

ОСОБЕННОСТИ КОНЬЮГАЦИИ ХРОМОСОМ В МЕЙОЗЕ У МУТАНТА ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM TURGIDUM* VAR. *DURUM* ph1c

Тамара ЭННО

Eesti Teaduste Akadeemia Eksperimentaalsooia Instituut (Институт экспериментальной биологии АН Эстонии). Instituudi tee 11, EE-3051 Harku, Harjuma, Eesti (Эстония)

Представил У. Маргна

Поступила в редакцию 17/XI 1993; принята к печати 26/XI 1993

Аннотация. Линии CDES 35 мутанта твердой пшеницы ph1c на основании цитологического анализа мейоза были разделены на две группы, достоверно различающиеся по степени стабильности мейоза. У растений первой группы наблюдалось незначительное число аномалий в MI мейоза и процент тетрад микроспор с нарушениями не превышал 2,4. Ко второй группе были отнесены линии мутанта с высокой частотой аномалий на всех стадиях мейоза. Полученные данные позволяют сделать вывод, что линии первой группы гетерозиготны по локусу ph1c 5B-хромосомы, вследствие чего не проявляется десинаптический эффект этого локуса. Линии второй группы гомозиготны по локусу ph1c, т. е. имеют делецию гена Ph в обоих гомологах 5B-пары хромосом.

Ключевые слова: мейоз, *Triticum turgidum* var. *durum*, мутант ph1c.

Гексаплоидная мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L. ($2n=6x=42$, AABBDD)) и тетраплоидная твердая пшеница (*Triticum turgidum* var. *durum* L. ($2n=4x=28$, AABB)) представляют собой аллополиплоиды, сложный геном которых состоит из геномов элементарных видов. Несмотря на некоторое сходство (гомеологию) хромосом отдельных геномов, в метафазе первого деления мейоза (MI) не происходит спаривания между ними и формируются биваленты, в состав которых входят только полностью идентичные гомологи. Установлено, что отсутствие спаривания между гомеологами обусловлено взаимодействием генов, локализованных в нескольких хромосомах пшеницы, причём наиболее сильное подавляющее действие на гетерогенетическую конъюгацию оказывает локус Ph (pairing homoeologous), находящийся в длинном плече хромосомы 5B (Sears, Okamoto, 1958; Riley, Chapman, 1958; Wall et al., 1971a, 1971b). Действие этого локуса проявляется в ингибировании конъюгации между гомеологичными хромосомами пшеницы и родственных видов подтрибы *Triticinae*. Активность этой генетической системы, специфически регулирующей ход мейоза, создает серьезные препятствия перед исследователями, использующими методы отдаленной гибридизации и хромосомной манипуляции для повышения генетической изменчивости и улучшения сортов возделываемой пшеницы. Ученые неоднократно предпринимали попытки получить мутацию в локусе Ph, чтобы снять его ингибирующее действие. Наконец, такой мутант (ph1b) был получен у мягкой пшеницы сорта Чайниз Спринг,

Гораздо труднее было получить подобный мутант у тетраплоидной твердой пшеницы, поскольку этот вид с большими сложностями, чем гексаплоидная пшеница, переносит потерю целой хромосомы и даже отдельного плеча хромосомы. После облучения семян твердой пшеницы сорта *SarPELLI* нейтронами было выделено большое число мутантных растений, среди которых, как показал цитологический анализ, некоторые имели две хромосомные перестройки — реципрокную транслокацию, включающую 1А- и 5А-хромосомы, и гетероморфную пару хромосом 5В — длинное плечо одной из хромосом этой пары было длиннее, чем у гомолога (Giorgi, 1983). Было установлено, что у растений с делецией 5В-хромосомы отсутствует локус Ph и использование таких растений в межвидовых скрещиваниях способствует повышению гетерогенетического спаривания (Giorgi, Barbera, 1981; Dvořák, Chen, 1984; Jampates, Dvořák, 1986).

Линия твердой пшеницы сорта *SarPELLI* с нехваткой, обозначенная как *SarPELLI-del*, характеризуется уменьшением длинного плеча 5В-хромосомы примерно на 10%. На основании того, что в М1 мейоза у этой линии отмечалось большое число унивалентов и небольшое число бивалентов и хиазм на клетку, был сделан вывод о том, что причиной наблюдаемого десинапсиса является делеция 5В-хромосомы, и полученный мутант, выделенный в гомозиготном состоянии, был назван DES 35. Поскольку сорт твердой пшеницы *SarPELLI* является старым высокоурожайным итальянским сортом, не имеющим хозяйственного значения, мутация DES 35 была перенесена в полукарликовый высокоурожайный перспективный сорт *Creso*, при этом мутант получил название CDES 35, а мутантный локус был обозначен символом *ph1c* (Giorgi, 1983; Jampates, Dvořák, 1986).

