

ТРУБАЧЕЕВА Н.В., ПЕРШИНА Л.А.

Институт цитологии и генетики СО РАН

Россия, г. Новосибирск, пр-т Лаврентьева 10, e.mail:natas@bionet.nsc.ru

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЯДЕРНЫХ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ
ГЕНОМОВ В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ
АЛЛОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ
T. AESTIVUM L. (2n=42), НЕСУЩИХ ЦИТОПЛАЗМУ
ДИКОРАСТУЩЕГО ЯЧМЕНЯ *H. MARINUM* SUBSP.
GUSSONEANUM HUDSON (2n=28)**

Отдаленная гибридизация и аллополиплоидизация лежат в основе видообразования многих покрытосеменных растений (Soltis, 2000). Кроме того, отдаленная гибридизация способствует переносу генов между видами без изменения их таксономической принадлежности (Rieseberg et al., 2007). Такой механизм, называемый интрогрессивной гибридизацией, способствует увеличению генетического разнообразия в природных популяциях, а в экспериментальных условиях — для создания селекционно-ценных форм культурных растений. В результате отдаленной гибридизации происходит не только реорганизация ядерных геномов, но и нарушение ядерно-цитоплазматических взаимоотношений, что в свою очередь оказывает влияние на жизнеспособность, фертильность и на проявление адаптивных признаков растений (Asakura et al., 2000; Atienza et al 2007). В связи с этим представляется актуальным одновременное исследование особенностей ядерных и цитоплазматических геномов в процессе формообразования у отдаленных гибридов. Целью данной работы было сравнительное изучение ядерных и митохондриальных геномов у беккроссных потомков гибридов между дикорастущим ячменем *H. marinum* subsp. *gussoneanum* и мягкой пшеницей *T. aestivum* в процессе формирования аллоплазматических линий мягкой пшеницы.

Материалы и методы

Изучены аллоплазматические линии, сформированные на основе самоопыленных потомков BC₁–BC₄ поколений ячменно-пшеничных гибридов *H. marinum* subsp. *gussoneanum* Hudson (2n=28) x *T. aestivum* L. (Пиротрикс 28) (2n=42) (Першина и др., 2006). Линии разделялись на эуплоидные (2n=42) и анеуплоидные (2n=40+2t; 2n=40+4t) и различались по проявлению фертильности. В таблице представлены данные о происхождении изученных линий. Использованы следующие методы анализа: геномная *in situ* гибридизация (GISH), ПЦР-анализ со специфическими праймерами к участку, фланкирующему 5'-конец 18S/5S повтора мтДНК злаков, ОТ-ПЦР 18S/5S повтора.

Результаты и обсуждение

Геномная *in situ* гибридизация (GISH). С помощью геномной гибридизации *in situ* был определен хромосомный состав аллоплазматических линий (*H. marinum* subsp. *gussoneanum*)-*T. aestivum*. Было обнаружено, что аллоплазматические линии могут содержать наряду с хромосомами мягкой

пшеницы хромосомы дикорастущего ячменя в замещенном или дополненном состоянии, или содержать только хромосомы пшеницы. Так, у линий, полученных от растений BC_1 -поколения, обнаружено либо замещение трех пар хромосом пшеницы на три пары хромосом ячменя (геномная формула $2n=36w+6b$ (w — wheat, b — barley), либо замещение одной пары хромосом пшеницы на одну пару хромосом ячменя ($2n=40w+2b$) (табл.). На основе BC_1 , BC_2 и BC_4 -поколений также выделены аллоплазматические дисомно замещенные линии. Кроме того, отдельные растения BC_2 - BC_3 -поколений стали источниками линий с замещением пары хромосомы пшеницы на телоцентрические хромосомы дикорастущего ячменя — $2n=40w+2tb$, а растения BC_1 -поколения — линий с дополнением одной или пары телоцентрических хромосом, $2n=42w+1tb$, $2n=42w+2tb$.

В то же время у некоторых эуплоидных линий BC_2 и BC_4 -поколений выявлено присутствие только хромосом мягкой пшеницы. Жизнеспособность и фертильность 42-хромосомных растений, содержащих наряду с хромосомами мягкой пшеницы и хромосомы дикорастущего ячменя, свидетельствует о компенсационной способности хромосом этого вида ячменя по отношению к гомеологичным хромосомам мягкой пшеницы.

