

УДК 576.37

UDC 576.37

**ХАРАКТЕР КОНЬЮГАЦИИ ХРОМОСОМ В МКП У МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ  $F_1$  РАСТЕНИЙ ТОМАТОВ****CHARACTER OF OF THE CONJUGATION OF CHROMOSOMES IN ANther MOTHER CELLS OF INTERSPECIFIC TOMATO  $F_1$  HYBRIDS**

Нековаль Светлана Николаевна  
научный сотрудник  
*Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, Краснодар, Россия*

Nekoval Svetlana Nikolaevna  
scientific worker  
*All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection, Krasnodar, Russia*

В статье дан анализ частоты и распределения хиазм у межвидовых гибридов  $F_1$  томата в профазе I мейоза. Установлен характер конъюгации в МКП у межвидовых гибридов  $F_1$  томата, подсчитано количество дистальных и интерстициальных хиазм. Отобраны образцы для рекомендации вовлечения их в селекционный процесс, в качестве индуктора генетической изменчивости

The analysis of frequency and distribution of chiasma of interspecific tomato  $F_1$  hybrids at meiosis prophase I was given. The character of synapsis in anther mother cells of interspecific tomato  $F_1$  hybrids was determined; the number of distal and interstitial chiasmata was calculated. The samples, recommended for their inclusion into the selection process as the inducer of genetic variability were chosen

Ключевые слова: ТОМАТ, ГИБРИД, МЕЙОЗ, БИВАЛЕНТ, ХИАЗМА

Key words: TOMATO, HYBRID, MEIOSIS, BIVALENT, CHIASMA

Мейоз у томата изучают в основном на материнских клетках пыльцы (МПК). Изучение протекания стадий мейоза и поведение хромосом томата достаточно хорошо изучены рядом авторов [1; 5; 7]. В нашей стране большой вклад в изучение цитологической характеристики томата принадлежит А. А. Жученко.

Томат имеет диплоидный набор хромосом ( $2n=24$ ), хотя известны случаи проявления гаплоидов, полиплоидов, и трисомиков [1; 8; 12]. Хромосомы томатов сравнительно мелкие ( $3\mu$ ). Мейоз у томата протекает классически, в течение 3 – 4 дней и зависит от температуры окружающей среды. Оптимальная температура  $+25^\circ\text{C}$ . Значительно замедляется и тормозится этот процесс при температурах ниже  $+10^\circ\text{C}$  и выше  $+27^\circ\text{C}$  [1; 2].

В диакинезе у томата образуется 12 бивалентов, которые соединены одной или двумя хиазмами. Биваленты кольцевидной формы имеют две терминальные хиазмы, открытые – одну терминальную хиазму, в виде восьмерок – одну терминальную хиазму, другую интерстициальную, и X

образные, имеют одну интерстициальную хиазму. Частота хиазм, а так же коэффициент их терминализации зависит от сортов и генетической неоднородности этих сортов (видов). Принято считать, что хиазмы — это цитологическое следствие кроссинговера, морфологически отражающее обмен участками между гомологичными хромосомами. Хиазмы точно соответствуют физическим перестройкам несестринских хроматид и образуются только в тех бивалентах, где перед этим формируется синаптонемный комплекс. Частота и распределение хиазм генетически контролируемые признаки. Они постоянны для вида и могут изменяться лишь при влиянии генетических факторов или условий окружающей среды [1; 3;8].

Цель наших исследований провести анализ частоты и распределения хиазм у межвидовых гибридов  $F_1$  томата в профазе I мейоза.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить характер образования хиазм в МКП у межвидовых гибридов  $F_1$  томата в профазе I мейоза;
2. Подсчитать число бивалентов у межвидовых гибридов  $F_1$  томата в профазе I мейоза;
3. Установить наличие интерстициальных хиазм в МКП гибридов  $F_1$  растений томата.