В наших предыдущих опытах по изучению особенностей мейоза у межвидовых гибридов пшеницы мы использовали мутант *ph1b* мягкой пшеницы сорта *Чайниз Спринг* при скрещивании с тетраплоидными видами пшеницы, эгилопсом и рожью (Shneider, Priilinn, 1984; Шнайдер, 1985, 1988; Энно, Пеуша, 1991). Прежде чем включить мутант твердой пшеницы в отдаленные скрещивания, мы решили провести предварительный цитологический анализ мейоза у мутантных растений с целью изучения характера конъюгации хромосом, степени изменчивости хода мейоза и проверки гомозиготности мутанта по делеции локуса *ph1c*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Десять зерен мутанта твердой пшеницы CDES 35 были получены в 1988 году от Розанны Симеоне (Институт растениеводства Университета г. Бари, Италия) через проф. И. Шутку (Сельскохозяйственный научно-исследовательский институт ВАН, Мартонвашар, Венгрия). При размножении полученного материала было выделено 10 линий — потомства каждого из полученных зерен. Поскольку условия выращивания растений в теплице существенно отличались от природных, растения не успевали раскуститься и имели только по одному колосу. Озерненность колосеов была невысокой. За четыре года выращивания растений мутанта CDES 35 нам удалось собрать материал для цитологического анализа восьми линий (две линии — 1 и 9 — не удалось сохранить) и размножить лишь пять из них. Одновременно с семенами мутанта CDES 35 высевали семена твердой пшеницы сорта *Creso*. Несмотря на низкую фертильность растений мутанта, нам удалось получить гибриды F₁ от скрещивания его с сортом мягкой пшеницы *Чайниз Спринг* и с мутантом сорта *Чайниз Спринг ph1b* и изучить особенности мейоза.

Особенности мейоза у линий мутанта CDES 35, сортов и гибридов пшеницы

Сорт, линия, гибрид	Число хромосом	Изучено МКП	Среднее число на клетку				Тетрады				
			бivalentов		унивалентов	мультивалентов	хиазм	просмотрено	% с нарушениями		
			закрытых	открытых						всего	
Линии CDES 35											
3	28	334	13,9	0,09	13,9	0,02	0	27,9	775	2,4	
5	28	179	13,3	0,7	14,0	0	0	27,3	234	2,1	
8	28	133	13,8	0,2	14,0	0,02	0	27,8	—	—	
2	28	26	7,9	4,0	11,9	4,0	0,38	20,6	217	10,6	
4	28	82	9,8	2,7	12,5	2,3	0,12	22,7	451	37,5	
6	28	57	8,6	3,6	12,1	3,1	0,2	21,2	720	18,1	
7	28	67	9,8	2,8	12,6	1,8	0,2	23,0	329	27,9	
10	28	31	8,1	3,7	11,8	3,3	0,3	20,8	—	—	
Чайниз Спринг	42	167	20,2	0,7	20,9	0,07	0	41,9	1724	1,9	
Мутант ph1b	42	141	15,3	3,7	19,0	2,4	0,4	35,3	2551	22,8	
Creso	28	69	13,3	0,7	14,0	0	0	27,3	214	1,8	
ЧС X CDES 35	35	157	11,9	1,9	13,8	7,4	0	25,7	486	66,7	
Мутант ph1b X CDES 35	35	71	10,8	2,6	13,4	6,9	0,3	24,8	347	85,9	

$P < 0,05$.

