

МОНТВІД П.Ю.

Інститут овочівництва і багаторічності УААН,

Україна, 62478, п/в Селекційне Харківського р-ну Харківської обл., e-mail: montvid@mail.ru

ОСОБЛИВОСТІ МЕЙОЗУ У ГІБРИДІВ F₁ КАВУНА З РІЗНОЮ ОНТОГЕНЕТИЧНОЮ ПРИСТОСОВАНІСТЮ

Актуальною проблемою сучасної екологічної генетики є зв'язок онтогенетичної пристосованості гібридів F₁ й спектру генотипної мінливості в їх потомствах [5]. Вказана проблема, незважаючи на певні успіхи в її дослідженні, залишається дискусійною. Певний крок до її розв'язання був зроблений Жученко О.О. у вигляді гіпотези „про буферуючу роль високої онтогенетичної пристосованості в процесі вивільнення додаткового спектру генотипної мінливості”, яку було підтверджено на ряді рослинних об'єктів [3]. Так, в потомствах низькопристосованих гібридів F₁ томата було встановлено зростання частоти трансгресій за основними господарсько-цінними ознаками, дібрано нові нетрадиційні форми з гронovidною китицею та високою врожайністю [12]. Для цього виду показано тісний зв'язок ступеня онтогенетичної пристосованості з гетерозисом [13]. Аналогічний ефект виявлено для перцю солодкого й баклажана. В даному випадку описано існування істотних відмінностей між потомствами високо- й низькопристосованих гетерозигот, одержаними з насіння плодів різних ярусів їх вертикальної закладки на рослинах F₁ [11, 15].

Не менш важливим є дослідження генетичних механізмів, які призводять до формування різноякісної мінливості кількісних ознак в потомствах даних гібридів. Так, у гетерозигот F₁ томата з низькою онтогенетичною пристосованістю виявлено підвищення частоти рекомбінації, що підтверджено при аналізі кросинговеру як в маркірованих локусах, так і на рівні прояву хіазм [12]. У низькопристосованих гібридів F₁ томата і баклажана, на відміну від високопристосованих, частота порушень мейозу залишалася високою на стадіях II поділу, що свідчить про знижену ефективність роботи ферментів системи репарації пошкоджень [11, 14]. Інша гіпотеза пояснює утворення нетрадиційних рекомбінантів за рахунок зниження точності кросинговеру, зростання частоти обмінних порушень та зменшення інтерференції кросоверних обмінів [8]. Не виключено також існування залежності активності ряду ключових ферментів від пристосованості в онтогенезі внаслідок змін експресії структурних генів, що також впливає на процеси філогенетичної адаптації [7]. Протилежний результат – позитивний зв'язок між проявом гетерозису за господарсько-цінними ознаками й частотою хіазм виявлено для бобів овочевих [19].

Проте, цитогенетичні механізми перетворення потенційної генотипної мінливості в доступну у перехреснозапильних рослин залишаються дослідженими недостатньо.

Метою роботи було дослідження перебігу мейозу у гібридів F₁ кавуна з різною онтогенетичною пристосованістю.

Матеріали і методи

Дослідження проводили в 2006 – 2008 рр. Гібриди F₁ кавуна (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai., 2n = 22), люб'язно надані селекціонером Сергієнко О.В., одержували за загальноприйнятою методикою гібридизації з кастрацією нерозкритих жіночих квіток [1]. Набір з 7 гібридів F₁ (з них 6 одержаних на основі однієї материнської форми й 1 - Обрій F₁ – стандарт, внесений до реєстру сортів і гібридів України) щорічно оцінювали за ступенем онтогенетичної пристосованості за методикою [10], модифікованою нами для кавуна. Згідно з цією методикою, гетерозиготні рослини вирощували в посудинах Вагнера [2] (об'єм ґрунту 5 л) в умовах зниженої вологозабезпеченості (на рівні 45 % від повної вологоємності ґрунту) і підвищеної густоти (3 × 3 см) за схемою бджолиних сот, як забезпечувала однакове оточення рослин однієї комбінації схрещування іншими гібридами. Кожна посудина містила до 40 рослин, по 5-7 рослин окремої гібридної комбінації. Повторність вегетаційного досліду – шестикратна. При досягненні рослин усіх гібридних комбінацій стадії мейозу визначали ступінь онтогенетичної пристосованості гібридів F₁ на основі оцінки за морфо –