### **Материалы и методы**

Работу выполняли в лаборатории «Изучения и поддержания генетической коллекции томатов» ГНУ ВНИИ БЗР (2007 – 2010 гг).

Исследования проводили на межвидовых гибридах  $F_1$  растений томатов: Мо500 x *Lycopersicon esculentum* var. *pimpinellifolium* (Mill.) Bezh., Мо500 x *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (A.Gray) Brezh., Мо500 x *Lycopersicon cheesmanii typicus* Riley, Мо393 x *Lycopersicon esculentum* var. *pimpinellifolium* (Mill.) Bezh., Мо393 x *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* (A.Gray) Brezh., Мо393 x *Lycopersicon cheesmanii typicus* Riley.

Растения выращивали в климокамерах, с заданными параметрами, оптимальными для вегетации растений томата. Для цитогенетической оценки использовали методику З.П. Паушевой [7]. Для анализа брали бутоны томата первых 3-х кистей.

Бутоны (размером 1-2 мм) срывали с куста и помещали в бюкс, заполненный фиксирующим раствором (ледяная уксусная кислота и этиловый спирт в соотношении 1:3). Через 5 часов промывали в трех сменах 80%-го спирта, оставляя в каждой на 1 час. Материал хранили в 80%-ом спирте в плотно закупоренной пробирке в холодильнике.

Для приготовления препарата бутоны промывали под проточной водой 15 мин, после чего из них выделяли пыльники. Пыльники помещали в 0,6 % раствор ферментов (целлюлаза – 0,2 %, мацераза – 0,2 %, пектиназа – 0,2 %) в цитратном буфере, рН = 4,0, и варили их на водяной бане 2 часа при температуре 37<sup>0</sup>С.

После варки вынимали по одному пыльнику и дробили на предметном стекле препаровальной иглой в капле 60 % уксусной кислоты. Полученную суспензию окаймляли фиксатором Карнуа и добавляли каплю фиксатора в центр суспензии. Через 2 – 3 сек. препарат ополаскивали в 96 % спирте.

Приготовленные постоянные препараты окрашивали в 2% растворе красителя Гимза, приготовленном в фосфатном буфере (рН = 6,8). Время экспозиции 25 мин. Прокрашенные стеклышки просушивали в течение 4 часов. Приготовленные препараты анализировали под микроскопом Olympus PN 2500

Частоту хиазм в материнских клетках пыльника (МКП) подсчитывали по схеме [9]: открытый бивалент - 1 хиазма, закрытый бивалент – 2 хиазмы. По расположению на биваленте различали дистальные и интерстициальные хиазмы (рис. 1).