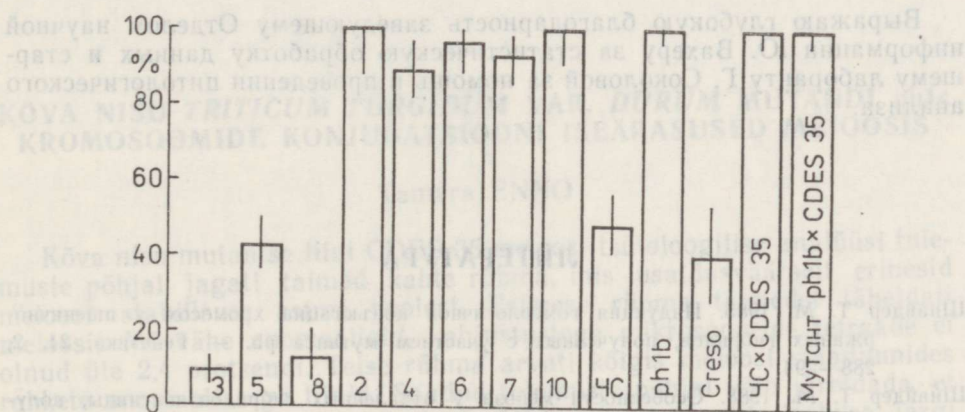
Для анализа мейоза молодые колосья растений фиксировали по Карнуэ, пыльники окрашивали ацетокармином и в материнских клетках пыльцы (МКП) под световым микроскопом исследовали конъюгацию хромосом в МI. Определяли среднее число уни-, би- и мультивалентов и хиазм на клетку, учитывали процент тетрад с микроядрами и иными нарушениями.

Данные цитологического анализа обрабатывали статистически с использованием метода Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали цитологический анализ и сравнение линий мутанта CDES 35 между собой (таблица), было установлено, что они существенно различаются по степени стабильности мейоза. Линии мутанта CDES 35 с учетом особенностей мейоза были разделены на две группы: к первой были отнесены линии 3, 5 и 8, в МI у которых наблюдалось в среднем по 13,9—14,0 бивалентов на клетку, незначительное число унивалентов (от 0 до 0,02) и высокое число хиазм — более 27 на мейоцит. На стадии тетрад микроспор число тетрад с нарушениями было минимальным — 2,1—2,4%. По особенностям мейоза линии этой группы были сходны с сортом твердой пшеницы Creso.

Во вторую группу были включены линии 2, 4, 6, 7 и 10. Ход мейоза у этих линий значительно отличался от мейоза у линий первой группы и сорта Creso. В МI мейоза у растений этой группы среднее число МКП с бивалентами варьировало от 11,8 до 12,6, среднее число МКП с унивалентами — от 1,8 до 4,0. У всех линий второй группы было отмечено появление мультивалентных ассоциаций с частотой 0,12—0,38 в среднем на клетку, в основном это были три- и тетраваленты (среди них встречались закрытые тетраваленты кольцевой конфигурации, свидетельствующие о наличии реципрокных транслокаций). Среднее число хиазм на клетку у растений второй группы было меньше, чем у растений первой группы (от 20,6 до 23,0). Процент тетрад с микроядрами и иными нарушениями варьировал в пределах 10,6—37,5. Различия в степени стабильности мейоза у изученного материала наглядно представлены на рисунке.



Частота нарушений в мейозе (%) у линий мутанта CDES 35 (3, 5 и 8 — первая группа и 2, 4, 6, 7, 10 — вторая группа), сортов и гибридов пшеницы.

Таким образом, результаты цитологического анализа свидетельствуют о значительной гетерогенности линий мутанта CDES 35, проявляющейся в различной степени стабильности мейоза. Полученные данные дают основание предполагать, что линии 3, 5 и 8 мутанта CDES 35, характеризующиеся относительной стабильностью мейоза (отсутствием или незначительным числом унивалентов, отсутствием мультивалентов и высоким числом хиазм на МКП), гетерозиготны по локусу *ph1c* 5В-хромосомы, вследствие чего десинаптический эффект этого локуса не проявляется. Линии 2, 4, 6, 7 и 10 с высокой частотой нарушений в МI мейоза и высоким процентом аномальных тетрад, по всей вероятности, гомозиготны по локусу *ph1c*, т. е. имеют делецию локуса Ph в обоих гомологах 5В-пары хромосом.

При сравнении гибридов пшеницы между собой можно видеть, что они оба характеризуются высокой нестабильностью мейоза (см. таблицу и рисунок). В гибридной комбинации *ph1b* × CDES 35 по сравнению с гибридом Чайниз Спринг × CDES 35 наблюдалось больше нарушений в тетрадах (85,9%), в МI встречались мультиваленты (0,3 в среднем на клетку) и среднее число хиазм на мейоцит было меньше. Поскольку при гибридизации для опыления брались колосья от растений линий мутанта CDES 35 (как гомозиготных, так и гетерозиготных по локусу *ph1c*) до проведения цитологического анализа, то весьма трудно установить характер взаимодействия генотипов сорта и мутантов мягкой и твердой пшеницы между собой и выявить эффект локуса *ph1c* в определении хода мейоза.