статистичними параметрами (висота рослини, маса рослини, кількість листків, кількість пуп'янків). Оцінка на даному етапі обумовлена тим, що конкурентоздатність на ранніх стадіях розвитку тісно й позитивно корелює з продуктивністю, життєздатністю, стійкістю щодо окремих несприятливих чинників та іншими показниками, які визначають пристосованість генотипів в онтогенезі [18, 20]. Серед набору з 7 F₁ ідентифікували гібридні комбінації з найбільшими та найменшими значеннями досліджуваних ознак, як високо- та низькопристосовані. Контрольні рослини вирощували в оптимальних умовах скляної теплиці. Пуп'янки чоловічих квіток розміром 1 мм фіксували в фіксаторі Кларка (суміш абсолютного етанолу та льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1), зберігали в 70% етанолі. Частоту хіазм, обмінних порушень (окремо мостів і фрагментів), кількість нетипових бівалентів на мейоцит визначали на тимчасових оцтокармінних препаратах пиляків, які перед фарбуванням витримували протягом 1 години в 4% залізоамонійному галуні [4]. Досліджували 5 рослин кожної гібридної комбінації. Цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики. Достовірність різниці між варіантами контролю та досліду для показників частоти хіазм і кількості нетипових бівалентів визначали з урахуванням t-критерію Стьюдента, для частоти мостів і фрагментів – за формулою Фішера для долів варіант [6].

Результати та обговорення

Зростання сумарної частоти хіазм в несприятливих умовах відбувалося у рослин низькопристосованих комбінацій схрещування як правило, за рахунок збільшення частоти інтерстиціальних хіазм. Частота термінальних хіазм залишалась незмінною у високопристосованих гібридів в несприятливих умовах зменшувалась частота термінальних хіазм, в окремих випадках – інтерстиціальних або сумарна. В цілому, кількісні ознаки рослин F₁, які характеризують їх пристосованість, й цитологічні параметри мейозу в несприятливих конкурентних умовах корелювали достовірно й негативно.

Для низькопристосованих гібридів F₁ закономірним було зростання частки мостів в несприятливих умовах конкуренції та зниженого вологозабезпечення. У рослин високопристосованих гетерозигот мости були відсутні взагалі, лише в окремих випадках їх частка достовірно зростала або не змінювалась. Таких закономірностей не виявлено для прояву фрагментів в анафазі I. Нетипові біваленти були наявні в мейозі також виключно у даної категорії гетерозигот, проте лише в двох випадках. В цілому, відмінності між низько – і високопристосованими гібридами F₁ кавуна полягали в істотному зростанні частоти мостів, хіазм в умовах конкуренції та зниженого вологозабезпечення й утворенні нетипових бівалентів.

З іншого боку, кросинговер у гібридів з низькою онтогенетичною пристосованістю характеризується меншою точністю в несприятливих умовах середовища, про що свідчить зростання частоти мостів в анафазі I [10, 12]. Згідно з загальноприйнятою гіпотезою „розрив – з'єднання”, не виключено, що в даному випадку зростає частота розривів ДНК, які, в свою чергу, не репаруються, а також порушується процес розриву та з'єднання хроматид [15]. Низька частота аберацій, вочевидь, пов'язана з менш консервативною взаємодією гомологічних хромосом у гібридів з високою пристосованістю в онтогенезі. Як наслідок, зберігається цілісність хромосом, відсоток аберацій не збільшується, а частота й точність кросинговеру у гібридів з високою онтогенетичною пристосованістю не змінюється, що підтверджується на рівні сумарної частоти хіазм. Виявлені нами закономірності підтверджують і поглиблюють гіпотезу про менш ефективну роботу системи репарації пошкоджень у низькопристосованих гетерозигот, що відображується на процесі кросинговеру [13].

