

Increasing the ionizing and UV-B irradiation effected on vegetative and generative meristems causes of apoptosis activation and decreasing of aberration number. This may be resulted by the cell competition.

**ЛЮСИКОВ О. М., ГОРДЕЙ И. А.**

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,*

*Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: O.Lyusikov@igc.bas-net.by*

## **ХРОМОСОМНАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕНОМА РЖАНО-ПШЕНИЧНЫХ АМФИДИПЛОИДОВ СЕКАЛОТРИТИКУМ ( $\times$ SECALOTRITICUM)**

Наибольшее биоразнообразие достигается при интрогрессии нового генетического материала в больших объемах – отдаленной гибридизации, аллополиплоидии, хромосомной и геномной реконструкции видов. Отдаленная гибридизация служит пусковым механизмом активации молекулярно-цитогенетических коадаптивных процессов, у аллополиплоидов и хромосомно-замещенных форм создается дополнительный резерв генетической изменчивости видов за счет увеличения полиморфизма собственных хромосом и множественных межгеномных рекомбинаций и хромосомных перестроек. Поэтому особое значение имеют эволюционные, цитогенетические и молекулярные исследования закономерностей реконструкции гибридных геномов с целью разработки эффективных способов ускорения их коадаптивных генетических модификаций.

### **Материал и методы**

Материалом для исследований служили сорта тетраплоидной озимой ржи, гексаплоидных озимых тритикале, озимой мягкой пшеницы и созданные на их основе формы гексаплоидных ржано-пшеничных амфидиплоидов - секалотритикум и ржано-пшеничные хромосомно-замещенные линии.

Результаты изучения признаков морфотипа и морфобиологических параметров продуктивности (кустистость и высота растения, длина, число колосков, количество и масса зерен главного колоса, урожайность) статистически оценивали соответственно анализом вариации по качественным и количественным признакам; достоверность средних определяли по критерию Стьюдента ( $t$ ), влияние отдельных факторов на анализируемые признаки - по критерию Фишера ( $F$ ) [1].

Цитологический анализ мейоза проводили на окрашенных ацетокармином давленных препаратах пыльников. Кариотипический анализ проводили с применением С-метода дифференциальной окраски хромосом [2]. Препараты анализировали на микроскопе Leica DM RXA2 с оптикой Leica PlanAPO.

### **Результаты и обсуждение**

Формы секалотритикум создавали путем гибридизации тетраплоидной ржи (RRRR,  $2n=28$ ) с гексаплоидными тритикале (AABBRR,  $2n=42$ ) и последующим 1-2-кратным беккроссированием полученных ржано-тритикальных пентаплоидных гибридов  $F_1$  (RRABR,  $5x=35$ ) на исходные тритикале [3, 4]. Использование тритикале как вида-посредника в качестве источника геномов пшеницы позволило преодолеть барьер односторонней прогамной несовместимости, препятствующей ржано-пшеничной гибридизации. Ржано-тритикальные скрещивания с участием тетраплоидной ржи характеризовались более высокой прогамной (~1,5%, до 12%) и постамной (~80%) совместимостью, чем с участием диплоидной (~0,7%, до 3,5% нежизнеспособных семян).

Мейоз ржано-пшеничных амфидиплоидов  $F_1 - F_1BC_{1-2}$  в условиях ржаной цитоплазмы характеризовался различными уровнями гомеологической конъюгации

хромосом в диакинезе, наличием асинаптических униввалентов и псевдоуниввалентов десинаптического происхождения, соответственно, различными типами их деления в АI мейоза и процессами элиминации хромосом. Выход ржано-пшеничных 42-хромосомных форм достигал 12-24% с возрастанием к более поздним поколениям беккрасса, среди них фертильные гексаплоидные ржано-пшеничные амфидиплоиды секалотритикум составляли 1-5%.

Теоретически в результате применения данного способа предполагали возможность возникновения А,В/R-замещенных форм секалотритикум, однако в эксперименте они не были обнаружены. Секалотритикум в F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub> достигали цитологической стабильности процессов мейоза, сравнимой с исходными тритикале и превышающей цитостабильность тетраплоидной ржи, а к F<sub>5-7</sub> превосходили исходные формы, имели всего ~3-8% аномальных мейотических клеток и более 90% фертильной пыльцы.