Таблица

Происхождение и характеристики использованных в работе образцов аллоплазматических линий (*H. marinum* subsp. *gussoneanum*)-*T. aestivum*.

| Происхождение линий | Геномная формула | Тип 18S/5S повтора | Проявление фертильности растений |
|--|------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| $BC_1F_{10}:[(mar \ x\Pi)x\Pi]F_{10}$ | $2n=40w+2b$ | гетероплазмия | частично фертильные |
| $BC_1F_{10}:[(mar \ x\Pi)x\Pi]F_{10}$ | $2n=34w + 6b$ | гетероплазмия | частично фертильные |
| $BC_2F_{9,11}:[(marx\Pi)x\Pi^2]F_{9,11}$ | $2n=40w+2b$ | гетероплазмия | частично фертильные |
| $BC_2F_8:[(mar \ x\Pi)x\Pi xH]F_8$ | $2n=42w$ | гомоплазмия (пшеница) | полностью фертильные |
| $BC_3F_8:[(mar \ x\Pi)x\Pi xH^2]F_8$ | $2n=40w+2tb$ | гомоплазмия (ячмень) | стерильные |
| $BC_3F_8:[(mar \ x\Pi)x\Pi xH^2]F_8$ | $2n=40w+4tb$ | гетероплазмия | частично фертильные |
| $BC_4F_7:[(mar \ x\Pi)x\Pi xH^3]F_7$ | $2n=42w$ | гомоплазмия (пшеница) | полностью фертильные |
| $BC_1F_8, 9:[(mar \ x\Pi)Amx\Pi]F_8,9$ | $2n=42w+2tb$ $2n=42w+1tb$ | гетероплазмия | полностью фертильные |

Обозначения: *mar* — дикорастущий ячмень *H. marinum* subsp. *gussoneanum*, Π — сорт мягкой пшеницы *T. aestivum*, H — сорт мягкой пшеницы Новосибирская 67, Ам — амфиплоид, w — wheat, b — barley.

ПЦР и ОТ-ПЦР анализ митохондриального 18S/5S повтора мтДНК злаков. При изучении митохондриального 18S/5S повтора у аллоплазматических линий (*H. marinum* subsp. *gussoneanum*)-*T. aestivum* была обнаружена взаимосвязь между типом родительских последовательностей митохондриальной ДНК (мтДНК), хромосомным составом ядерного генома и фертильностью растений. Гетероплазмия (одновременное присутствие ячменных и пшеничных копий) и гомоплазмия (копии только одного из родителей) по ячменному типу была обнаружена у линий, содержащих в ядерном геноме хромосомы ячменя, гомоплазмия по пшеничному типу — только у тех линий, где хромосом ячменя найдено не было. Кроме того, тип гомоплазмии по тому или иному родительскому типу ассоциировал с проявлением фертильности. Так, полностью фертильные растения содержали только отцовские пшеничные копии мтДНК, полностью стерильные — материнские (ячменные). Гетероплазмия мтДНК была характерна как для частично, так и полностью фертильных растений, в геноме которых выявлены хромосомы дикорастущего ячменя. Изучение 18S/5S повтора, кодирующего 18S и 5S рРНК митохондрий, методом обратной транскрипции с последующей ПЦР показало, что у линий с гетероплазмией экспрессируются только материнские ячменные копии данного повтора. Этот результат согласуется с литературными данными, где была показана экспрессия только материнских копий различных митохондриальных локусов, находящихся в гетероплазматическом состоянии (Laser et al, 1997, Kitagawa et al, 2003). Как известно, транскрипция митохондриальных генов находится под контролем ядерного генома (Hedtke et al, 2000). По всей видимости, сложная структура ядерного генома, содержащего хромосомы разных видов, обуславливает не только гетероплазмия 18S/5S локуса, но и оказывает влияние на избирательную экспрессию родительских копий мтДНК.

Выводы

1. Образование аллоплазматических линий мягкой пшеницы *H. marinum* subsp. *gussoneanum*)-*T. aestivum* связано как с сохранением хромосом дикорастущего ячменя в замещенном или дополненном состоянии, так и с полной элиминацией хромосом ячменя из гибридного генома.