Слід зазначити, що встановлена нами наявність нетипових бівалентів (які мають три хіазми) у гібридів з низькою онтогенетичною пристосованістю свідчить про зниження інтерференції хіазм (більш випадковий їх розподіл), що може призводити до формування нетрадиційних рекомбінантів в наступних поколіннях [8].

Одержані результати в цілому узгоджуються з даними, отриманими нами раніше для баклажана, проте у кавуна в несприятливих умовах, на відміну від баклажана, частота фрагментів не змінюється [9]. Можливо, це пов'язано з видовими особливостями мейозу й перехресним запиленням.

Таким чином, не виключено, що умовою для формування нового спектру рекомбінантів, який може спостерігатися в потомствах гетерозигот з низькою онтогенетичною пристосованістю, є зростання сумарної частоти обмінів, їх перерозподіл в межах бівалента, у тому числі в „заборонені зони” та більш випадковий розподіл в межах окремого мейоциту, а також зниження точності кросинговеру.

Відомо, що завдяки кросинговеру можуть утворюватися нові, у тому числі адаптивні, генні варіанти, трансгресії [16], тобто, даний процес є одним з важливих складових генетичної адаптації [17]. Таким чином, одержані нами результати свідчать про існування еволюційно-відпрацьованого генетичного механізму виживання рослинних видів в несприятливих умовах середовища й в цілому підтверджують гіпотезу О.О. Жученка ”про буферуючу роль високої онтогенетичної пристосованості в процесі вивільнення додаткового спектру генотипної мінливості”.

Висновки

У гібридів F_1 кавуна виявлено залежність цитогенетичних параметрів, що характеризують кросинговер, від онтогенетичної пристосованості. Відмінності між низько – і високопристосованими гібридами F_1 кавуна полягали в істотному зростанні частоти обмінних порушень (мостів) та хіазм в умовах конкуренції та зниженого вологозабезпечення й утворенні нетипових бівалентів. Встановлені закономірності свідчать про існування еволюційно-відпрацьованого механізму перетворення генетичної мінливості, спрямованого на виживання рослинних видів в несприятливих умовах середовища.

Література

1. Боос Г.В., Бадина Г.В., Буренин В.М. Гетерозис овощных культур. - Москва: Агропромиздат, 1990.-223 с.
2. Гончаренко В.Ю., Бондаренко Г.Л., Белік В.П. Основи дослідної справи // Методика дослідної справи в овочівництві і баштанництві. - Харків: Основа, 2001.- С. 5-29.
3. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений.- Кишинев: Штиинца, 1980. - 586 с.
4. Жученко А.А., Грати В.Г., Андрющенко В.К., Грати М.И. Индуцирование хромосомных перестроек и локализация генов контролирующих некоторые хозяйственно – ценные признаки в геноме томатов // Изв. АН Молдавской ССР. Сер. Биол. и хим. наук. – 1980. - № 4. – С. 24 – 30.
5. Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции.- М.: Наука, 1985. - 400 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
7. Левчук Л.В., Тоцький В.М. Заміщення хромосом і пристосованість *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32, № 2. – С. 42 – 48.
8. Лисовская Т.П. Влияние почвенной засухи на рекомбинацию и селективную элиминацию у томата: Автореф. дис... канд. биол. наук. - Санкт-Петербург, 1994.- 19 с.
9. Монтвід П.Ю. Особливості кросинговеру у гібридів F_1 баклажана (*Solanum melongena* L.) з різною онтогенетичною пристосованістю // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер. Біологія. 2006. – Вип. 1. – С. 96 – 103.
10. Монтвід П.Ю., Самовол О.П. Розподіл частоти хіазм за ярусами вертикальної закладки генеративних органів у гібридів F_1 баклажана з різною онтогенетичною пристосованістю // Біологія і валеологія. – 2002. – Вип. 5.- С. 88 – 94.
11. Монтвід П.Ю. Зависимость характера спектра количественной изменчивости в F_2 от ярусности вертикальной закладки плодов у гетерозигот F_1 баклажана // Вісник проблем біології і медицини. – 2002, № 7- 8. – С. 42 – 47.