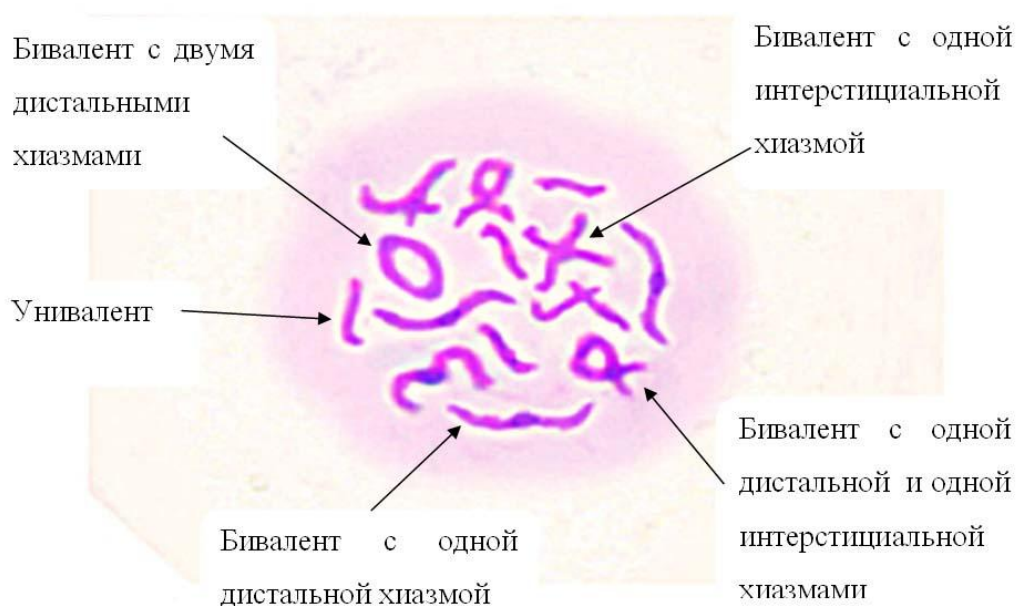


Рисунок 1– МПК на стадии диакинеза у гибрида  $F_1$  томата

### Результаты и обсуждение

Изучение МПК позволяет определить степень генетического родства скрещиваемых форм. Анализ частоты и распределения хиазм может быть использован для оценки потенциальной возможности определенных гибридных комбинаций передавать признаки от дикорастущего вида томата к культурному сорту. Чем выше конъюгация хромосом, при гибридизации, тем больше вероятность получить фертильное потомство с хозяйственно ценными признаками.

У 6 межвидовых гибридов  $F_1$  томата проведен сравнительный анализ частоты и распределения хиазм в МПК. Учитывая, что интенсивность и направленность процессов мейоза зависит от многих условий, складывающихся до его начала [3; 6;10; 11], растения томата выращивали в одинаковых условиях, оптимальных для произрастания. Все образцы оценены по универсальному методу учета интерстициальных, дистальных хиазм и их сочетания во всех 12 бивалентах (рис.2)