Проблема переноса чужеродного генетического материала от диких и родственных видов возделываемым сортам пшеницы может быть решена с помощью хромосомной манипуляции путем индукции спаривания гомеологов (Sears, 1981; Feldman, 1988). При этом для повышения фертильности отдаленных гибридов F₁ используют методы эмбриокультуры, полиплоидизации, беккроссирование. В результате межвидовой гибридизации с использованием мутанта мягкой пшеницы *ph1b* и твердой пшеницы *ph1c* удалось перенести устойчивость к мучнистой росе от вида *Aegilops caudata* мягкой пшенице сорта Pandas (Simeone, Blanco, 1987; Simeone et al., 1989, 1992).

В результате проведенных исследований удалось выделить гомозиготные по локусу *ph1c* линии мутанта твердой пшеницы CDES 35, которые можно использовать в отдаленных скрещиваниях с целью повышения степени конъюгации гомеологичных хромосом и переноса ценного генетического материала от родственных видов мягкой пшенице.

Выражаю глубокую благодарность заведующему Отделом научной информации Ю. Вахеру за статистическую обработку данных и старшему лаборанту Г. Соколовой за помощь в проведении цитологического анализа.

ЛИТЕРАТУРА

- Шнайдер Т. М. 1985. Индукция гомеологичной конъюгации хромосом у пшенично-рожанных 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.
- Энно Т., Пеуша Х. 1991. Цитологический анализ мейоза у межродового гибрида F₁ *Triticum aestivum* L. × *Aegilops cylindrica* L. — Изв. АН Эстонии. Биол., 40, 4, 193—198.

- Dvořák, J., Chen, Kuey-Chu 1984. The C-band of a Ph⁻ mutant of durum wheat. — *Canad. J. Genet. Cytol.*, **26**, 3, 360—363.
- Feldman, M. 1988. Cytogenetic and molecular approaches to alien gene transfer in wheat. — *Proc. 7th Intern. Wheat Genetics Symp.*, Cambridge, 23—32.
- Giorgi, B. 1983. Origin, behaviour and utilization of a ph1 mutant of durum wheat, *Triticum turgidum* (L.) var. *durum*. — *Proc. 6th Intern. Wheat Genetics Symp.*, Kyoto, Japan, 1033—1040.
- Giorgi, B., Barbera, F. 1981. The use of mutants increasing homoeologous pairing for the introduction of alien variation in both durum and bread wheat. — *Intern. Symp. on Induced Mutations as a Tool for Crop Plant Improvement*. IAEA, Vienna, 6—7.
- Jampates, R., Dvořák, J. 1986. Location of the Ph1 locus in the metaphase chromosome map and the linkage map of the 5Bq arm of wheat. — *Canad. J. Genet. Cytol.*, **28**, 4, 511—519.
- Riley, R., Chapman, V. 1958. Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. — *Nature*, **182**, 713—715.
- Sears, E. R. 1981. Transfer of alien genetic material to wheat. — In: Evans, L. T., Peacock, W. J. (Eds.) *Wheat Science — Today and Tomorrow*. Cambridge University Press, 75—89.
- Sears, E. R., Okamoto, M. 1958. Intergenomic chromosome relationships in hexaploid wheat. — *Proc. 10th Intern. Congr. Genet.*, Montreal, Canada, 2, 258—259.
- Shnaider, T. M., Priilinn, O. J. 1984. The use of ph mutant increasing homoeologous pairing in wheat × rye hybrids. — *Wheat Information Service*, No. 59, 6—8.
- Simeone, R., Blanco, A. 1987. Chromosome pairing in hybrids between *Triticum turgidum* (L.) and *Aegilops caudata*. — *Cereal Res. Commun.*, **15**, 2—3, 157—160.
- Simeone, R., Pignone, D., Blanco, A., Attolico, M. 1989. Cytology and fertility of hybrids and amphiploids between *Aegilops caudata* L. × *Triticum turgidum* (L.) Thell. — *Plant Breed.*, **103**, 189—195.
- Simeone, R., Siniscalco, A., Blanco, A. 1992. Transfer of powdery mildew resistance from *Aegilops caudata* L. in common wheat. — *Vortr. Pflanzenzüchtung*, **24**, 342—344.
- Wall, A. M., Riley, R., Chapman, V. 1971 a. Wheat mutants permitting homoeologous meiotic chromosome pairing. — *Genet. Res.*, **18**, 311—328.
- Wall, A. M., Riley, R., Gale, M. D. 1971b. The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing. — *Genet. Res.*, **18**, 329—339.