2. Тип родительских последовательностей 18S/5S повтора мтДНК у аллоплазматических линий (*H. marinum* subsp. *gussoneanum*)-*T. aestivum* ассоциирует с проявлением фертильности растений и наличием хромосом ячменя в ядерном геноме.

3. У аллоплазматических линий с гетероплазмией по 18S/5S повтору мтДНК наблюдается экспрессия только материнских ячменных копий.

4. Цитоплазма дикорастущего ячменя *H. marinum* subsp. *gussoneanum* не оказывает негативного действия на функционирование ядерного генома у аллоплазматических замещенных и дополненных линий мягкой пшеницы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 08-04-00598), Комплексного интеграционного проекта СО РАН, Программы Президиума РАН “Биоразнообразии и динамика генофондов”.

Литература

1. Asakura N., Nakamura C., Ohtsuka I. 2000. Homoeoallelic gene *Ncc-tmp* of *Triticum timopheevii* conferring compatibility with the cytoplasm of *Aegilops squarrosa* in the tetraploid wheat nuclear background. *Genome* 43: 503–511.
2. Atienza S.G., Martin A.C. et al. 2007. Effects of hordeum chilense cytoplasm on agronomic traits in common wheat. *Plant Breeding* 126: 5–8.
3. Baack, E.J., and L.H. Rieseberg. 2007. A genomic view of introgression and hybrid speciation.: *Current Opinion in genetics and Development* 17: 513–518.
3. Kitagawa K., Takumi S., Nakamura C. 2003. Selective transcriptional processing of the heteroplasmic mitochondrial *orf156* copies in the nucleus-cytoplasmic hybrids of wheat. *Plant Mol Biol* 53: 609–619.
4. Hedtke B., Borner T., Weihe A. 2000. One RNA polymerase serving two genomes. *EMBO Rep.* 1: 435–440.
5. Laser B., Mohr S. et al. 1997. Paternal and novel copies of the mitochondrial *orf25* gene in the hybrid crop-plant triticales: predominant transcriptional expression of the maternal gene copy. *Curr Genet* 29: 337–347.
6. Soltis P. S., Soltis D.E. 2000. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 7051–7057.
7. Першина Л.А., Трубочеева Н.В., Раковцева Т.С., Белова Л.И., Девяткина Э.П., Кравцова Л.А. Особенности формирования самофертильных эуплоидных линий (2n=42) в результате самоопыления 46-хромосомных растений ВС1-поколения ячменно-пшеничных гибридов *Hordeum marinum* subsp. *gussoneanum* Hudson (*H. geniculatum* All.) (2n=28) x *Triticum aestivum* L. (2n=42). *Генетика*. 2006. 42: 1683–1690.

Резюме

Проведено сравнительное изучение ядерных и митохондриальных геномов аллоплазматических линий, полученных при беккроссировании и самоопылении ячменно-пшеничных гибридов *H. marinum* subsp. *gussoneanum* x *T. aestivum*. Определен их хромосомный состав и выявлена взаимосвязь между организацией ядерных геномов, родительским типом 18S/5S повтора и проявлением фертильности растений.

The comparative study of nuclear and mitochondrial genomes of alloplasmic lines produced using backcrossing and self-pollination of barley-wheat hybrids *H. marinum* subsp. *gussoneanum* x *T. aestivum* have been performed. Chromosome composition of these lines and the correlation between nuclear genome organization, parental type of the 18S/5S mitochondrial repeat and fertility of plants were established.

**ШИЛИНА Ю.В.¹, ГУЩА Н.И.¹, ДЯЧЕНКО А.И.¹, МОЛОЖАВАЯ О.С.²,
МОРОЗ Ю.И.²**

¹Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Украина, 003680, Киев-143, ул. Заболотного, 148, e-mail: j.shilina@gmail.com

²Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Украина, 003022, Киев, пр. Глушкова, 2

ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ КАК НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ АДАПТИВНАЯ РЕАКЦИЯ

Известно, что бактерии и микромицеты, вызывающие заболевания у растений, в большинстве случаев способны выживать во внешней среде, а также достаточно долго сосуществовать с организмами-хозяевами, не