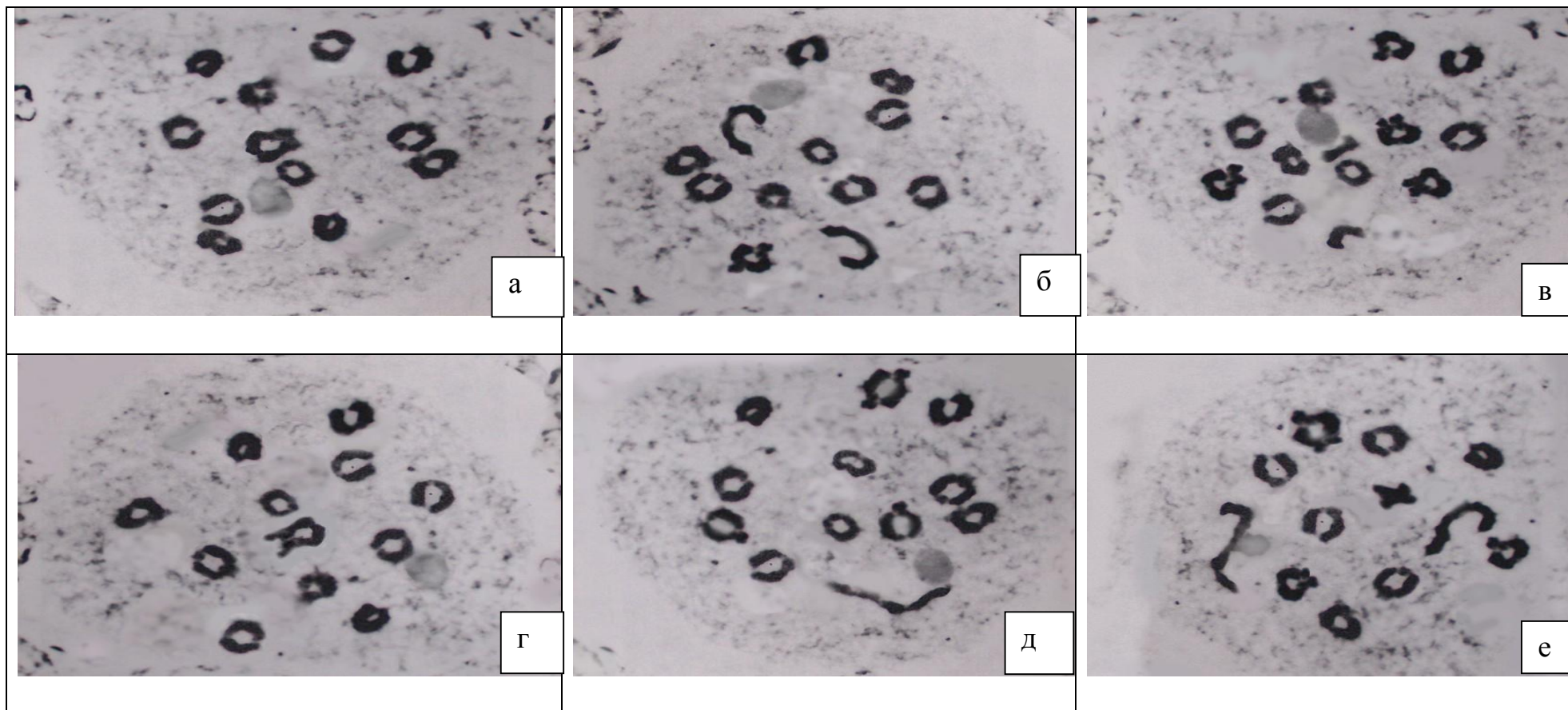


Рисунок 2– Конъюгация хромосом у гибридов  $F_1$  растений томата

Примечание: а) Мо 500 x *L. esculentum* var. *cerasiforme*,  $2n = 12^{\text{II}}_{\text{C}}$ ; б) Мо 500 x *L. esculentum* var. *pimpinellifolium*,  $2n = 2^{\text{II}}_{\text{O}}10^{\text{II}}_{\text{C}}$ ; в) Мо 500 x *L. cheesmanii* *typicus*,  $2n = 2^{\text{I}}11^{\text{II}}_{\text{C}}$ ; г) Мо 500 x *L. cheesmanii* *typicus*,  $2n = 2^{\text{I}}11^{\text{II}}_{\text{C}}$ ; д) Мо 393 x *L. esculentum* var. *pimpinellifolium*,  $2n = 1^{\text{II}}_{\text{O}}11^{\text{II}}_{\text{C}}$ ; е) Мо 393 x *L. cheesmanii* *typicus*,  $2n = 3^{\text{II}}_{\text{O}}9^{\text{II}}_{\text{C}}$ .

Анализ материнских клеток пыльника (МКП) на стадии диакинеза метафазы I показал, что большинство МКП у межвидовых гибридов  $F_1$  томата имели бивалентную конъюгацию хромосом. Присутствие уни- и мультивалентов не наблюдалось (табл.1).

Исключение составил гибрид Мо 500 x *L. cheesmanii typicus*, в МПК которого обнаружено 11 закрытых бивалентов и 2 унивалента (рис.2в).

Среднее число хиазм у анализируемых гибридов  $F_1$  варьировало от  $20,03 \pm 0,044$  до  $20,01 \pm 0,033$ . При этом частота дистальных хиазм превышала число интерстициальных у всех изученных гибридов растений томата (табл.2).

Гибриды  $F_1$  с отцовской формой *L. esculentum var. cerasiforme* имели наибольшую долю клеток с 12 закрытыми бивалентами: Мо 500 x *L. esculentum var. cerasiforme* – 0,969; Мо 393 x *L. esculentum var. cerasiforme* – 0,952. У этих образцов наблюдалось, и большее количество дистальных хиазм на МКП и составило  $24,03 \pm 0,022$  и  $23,11 \pm 0,021$  соответственно. Меньшее количество бивалентов, среди анализируемых образцов, отмечено у гибрида Мо 393 x *L. cheesmanii typicus*. У него наблюдалось 0,899 МПК с 9 закрытыми и 3 открытыми бивалентами. Такой характер конъюгации позволяет сделать предположение о степени близости геномов Мо 500 и Мо 393 с *L. esculentum var. cerasiforme* в филогенетическом аспекте.

