В ПШЕНИЦЮ ЧУЖОРІДНОГО МАТЕРІАЛУ

Тоцький В. М.¹, Прокопович Е. Л.², Січняк О. Л.²

¹ Одеський державний університет, кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 270026, Україна

² Селекційно-генетичний інститут УААН,
вул. Овідіопольська дор., 3, Одеса, 270036, Україна

Вивчали мейотичні процеси при гібридизації *Haunatricum* з пшеницею в прямих та зворотних схрещуваннях. Коли *Haunatricum* використовується як батьківська форма, можливе стимулювання гомеологічної кон'югації між хромосомами м'якої пшениці і *T. dicocum* та, імовірно, *H. villosum*. Використання генів, що регулюють кон'югацію хромосом, зокрема мутації *ph1b*, значно посилює цей процес. При використанні *Haunatricum* як материнської форми виявилася диференціація пшеничних генотипів за здатністю впливати на гомеологічну кон'югацію хромосом.

Ключові слова: пшениця, *Haunatricum*, гібридизація, мейоз, кон'югація хромосом.

Проблеми підвищення стійкості пшениці тісно пов'язані з розширенням генетичної бази цієї культури за рахунок мобілізації нових джерел, одним з яких є *Haunaldia villosa* (L.) Schur. (= *Dasypyrum villosum* (L.) Borb.). Це дикоростучий злак, близький до диплоїдних пшениць *T. boeototicum* і *T. monococum* [1] та до жита [7]. Він теж є диплоїдом ($2n = 14$, з геномним складом VV) з ареалом у країнах Середземного моря, а на території України — в Криму. Він характеризується стійкістю до грибкових захворювань (борошнистої роси, стеблової іржи), високим рівнем білка (17,3%) та клейковини (35%) [1].

Використання цього виду відбувається шляхом створення доданих ліній пшениці [4], але кращим є інтрогресія чужорідних генів за рахунок рекомбінації чи транслокацій. Суттєвою перешкодою на цьому шляху (це загальне правило для віддалених гібридів) є значне утруднення чи повна відсутність формування міжгеномних хромосомних асоціацій.

Окремі популяції *H. villosa* здатні стимулювати гомеологічну кон'югацію хромосом [3, 6]. Такі відомості є і щодо впливу *T. dicocum* [5] на формування мультивалентних асоціацій, які є надійним відображенням наявності гомеологічної кон'югації. Тому ми спробували дослідити ступінь гомеологічної кон'югації хромосом при використанні для інтрогресії в пшеницю генетичної інформації *Haunaldia villosa* за допомогою мостової форми — *Haunatricum*, який є амфідиплоїдом *H. villosa* × *T. dicocum* ($2n = 42$, AABBVV) та при її сполученні з *ph1b* мутантом м'якої пшениці, який позитивно впливає на рівень гомеологічної кон'югації хромосом. Матеріалом для досліджень служили гібриди F₁ амфідиплоїду з добром сортів м'якої пшениці, в котрих вивчали формування асоціацій хромосом в МІ мейозу (табл. 1).

Характер і рівень кон'югації хромосом на стадії метафази I мейозу в материнських клітинах пилку (МКП) у гібридів F₁ між *Haunaticum* та рядом сортів м'якої пшениці

Гібридна комбінація	Вивчено МКП	Середня кількість на МКП				Середнє число крапок хромосомної асоціації на хромосому
		унівалентів	бівалентів	відкритих бівалентів	мультивалентів	
<i>Haunaticum</i> × Norin 29	241	15,1±0,2	12,4±0,1	4,4±0,1	0,30±0,04	0,52±0,01
<i>Haunaticum</i> × Gamut	27	15,0±0,5	12,7±0,2	3,7±0,4	0,07±0,05	0,54±0,01
<i>Haunaticum</i> × Донська напівкарликова	192	15,8±0,4	11,9±0,2	4,8±0,3	0,32±0,07	0,48±0,01
<i>Haunaticum</i> × Напівкарлик 71	104	14,8±0,3	12,4±0,2	4,6±0,2	0,40±0,06	0,52±0,01
<i>Haunaticum</i> × Chinese Spring (<i>ph1b</i>)	264	14,6±0,4	12,8±0,2	4,5±0,3	0,21±0,06	0,53±0,01
Напівкарлик 71 × <i>Haunaticum</i>	115	14,7±0,2	12,3±0,1	5,0±0,2	0,53±0,06	0,51±0,01
Chinese Spring (<i>ph1b</i>) × <i>Haunaticum</i>	49	12,9±0,4	12,3±0,3	5,1±0,3	0,94±0,06	0,53±0,01