KÕVA NISU TRITICUM TURGIDUM VAR. DURUM MUTANDI ph1c KROMSOOMIDE KONJUGATSIOONI ISEÄRASUSED MEIOOSIS

Tamara ENNO

Kõva nisu mutantse liini CDES 35 meioosi tsütoloogilise analüüsi tulemuste põhjal jagati taimed kahte rühma, mis usaldusväärsetl erinesid meioosi stabiilsuse astme poolest. Esimese rühma taimedel täheldati meioosis MI vähe anomaaliaid, kahjustustega mikrospooride tetraade ei olnud üle 2,4 protsendi. Teise rühma arvati kõigis meioosi staadiumides rohkete anomaaliatega liinid. Saadud tulemuste põhjal võib järeldada, et esimesse rühma arvatud liinid on 5B-kromosoomi ph1c-lookuse järgi heterosügootsed. Seetõttu ei ilmne nimetatud lookuse desünapsise efekt. Teise rühma liinid on ph1c-lookuse järgi homosügootsed ja neil on geeni Ph deletsiooni kromosoom 5B-paari mõlemas homoloogis.

THE BEHAVIOUR OF MEIOSIS IN MUTANT *ph1c* OF *TRITICUM TURGIDUM* VAR. *DURUM*

Tamara ENNO

The chromosome complement of the tetraploid wheat *Triticum turgidum* var. *durum* ($2n=4x=28$, AABB) contains two pairs of genomes, closely related hexaploid wheat *Triticum aestivum* ($2n=6x=42$, AABBDD). Though these genomes were contributed by different diploid species, they still have potential for heterogenetic chromosome pairing in meiosis. This potential is genetically suppressed by the activities of specific genes. Regular meiotic behaviour in common wheat depends on a balanced affect of genes that suppress and promote homoeologous chromosome pairing. The "pairing homoeologous" Ph gene, located on the long arm of chromosome 5B, has a major suppressing effect on homoeologous pairing. In its presence pairing is restricted to homologues, in its absence homoeologues pair also, but less frequently than homologues.

After neutron treatments in tetraploid wheat, induced mutation was obtained affecting the suppression of heterogenetic chromosome pairing. In durum wheat mutant, the 5B pair appeared to be heteromorphic in that one member of the pair was shorter and the other longer as compared to the control ones. Each of the two modified 5B chromosomes was then isolated in homozygous condition, giving rise to two different lines. Later it was found that the plants having the short chromosome 5B had a mutation in a gene that normally suppresses heterogenetic chromosome pairing. This mutant line with the deletion on chromosome 5B was designated as CDES 35, and mutant locus as *ph1c*.

The seeds of mutant line CDES 35 were obtained in 1988 from the Institute of Plant Breeding, University of Bari, Italy, and were kindly provided by prof. Jozsef Sutka from the Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Martonvásár.

We intended to use the mutant CDES 35 in our programme of inter-specific hybridization and alien-wheat transfer experiments. During the period of extremely small number of seeds multiplication (10 kernels), we carried out an analysis of meiosis in mutant plants, and tried to determine its suitability for inducing homoeologous pairing in wide hybrids.

The behaviour of meiosis was assessed in eight lines of CDES 35 mutant. The examination of microsporogenesis in PMCs revealed significant differences in chromosome pairing at MI. Taking into consideration the data of cytological analysis, we divided the lines under study into two groups. The first one included lines 3, 5, and 8, in which an average of 13.9 bivalents and 27.6 chiasmata per cell was observed. The stability of meiosis in these lines was as high as in durum wheat cv. Cresò. We believe that these lines have heterozygous genotype *Ph1c/ph1c*, and therefore desynaptic effect of locus *ph1c* is not expressed.

The second group included lines 2, 4, 6, 7, and 10. Cytological analysis revealed an average 12.2 bivalents, 2.9 univalents and 21.8 chiasmata per cell. The presence of multivalent associations at MI, a high per cent of microspore tetrads with anomalies, and reduced stability of meiosis may have been due to the effect of the two doses of the *ph1c* gene in these lines.