По мнению некоторых авторов [1; 11; 12], при дистальном расположении большинства хиазм, все гены, расположенные в средней части хромосомы сохраняют исходный порядок, т.е. ведут себя как суперген. Частота интерстициальных хиазм в наибольшей степени характеризует потенциал генетической изменчивости. Проведенные А. А. Жученко [1] цитологические исследования позволили установить, что у низкоприспособленных гетерозигот  $F_1$  томата частота интерстициальных хиазм достоверно выше, чем у высокоприспособленных.

Таблица 1– Анализ нарушений в МПК на стадии диакинеза у межвидовых гибридов  $F_1$  томата

Гибрид $F_1$	Доля клеток с хромосомными ассоциациями					Всего, доля/шт
	$12^{\text{II}}_{\text{C}}$	$1^{\text{II}}_{\text{O}} 11^{\text{II}}_{\text{C}}$	$2^{\text{II}}_{\text{O}} 10^{\text{II}}_{\text{C}}$	$3^{\text{II}}_{\text{O}} 9^{\text{II}}_{\text{C}}$	$2^{\text{I}} 11^{\text{II}}_{\text{C}}$	
Mo 500 x <i>L. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>	0,969	0,029	0	0	0	1/562
Mo 500 x <i>L. esculentum</i> var. <i>pimpinellifolium</i>	0,001	0,034	0,960	0	0	1/428
Mo 500 x <i>L. cheesmanii</i> typicus	0	0,007	0	0	0,993	1/335
Mo 393 x <i>L. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>	0,952	0,036	0,012	0	0	1/467
Mo 393 x <i>L. esculentum</i> var. <i>pimpinellifolium</i>	0,009	0,964	0,027	0	0	1/366
Mo 393 x <i>L. cheesmanii</i> typicus	0	0	0,101	0,899	0	1/448

Примечание:  $n^{\text{I}}$  – унивалент;  $n^{\text{II}}_{\text{O}}$  – открытый бивалент;  $n^{\text{II}}_{\text{C}}$  – закрытый бивалент.

Таблица 2– Образование хиазм в МПК межвидовых гибридов  $F_1$  томата

Гибрид $F_1$	Хиазмы			
	Д.	И.	Д. / И.	Всего
Мо 500 x <i>L. esculentum</i> <i>var. cerasiforme</i>	24,03±0,022	-	24,03	24,00±0,032
Мо 500 x <i>L. esculentum</i> <i>var. pimpinellifolium</i>	20,11±0,025	2,01±0,062	10,00	22,01±0,033
Мо 500 x <i>L. cheesmanii</i> <i>typicus</i>	18,21±0,034	4,12±0,028	4,42	22,30±0,055
Мо 393 x <i>L. esculentum</i> <i>var. cerasiforme</i>	23,11±0,021	1,00±0,082	23,11	24±0,033
Мо 393 x <i>L. esculentum</i> <i>var. pimpinellifolium</i>	19,32±0,096	4,10±0,022	4,71	23,11±0,022
Мо 393 x <i>L. cheesmanii</i> <i>typicus</i>	16,00±0,012	4,01±0,056	4,01	20,03±0,044

Примечание: Д. – дистальные хиазмы, И. – интерстициальные хиазмы.

Большим количеством интерстициальных хиазм отмечены гибриды: Мо 500 x *L. cheesmanii typicus* (4,12±0,028), Мо 393 x *L. esculentum var. pimpinellifolium* (4,10±0,022) и Мо 393 x *L. cheesmanii typicus* (4,01±0,056) (табл.2).