Кариотипический анализ с использованием С-метода дифференциальной окраски хромосом показал, что все выделенные стабильные формы секалотритикум являлись геномно-сбалансированными гексаплоидами и не имели замещений хромосом. Однако у ряда форм были отмечены новые мелкие интеркалярные С-блоки, которые могли быть отражением хромосомных перестроек (транслокаций), происходивших вследствие межгеномной рекомбинации хромосом или в результате гибридогенной активации миграций мобильных генетических элементов. Характерной особенностью модификаций генома секалотритикум первых поколений был полиморфизм гетерохроматиновых блоков, выражающийся в уменьшении их числа и размера в первую очередь у хромосом ржаного происхождения. Интенсивность и значительность таких перестроек между поколениями уменьшалась от F<sub>1</sub> к F<sub>7</sub>, однако в целом R-геном секалотритикум, вероятно, имеет тенденцию сохранять более выраженные гетерохроматиновые участки, чем тритикале. Этим объясняется отмеченная в ряде случаев у ржано-пшеничных амфидиплоидов гетероморфность структуры R-хромосом, вероятно, ржаного и тритикального происхождения.

Изучение признаков морфологии и продуктивности созданных секалотритикум показало наличие у них интенсивного формообразовательного процесса, положительное влияние ржаной цитоплазмы на жизнеспособность растений, сроки колошения и цветения, образование фертильной пыльцы [5], устойчивость к грибным болезням, зимостойкость. Секалотритикум в среднем были более высокорослы (на ~10 - 15 см), чем тритикале и имели более длинный колос при одинаковом среднем количестве колосков (рис. 1). По урожайности более половины созданных форм секалотритикум превосходили по урожайности исходные тритикале, а 15% форм превосходили контрольный сорт-стандарт Мiхась.

С целью увеличения генетического разнообразия созданного генофонда ржано-пшеничных амфидиплоидов применяли рекомбинационный синтез вторичных секалотритикум на основе скрещиваний секалотритикум с тритикале, позволяющий увеличить интенсивность рекомбинационных процессов и ускорить коадаптивную перестройку гибридного полигенома. Однако изучение секалотритикум-тритикальных рекомбинантов показало, что их изменчивость не выходила за рамки морфотипического разнообразия исходных форм секалотритикум. Поэтому для достижения наибольшего разнообразия генофонда и интрогрессии хозяйственно-ценных признаков качества зерна мягкой пшеницы нами была проведена хромосомная реконструкция генома секалотритикум путем создания ржано-пшеничных хромосомно-замещенных форм.



*Рисунок 1. Колос тритикале Мiхась (а) и секалотритикум типичного морфотипа (б)*

Ржано-пшеничные D/R-хромосомно-замещенные формы получали путем интрогрессивной гибридизации секалотритикум (RRAABB, 2n=42) с мягкой пшеницей (AABBDD, 2n=42) с последующим 1-2-кратным беккроссом (рис. 2) [6]. Для выделения линий производили отбор и самоопыление морфотипически стабильных фертильных форм F<sub>3-6</sub>BC<sub>1-2</sub>. Было показано, что для получения хромосомно-замещенных форм наиболее эффективен однократный беккросс секалотритикум-пшеничных гибридов на пшеницу или тритикале - последующие насыщающие скрещивания значительно уменьшали выход замещенных форм и способствовали цитологической стабилизации гибридов в геномно-сбалансированных вариантах секалотритикум или аллопшениц, не несущих хромосомных замещений. Относительно стабильные замещенные линии выщеплялись начиная с F<sub>3-5</sub>-поколений, а наибольшей фенотипической стабильности достигали к F<sub>8-9</sub>. Однако и после 1-3-кратного строгого самоопыления их цитологическая стабильность была значительно ниже исходных форм и 15-30% семей константно показывали фенотипическое расщепление. Отдельные D/R-хромосомно-замещенные сохраняли повышенную болезнеустойчивость исходных секалотритикум, но по продуктивности только одна из них была сравнима с тритикале Мiхась.