12. Самовол О.П. Генетичний потенціал видів родів *Capsicum* L. и *Lycopersicon* T. та шляхи розширення спектру генотипової мінливості: автореф. дис... д.с.-г.н. – К., 2004. – 35 с.
13. Самовол О.П., Зінченко Т.О., Виродова О.П., Данаїлов Ж., Кранчев Б. Нові підходи до оцінки гетерозисного ефекту у помідорів за продуктивністю // Овочівництво і баштанництво. – Вип. 40. – 1995. – С. 42 – 46.
14. Самовол А.П., Тярина В.С., Гарбуз Л.И. Влияние конкурентоспособности гибридов F₁ на воспроизводящую и преобразующую функцию мейоза // Тез. докл. конф. «Экологическая генетика животных и растений». – Кишинев: Штиинца, 1987. – С. 45-46.
15. Самовол А.П., Юрченко А.П., Монтвид П.Ю. Эффект вертикальной зависимости в проявлении характера высвобождения спектра генотипической изменчивости // Тез. докл. Международн. конф. «Селекция и семеноводство в XXI веке». – Москва, 2000. - С. 175 -176.
16. Смирнов В.Г. Цитогенетика. – М.: Наука, 1991. – 247 с.
17. Тоцький В.М. Генетика. – Одеса: Астропринт, 2002. – 712 с.
18. Mumford L., Paule M. Competitive advantage of normal leaf morphotype in a population of *Pisum sativum* L. // Flora. – 1985. – Vol. 177, № 3-4. – P. 133 – 138.
19. Sriwastava H.K. Heterosis for chiasma frequency and quantitative traits in Common beans // Theor. Appl. Genetics. – 1980. – Vol. 56. – P. 25-29.
20. Tuscan G.A. Inherent differences in family response to inter – family competition in loblolly pine // Silvae genet. – 1986. - Vol. 35, № 2 – 3. – P. 112 – 118.

Резюме

Проведены исследования цитологических параметров мейоза у гибридов F₁ арбуза с разной онтогенетической приспособленностью. У растений низкоприспособленных гетерозигот выявлено повышение частоты хиазм, нетипичных бивалентов, мостов в анафазе I в экстремальных условиях. Сделан вывод о снижении точности кроссинговера у гибридов с низкой онтогенетической приспособленностью.

Проведено дослідження цитологічних параметрів мейозу у гібридів F₁ кавуна з різною онтогенетичною пристосованістю. У рослин низькоприспособлених гетерозигот виявлено зростання частоти хіазм, нетипових бівалентів, мостів в анафазі I в екстремальних умовах. Зроблено висновок про зниження точності кросинговеру та інтерференції обмінів у гібридів з низькою онтогенетичною пристосованістю.

There are conducted investigations of meiosis cytological in watermelon F₁ hybrids with different ontogenetical fitness. In plants of low-fitted heterozygotes there are revealed the frequency of chiasma, untypical bivalents, bridges in the anaphase I under extreme conditions. The conclusion is drawn about reduction of exchanges of crossing-over in hybrids with low ontogenetical fitness.

МУРАВЕНКО О.В.

*Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН,
Москва 119991 ул.Вавилова 32, тел.1359792, e-mail: chrom@eimb.ru*

ПОВЫШЕНИЕ РАЗРЕШАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ АНАЛИЗА КАРИОТИПОВ МЕЛКОХРОМОСОМНЫХ РАСТЕНИЙ

Эволюция видов неразрывно связана с изменчивостью генома, поэтому изучение молекулярной и хромосомной организации геномов позволяет понять ее закономерности [1]. Первой ступенью в изучении геномов является точная идентификация хромосом – дискретных частей единого генетического целого. Для растений, геном которых богат повторяющимися последовательностями ДНК, а размеры хромосом в кариотипе более 5 мкм, анализ хромосом по рисункам С-дифференциального окрашивания, обычно, не