

П.Ю. МОНТВІД, О.П. САМОВОЛ,
В.П. МІРОШНИЧЕНКО
Інститут овочівництва і баштанництва НААН України,
п/в Селекційне, Харківська обл.
E-mail: montvid@mail.ru

ПЕРЕБІГ МЕЙОЗУ У МІЖВИДОВОГО ГІБРИДА *F₁ LYCOPERSICON ESCULENTUM MILL. × LYCOPERSICON CHILENSE DUN.*



Проведено дослідження перебігу мейозу у міжвидового гібрида *F₁ Lycopersicon esculentum Mill. (мутантна лінія Мо 638) × L. chilense Dun.*, одержаного шляхом ембріокультури, і його батьківських форм. У гібридних рослин виявлено зниження частоти хіазм, збільшення частоти унівалентів й порушень мейозу в порівнянні з батьківськими формами. Кількість унівалентів й відсоток основних порушень зменшувались із зростанням ярусу пуп'янка. Зроблено висновок про зв'язок регулярності мейозу у досліджених міжвидових гетерозиготних рослин *F₁ Lycopersicon esculentum × L. chilense* з гібридною природою генотипу й впливом чинників оточуючого середовища.

© П.Ю. МОНТВІД, О.П. САМОВОЛ, В.П. МІРОШНИЧЕНКО,
2011

Вступ. Одним з важливих методів створення вихідного матеріалу для селекції томата є міжвидова гібридизація, оскільки його дикорослі види й напівкультурні різновидності є носіями генів стійкості щодо біотичних і абіотичних чинників, високого вмісту в плодах біологічно цінних компонентів [1]. Проте, в ряді випадків інтрогресія господарсько цінних ознак в геноми культурних форм ускладнюється несумісністю [2]. Так, з культурним томатом практично не схрещуються філогенетично близькі між собою види *Lycopersicon peruvianum Mill.* і *Lycopersicon chilense Dun.* [2]. Останній є джерелом холодостійкості [3], високого вмісту аскорбінової кислоти й сухої речовини [2], стійкості до фузаріозу, вірусних хвороб [4]. З метою подолання несумісності використовують методи ембріокультури [5], соматичної гібридизації [6], посередника [7]. У гібрида *Lycopersicon esculentum Mill. × Lycopersicon chilense Dun.*, одержаного шляхом культури незрілих зародків, в пахітені й на більш пізніх стадіях мейозу не спостерігалось аномальної поведінки хромосом та інших порушень. Фертильність пилку була зниженою (на рівні 50 %), що не впливало на утворення плодів. Виявлені істотні відмінності розподілу кількісних ознак від нормального, які спостерігали в потомстві гібрида, автор пов'язує з конкуренцією пилкових трубок під час запилення – запліднення [5]. У соматичних гібридів *Lycopersicon esculentum Mill. × Lycopersicon peruvianum Mill.*, незважаючи на гексаплоїдний статус, спостерігалася в цілому аналогічна картина – розподіл конфігурацій хромосом мав випадковий характер, а кількість бівалентів на мейоцит була істотно більшою в порівнянні з мультивалентами. Частота хіазм на бівалент в порівнянні з батьківськими формами незначно знижувалась [6]. Таким чином, особливості перебігу мейозу в зв'язку з фертильністю пилку й плодоутворенням у гібрида *Lycopersicon esculentum Mill. × Lycopersicon chilense Dun.* вимагають подальших досліджень.

Метою роботи було дослідження перебігу мейозу у гібрида *Lycopersicon esculentum Mill. × Lycopersicon chilense Dun.* й батьківських форм залежно від ярусу вертикальної закладки генеративних органів на рослині.

Матеріали і методи. Для гібридизації були залучені багатомаркерна мутантна форма Мо 638 (носій генів *v-2, gf, clau, c, a, u, v, r, gs*), люб'язно надана д-ром с.-г. наук Н.І. Балашовою



Рис. 1. Листок, суцвіття й плоди батьківських форм і міжвидового гібрида *F₁ Lycopersicon esculentum Mill. × L. chilense Dun.*: *a* – *Lycopersicon esculentum Mill.* (лінія Мо 638); *б* – *L. chilense Dun.*; *в* – *F₁ Lycopersicon esculentum Mill. × L. chilense Dun.*