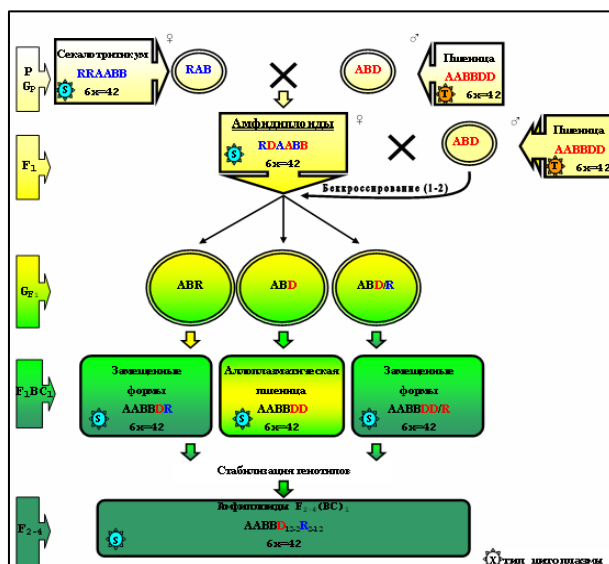


Рисунок 2. Синтез D/R-хромосомно-замещенных форм секалотритикум

С целью расширения спектра получаемых замещений хромосом нами был разработан новый метод создания A/B/D/R-ржано-пшеничных хромосомно-замещенных форм. Метод включает гибридизацию ржано-тритикальных пентаплоидных гибридов F<sub>1</sub> (RRABR, 5x=35) с мягкой пшеницей (AABBDD, 2n=42) с последующим 1-2-кратным беккроссом и основан на уникальной цитогенетической особенности ржано-тритикальных гибридов F<sub>1</sub> продуцировать широкий спектр функциональных гамет различного геномного и хромосомного состава (рис. 3).

С применением данного метода был получен широкий спектр A'/B'/D'/R'-промежуточных форм и выделены хромосомно-замещенные линии (1D/1A, 6D/6A, 1D/1R, 3D/3R, 4D/4R, 7D/7R, 1B/1R, гетерологичная 1A/7R линия).

Полученные формы характеризовались значительным фенотипическим разнообразием и высокой интенсивностью геномных и хромосомных перестроек. Цитологическая стабилизация хромосомно-замещенных форм была затруднена и в F<sub>9</sub> не достигала уровня исходных форм. Была выявлена тесная взаимосвязь степени аномальности АП мейоза

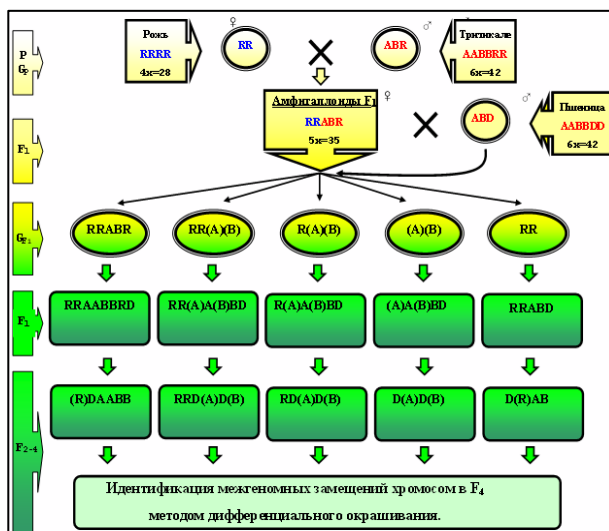


Рисунок 3. Синтез A/B/D/R-хромосомно-замещенных форм секалотритикум

(цитологической нестабильности мейоза) со стерильностью пыльцы ( $r=0,97$ ) и колоса ( $r=0,81$ ).

Фенотипически семьи ржано-пшеничных хромосомно-замещенных форм расщеплялись в  $F_{1-8}$ -поколениях. Среди большого многообразия полученных растений по морфологическим признакам колоса было выделено 6 основных морфотипов (рис. 4), среди каждого из которых встречались остистые и безостые формы.

Предложенный способ создания A/B/D/R-хромосомно-замещенных форм секалотритикум позволил значительно расширить спектр получаемых замещений. Однако было установлено, что по признаку межвидовой совместимости скрещивания ржано-тритикальных гибридов  $F_1$  с пшеницей, как и прямые ржано-пшеничные скрещивания, характеризовались односторонней прогамной несовместимостью (завязываемость  $\sim 0,1-0,01\%$ ), которая выступала основным лимитирующим фактором эффективности метода и поэтому необходим поиск способов ее преодоления.



**Рисунок 4.** Морфотипы колосаржано-пшеничных хромосомно-замещенных форм: спельтоидный (а), тритикальный (б), секалотритикум (в), верхнеостистый (г), растопыренный (д), пшеничный (е).

### Выводы

Таким образом, при создании методом отдаленной интрогрессивной гибридизации и аллополиплоидии ржано-пшеничных амфидиплоидов и ржано-пшеничных хромосомно-замещенных форм реконструкция генома секалотритикум происходит путем рекомбинаций, внутри- и межгеномных хромосомных перестроек и межгеномных гомеологичных и гетерологичных замещений хромосом. Эти процессы активируются актом отдаленной гибридизации и их интенсивность постепенно снижается в ряду поколений - до  $F_8$  у эуплоидных секалотритикум, но остается еще относительно высокой в  $F_9$  у хромосомно-замещенных линий. Уровень структурного полиморфизма хромосом полигенома повышался в ряду: стабильные секалотритикум - исходные формы тритикале и ржи - первичные секалотритикум - хромосомно-замещенные линии - фенотипически и цитологически нестабильные формы ржано-пшеничных амфидиплоидов.