Виявився суттєвий вплив на гомеологічну кон'югацію хромосом пшеничного генотипу. В схрещуваннях *Haunaticum* х м'яка пшениця спостерігалась значна варіація числа мультивалентів: від 0,07 у комбінації *Haunaticum* × Gamut до 0,40 у гібриду *Haunaticum* × Напівкарлик 71. Несподівано низькою (0,21) виявилась кількість мультивалентів у гібриду *Haunaticum* х Chinese Spring (*ph1b*), але він мав найбільшу кількість закритих бівалентів. У комбінаціях м'яка пшениця × *Haunaticum* рівень кон'югації суттєво не відрізнявся, але характер кон'югації мав значні відмінності. По-перше, ймовірно збільшилася кількість мультивалентів і в них — частота квадри- і пентавалентів, з'явилися гексаваленти. Разом з тим, утруднилося формування бівалентів, про що свідчить зростання частки відкритих бівалентів при майже незмінному загальному числі бівалентів: якщо в комбінації *Haunaticum* × Напівкарлик 71 спостерігали 12,4 бівалентів/МКП при 37% відкритих бівалентів, то в зворотній комбінації, при 12,4 бівалентів/МКП, частка відкритих бівалентів зростала до 40,7%. У комбінаціях з участю *ph1b* мутанта це відбилось чіткіше — частка відкритих бівалентів збільшилася з 35,0% до 42,3%, а кількість мультивалентів — більше ніж в 4 рази. Таким чином, у схрещуваннях м'яка пшениця × *Haunaticum* відбувається гомеологічна кон'югація (між хромосомами *T. aestivum* та *T. dicoccum* і, можливо, мультиваленти формуються за участю хромосом пшениці і *H. villosa*), а мутація *ph1b* ефективно її збільшує.

Можливим механізмом такої кон'югації є утруднення в формуванні бівалентів унаслідок конкуренції за партнерів, які здатні до гомологічної кон'югації. На користь цього свідчить зростання частоти відкритих бівалентів і мультивалентів. Тобто, в присутності цитоплазми *T. aestivum* виявляється позитивний вплив *T. dicoccum* на гомеологічну кон'югацію хромосом, який посилюється спільною

дією мутації *ph1b*. Щодо впливу геному *H. villosa*, то однозначного висновку зробити не можна, але в схрещуваннях *Haynaticum* × м'яка пшениця виявився чіткий вплив цитоплазми *H. villosa*. Лише так можна пояснити той факт, що в комбінації *Haynaticum* × *Chinese Spring (ph1b)* була найменша кількість мультивалентів з найбільшою загальною кількістю бівалентів і числом закритих бівалентів. Взаємодією з диплоїдною цитоплазмою *H. villosa* пояснюється і диференціація пшениць за впливом на ступінь гомеологічної кон'югації хромосом. У алополіплоїдів одним з чинників функціонування диплоїдизуючої системи є просторова організація ядра, де кожний субгеном має свою зону і гомеологічні хромосоми просторово ізольовані. Можливо, вплив диплоїдної цитоплазми *H. villosa* пов'язаний з тим, що поліплоїдні ядра в диплоїдній цитоплазмі не здатні достатньою мірою збільшити розміри клітин, і ці зони у гібридів, які вивчались, розташовуються занадто близько. Внаслідок цього на перший план висуваються чинники генетичної та морфологічної схожості хромосом, які стають визначальними при формуванні хромосомних асоціацій. Проблема створення багатохромосомних алоплоїдів на цитоплазмах видів меншої плоїдності взагалі дуже складна. В таких алоплоїдах ядерно-плазматична незбалансованість дуже сильна, внаслідок чого відбувається розпад багатохромосомних полігеномів. Це відзначав ще А. Мюнтцинг, який намагався синтезувати декаплоїдне тритикале з цитоплазмою м'якої пшениці [8], але згодом отриманий амфіплоїд розщепився на пшеницю та жито. Аналогічні результати спостерігались при численних спробах створити пшенично-пирійні амфідиплоїди. При спробі створити гексаплоїдний алоплоїд з геномним складом ADR шляхом гібридизації егілопсно-житнього амфідиплоїду AD(*squarrosa* × *cereale*) [2] з *T. boeoticum* спостерігали вищеплення алоплазматичної лінії жита.

Отже, можна зробити такі висновки. При використанні *Haynaticum* як батьківської форми можна стимулювати гомеологічну кон'югацію між хромосомами м'якої пшениці і *T. dicocum* (яка теж є цінним джерелом корисних ознак) та, ймовірно, *H. villosum*. Використання генів, які регулюють кон'югацію хромосом, зокрема мутації *ph1b*, значно посилює цей процес.