(ВНИИССОК), і зразок виду *Lycopersicon chilense Dun.*, надісланий Abt. Genbank, Leibnits-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (Gatersleben). Вирощували зразки в умовах захищеного ґрунту. Схрещування з кастрацією нерозкритих квіток здійснювали за загальноприйнятою методикою [8], виділення, стерилізацію, висадку недорозвинених зародків на живильне середовище, клональне мікророзмноження пробіркових рослин, їхнє укорінення й адаптацію – за методикою [9]. Тест на гібридність проводили візуально, оскільки гібрид *Lycopersicon esculentum Mill. × Lycopersicon chilense Dun.* має істотні морфологічні відмінності в порівнянні з батьківськими формами (рис. 1) [10]. Пуп'янки довжиною 1,8–2,8 мм збирали з китиць першого й четвертого ярусів (в наших дослідженнях на китицях 1–3-го ярусів плодоутворення не відбувалося, на китицях четвертого ярусу починалося утворення обнасінених плодів), поміщали у фіксатор Кларка (суміш абсолютного етанолу та льодяної оцтової кислоти у співвідношенні

3:1) на одну добу, зберігали в 70%-ному етанолі. Тимчасові оцтокармінні давлені препарати пиляків перед фарбуванням витримували

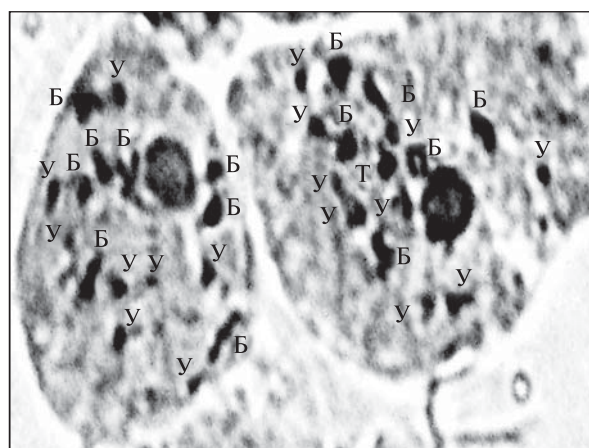


Рис. 2. Ранній діакінез у міжвидового гібрида *F₁ Lycopersicon esculentum Mill. × L. chilense Dun.* В мейоциті, розташованому ліворуч – 8 бівалентів і 8 унівалентів, праворуч – 6 бівалентів, 1 тривалент, 9 унівалентів ($\times 1350$): У – унівалент; Б – бівалент; Т – тривалент

впродовж 1 год в 4%-ному залізоамонійному галуні [11]. У ранньому діа-кінезі профазі I (рис. 2) визначали кількість відкритих, кільцевих, нетипових бівалентів (з трьома хіазмами), унівалентів, тривалентів і тетравалентів на мейоцит, а також частоту інтерстиціальних хіазм і сумарну, використовуючи мікроскоп «Микмед-1» (збільшення $\times 1350$). На наступних стадіях досліджували частоту основних порушень мейозу – передчасних відходжень унівалентів (хромосом) до полюсів в метафазі I (рис. 3, а) і II (рис. 3, з), мостів в анафазі I (рис. 3, б) і II, фрагментів в анафазі I і II (рис. 3, д), мікроядер в телофазі I (рис. 3, е) і II (рис. 3, д) (збільшення $\times 600-800$). Досліджували п'ять рослин кожного виду, 100 мейоцитів на стадії профазі й 500 – на інших стадіях.

Достовірність різниці між батьківськими формами й гібридом F₁, а також пуп'янками першого й четвертого ярусів за кількістю нетипових бівалентів, унівалентів, три- й тетравалентів на мейоцит (розподіл істотно відрізнявся від нормального) визначали із застосуванням критеріїв Краскела–Уолліса й медіанного [12], за кількістю відкритих і кільцевих бівалентів, частотою хіазм (у тому числі інтер-

стиціальних) – t-критерію Ст'юдента [13]. Відсоток порушень мейозу порівнювали на основі U-критерію для долей варіант [12]. Множинні порівняння здійснювали з урахуванням поправки Бонферроні [13].

Результати досліджень та їх обговорення. Згідно з одержаними нами даними в профазі мейозу у гібрида F₁ порівняно з батьківськими формами виявлено ряд відмінностей – утворення унівалентів і, як наслідок, зниження кількості відкритих і кільцевих бівалентів (таблиця). Частота хіазм на мейоцит також істотно знижувалась. У невеликій кількості спостерігали інші хромосомні асоціації – три- й тетраваленти, проте за вказаними цитологічними параметрами відмінності були статистично недостовірними. Зниження частоти інтерстиціальних хіазм із зростанням ярусу пуп'янка встановлено як для гібрида, так і для батьківських форм, сумарної – лише для материнської форми *Lycopersicon esculentum* Mill. У наведеної багатомаркерної мутантної лінії кількість кільцевих бівалентів на мейоцит була найбільшою в пиляках нижнього пуп'янка, внаслідок чого за кількістю відкритих бівалентів спостерігали протилежний ефект. Зворотну вертикальну залеж-

Перебіг профазі мейозу у батьківських форм та міжвидового гібрида F₁ *Lycopersicon esculentum* Mill. \times *L. chilense* Dun. і батьківських форм