Работа финансировалась БРФФИ №Б06-013 и ГНТП "Промышленные биотехнологии".

### Литература

1. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Мн., Вышэйш. школа, 1973. 319 с.
2. Iordansky A. B., Zurabishvili T. G., Badaev N. S. Linear differentiation of cereal chromosome // Theor. Appl. Genet.. - 1978. - V.51: № 1. - P. 145-152; № 2. - P. 281-288.
3. Люсигов О.М., Белько Н. Б., Щетько И.С., Гордей И.А. Создание ржано-пшеничных амфидиплоидов с цитоплазмой ржи - секалотритикум (RRAABB,  $2n=42$ ): особенности мейоза у ржано-тритикальных гибридов  $F_1$  (RRABR,  $5x=35$ ) // Генетика. 2005. Т. 41. № 7. С. 902 - 909.
4. Люсигов О.М., Гордей И.А., Быченко А.П., Белько Н.Б., Щетько И.С. Цитогенетический анализ формирования генома секалотритикум (xSecalotriticum) // III Международная научная конференция "Факторы экспериментальной эволюции организмов", г. Алушта, 25-28 сентября 2006 г. Київ, ЛОГОС, 2006. Т.3, с. 28-34.

5. Белько Н.Б., Гордей И.А., Хохлова С.А., Люсиков О.М. Морфобиологические особенности ржано-тритикальных амфигаплоидов F<sub>1</sub> // Весці Нац. Акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. 2000. № 3. С. 60-63.
6. Гордей И.А., Белько Н.Б., Хохлова С.А., Люсиков О.М., Галалюк Н.Ф. Цитогенетический анализ формирования и реконструкции кариотипа секалотритикум // Международная конференция по молекулярной генетике и биотехнологии: Мат. Междунар. конф. “Молекулярная генетика и биотехнология” – Беларусь, Минск. Апрель 6 – 8. 1998. С. 161 – 163.

#### **Резюме**

Обсуждаются пути и результаты изучения цитогенетических процессов формирования и реконструкции генома ржано-пшеничных амфидиплоидов с цитоплазмой ржи – секалотритикум в связи с повышением изменчивости, расширением генофонда, созданием ржано-пшеничных хромосомно-замещенных форм и межвидовой интродукцией хозяйственно-ценных признаков.

Ways and results of studying cytogenetic processes in formation and reconstruction of rye-wheat amphidiploid genome with rye cytoplasm – secalotriticum are discussed in view of increasing variability, broadening gene pool and developing rye-wheat chromosome-substitution forms and interspecific introgression of agronomic traits.

#### **РУБАН Ю.Д.**

*Харьковская государственная зооветеринарная академия,  
Украина, 62341, п/о Малая Даниловка, Харьковская обл., ул. Академическая 7/9*

### **ЭВОЛЮЦИЯ ПОРОД ЖИВОТНЫХ В СИСТЕМЕ ПЛЕМЕННОЙ РАБОТЫ**

Слова Н.И. Вавилова о том, что «сама селекция домашних животных, так же как и растений, по существу представляет собой экспериментальную эволюцию, но для того, чтобы управлять эволюцией, необходимо историческое понимание действия эволюции» [1, С.9] не потеряли своей актуальности и сегодня. Особое значение они имеют для животноводства, когда методы селекции должны глубже учитывать направление эволюционного процесса, знать происхождение изменения в типе пород животных. Макро- и микроэволюционные процессы дают возможность учесть такие изменения.

#### **Материалы и методы**

Материалом послужил для изучения макроэволюционных процессов вид собственного крупного рогатого скота за 220 млн. лет на основе данных палеонтологии, для изучения микроэволюционных процессов – основные породы скота за всю историю их существования. Методом исследования стал исторический, который был обоснован в биологии К.А. Тимирязевым в конце XIX в. и впервые опубликован в 1933 г. уже после смерти ученого [2].

#### **Результаты и обсуждение**

В результате макроэволюционных процессов у полорогих возникла хорошая способность к добыванию и возможно более полному использованию корма, а также защиты от хищников. Возможность хорошей защиты от хищников была связана со значительным ростом и применением в качестве орудия защиты рогов, а полное использование имеющегося корма – с развитием жвачки и рубцового пищеварения.

Развитие в процессе эволюции у жвачных четырехкамерного желудка позволило им использовать труднопереваримые объемистые корма и способствовало формированию желудочно-кишечного типа пищеварения, при котором основная часть