При використанні *Haynaticum* як материнської форми, в разі, якщо гібриди виявляться цитологічно досить стабільними, зусилля слід зосередити на пошуку (серед комерційних сортів пшениці) генотипів, здатних позитивно впливати на гомеологічну кон'югацію хромосом. Це дозволить ефективніше проводити інтрогресії, оскільки відпадає необхідність у заміщенні геномів *Chinese Spring*, що є необхідним етапом при використанні *ph*-мутацій.

Література

1. Семенова Л. В. *Dasypyrum villosum* (L.) Borb. — дикорастущий родич видов пшеницы подрода *Boeoticum* Migusch. et Dorof. // Сб. науч. тр. по прикл. бот., ген. и сел. — 1987. — 111. — С. 91—92.
2. Сечняк А. Л., Симоненко В. К. Тетраплоидное тритикале с геномом D // Доклады ВАСХНИЛ. — 1990. — № 7. — С. 5—6.
3. Blanko A., Simeone R., Tanzarella O. A., Creco B. Morphology and chromosome pairing of a hybrid between *Triticum durum* Desf. and *Haynaldia villosa* (L.) Schur. // Theor. and Appl. Genet. — 1983. — V. 64, № 4. — P. 333—337.
4. Blanko A., Simeone R., Resta P. The addition of *Dasypyrum villosum* (L.) Candargy chromosomes to durum wheat (*Triticum durum* Desf.) // Theor. and Appl. Genet. — 1987. — V. 74, № 3. — P. 328—333.

5. **Ganeva G., Bochev B.** Effect of nullisomy for D-genome chromosomes and chromosome 5B on the cytological characteristics of pentaploid *Triticum aestivum* × *T. dicoccoides* hybrids // *Genome*. — 1987. — V. 29, № 2. — P. 221—224.
6. **Jan C. C. Pace C. de, McGuire P. E., Qualset C. O.** Hybrids and amphidiploids of *Triticum aestivum* L. and *T. turgidum* L. with *Dasypyrum villosum* (L.) Candargy. // *Z. Pflanzenzucht*. — 1986. — V. 96, № 2. — P. 97—106.
7. **Lucas H.** Contribution a l'etude des relations phylogenetiques chez les triticees // *Thise, Universite de Rennes I*. — 1986.
8. **Muntzing A.** Mode of production and properties of a *Triticale* strain with 70 chromosomes // *Wheat Inf. Serv., Kyoto*. — 1955. — № 2. — P. 1—2.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АМФИПЛОИДА НАУНАТРИКУМ ДЛЯ ИНТРОГРЕССИИ В ПШЕНИЦУ ЧУЖЕРОДНОГО МАТЕРИАЛА

Тоцький В. Н.¹, Прокопович Е. Л.², Сечняк А. Л.²

¹ Одесский государственный университет, кафедра генетики и молекулярной биологии, ул. Дворянская, 2, Одесса, 270026, Украина

² Селекционно-генетический институт УААН, ул. Овидиопольская дор., 3, Одесса, 270036, Украина

Резюме

Изучали мейотические процессы при гибридизации *Haynaticum* с пшеницей в прямых и обратных скрещиваниях. Когда *Haynaticum* используется как отцовская форма, можно стимулировать конъюгацию между хромосомами мягкой пшеницы и *T. dicoccum* и, вероятно, *H. villosa*. Использование генов, регулирующих конъюгацию хромосом, в частности мутации *ph1b*, значительно усиливает этот процесс. При использовании *Haynaticum* в качестве материнской формы обнаружена дифференциация пшеничных генотипов по способности влиять на гомеологичную конъюгацию хромосом.

Ключевые слова: пшеница, *Haynaticum*, гибридизация, мейоз, конъюгация хромосом.

CYTOGENETIC ASPECTS OF USING AMPHIPLOID HAYNATRICUM FOR ALIEN MATERIAL INTROGRESSION INTO WHEAT

Totsky V. N.¹, Procopovich E. L.², Sechnyak A. L.²

¹ Odessa State University, Department of Genetics and Molecular Biology, Dvoranskaya St. 2, Odessa, 270026, Ukraine

² Plant Breeding and Genetic Institute of Ukrainian Academy of Agrarian Science, Ovidiopolskaya road St., 3, Odessa, 270036, Ukraine

Summary

Meiotic processes in *Haynaticum* and wheat hybrids from direct and reciprocal directions were studied. When *Haynaticum* is used as a male parent it is possible to stimulate pairing between chromosomes of common wheat and *T. dicoccum* and, probably, *H. villosa*. It considerably increases when the genes which regulate chromosome pairing, particularly *ph1b* mutation, are used. When *Haynaticum* is taken as a female form it was found out that wheat genotypes can differently influence on homoeologous chromosome pairing.

Key words: wheat, *Haynaticum*, hybridization, meiosis, chromosome pairing.