В связи с этим данные образцы могут представлять интерес в селекционной практике при проведении гибридизации в качестве индуктора генетической изменчивости.

Нарушения в МПК на стадии диакинеза, обнаруженные в ходе цитологических исследований, не отразились на фертильности



пыльцы межвидовых гибридов  $F_1$  томатов и их способности давать фертильное потомство.

### **Выводы**

1. Анализ материнских клеток пыльника на стадии диакинеза метафазы I показал, что большинство МПК у межвидовых гибридов  $F_1$  томата характеризуются бивалентной конъюгацией хромосом.

2. Меньшее количество бивалентов в МПК, среди анализируемых образцов, отмечено у гибрида Мо 393 x *L. cheesmanii typicus* ( $16,13 \pm 0,012$ ).

3. Среднее число хиазм на геном у анализируемых межвидовых гибридов  $F_1$  растений томата варьировало от  $20,03 \pm 0,044$  до  $20,01 \pm 0,033$ .

4. У всех изученных межвидовых гибридов растений томата частота дистальных хиазм превышала число интерстициальных в 4,01 - 24,03 раза, что может свидетельствовать о близости их геномов.

5. Учитывая количество интерстициальных хиазм в МПК гибриды  $F_1$  Мо 500 x *L. cheesmanii typicus* ( $4,12 \pm 0,028$ ), Мо 393 x *L. esculentum var. pimpinellifolium* ( $4,10 \pm 0,022$ ) и Мо 393 x *L. cheesmanii typicus* ( $4,01 \pm 0,056$ ) можно рекомендовать использовать в селекционном процессе в качестве индуктора генетической изменчивости.

### **Список литературы**

1. Жученко А. А. Генетика томатов / А. А. Жученко. - Кишинев: Штиинца, 1973. - 664 с.
2. Брежнев Д. Д. Томаты / Д. Д. Брежнев. - М.: Гос. изд-во с.-х. лит., 1955. - 352 с.
3. Голубовская И. Н. Генетический контроль мейоза: автореф. дис. ... докт. биол. наук / И. Н. Голубовская. - Новосибирск, 1983. - 32 с.
4. Гуляев Г. В. Генетика / Г. В. Гуляев. - 3-е изд., перераб. и доп. - М.: Колос, 1984. - 351 с.: ил.
5. Иванова С. В. Мейоз. Лекция для студентов специальности 310600 «Селекция и генетика сельскохозяйственных растений» агрономического и плодоовощного факультетов / С. В. Иванова; Рос. гос. аграр. ун-т – МСХА им К. А. Тимирязева. - М., 2006. - 46 с.

6. Любимова В. Ф. Вопросы стерильности и пониженной фертильности гибридных растений / В. Ф. Любимова // Отдалён. гибридизация растений: сб. - М.: Изд-во АН СССР, 1960. - С. 140-152.
7. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. –3-е изд. перераб. и доп. - М.: Колос, 1980. – 304 с.: ил.
8. Цаценко Л. В. Цитология: учеб. пособие / Л. В. Цаценко. - Краснодар: КубГАУ, 2007. - 156 с.
9. Ячевская Г. Л. Особенности мейоза при отдаленной гибридизации: учеб. пособие / Г. Л. Ячевская, С. В. Иванова, А. А. Наумов. - М.: Изд-во МСХА, 1990. - 81 с.
10. Moore K. Influence of climate on a population of tetraploid spring rye / K. Moore // Hereditas. - 1963. - Vol. 49/50. - P. 269-305.
11. Pao W. K. Desynapsis and other abnormalities induced by high temperature / W. K. Pao, H. W. Li // J. Genet. - 1948. – N. 48. - P. 287-310.
12. Rick C M. Differential zygotic lethality in a tomato species hybrid / C. M. Rick // Genetics. – 1963. – Vol. 48 (11). – P. 1497-1507.