Батьківська форма або гібрид	Ярус пуп'янка	Кількість бівалентів на мейоцит			Кількість на мейоцит			Частота хіазм на мейоцит	
		відкритих	кільцевих	типу 8	унівалентів	тривалентів	тетравалентів	інтерстиціальних	сумарна
♀ <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. (лінія Мо 638)	1	8,08 \pm 0,18*	3,75 \pm 0,17*#	0,13	0,08#	0	0	4,0 \pm 0,12*#	15,94 \pm 0,18*#
	4	9,20 \pm 0,19#	2,59 \pm 0,17#	0,08	0,16#	0	0,02	2,85 \pm 0,14#	14,55 \pm 0,19#
♂ <i>L. chilense</i> Dun.	1	8,93 \pm 0,22#	2,87 \pm 0,20#	0,19	0#	0	0	2,93 \pm 0,20*#	15,25 \pm 0,21#
	4	9,10 \pm 0,30#	2,75 \pm 0,22#	0,10	0#	0	0	1,68 \pm 0,17	14,93 \pm 0,30#
F ₁ <i>L. esculentum</i> Mill. \times <i>L. chilense</i> Dun.	1	7,42 \pm 0,30	1,85 \pm 0,18	0,06	3,65*	0,08	0,36	2,22 \pm 0,14*	11,20 \pm 0,28
	4	8,08 \pm 0,22	1,94 \pm 0,15	0,11	1,64	0,13	0,43	1,45 \pm 0,17	11,95 \pm 0,32

* Відмінності за цим параметром між пуп'янками даного ярусу достовірні при $p < 0,05$. # Відмінності за цим параметром між гібридом F₁ і батьківською формою достовірні при $p < 0,05$.

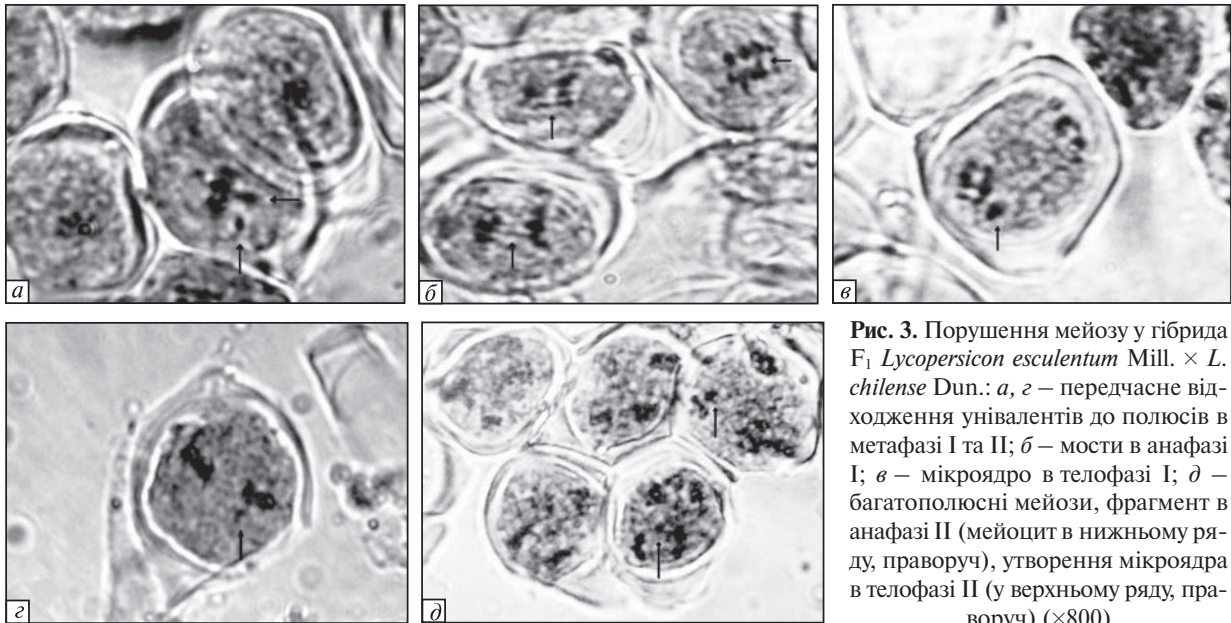


Рис. 3. Порушення мейозу у гібрида *F₁ Lycopersicon esculentum Mill. × L. chilense Dun.*: *a, z* – передчасне відходження унівалентів до полюсів в метафазі I та II; *б* – мости в анафазі I; *в* – мікроядро в телофазі I; *д* – багатополюсні мейози, фрагмент в анафазі II (мейоцит в нижньому ряду, праворуч), утворення мікроядра в телофазі II (у верхньому ряду, праворуч) ($\times 800$)

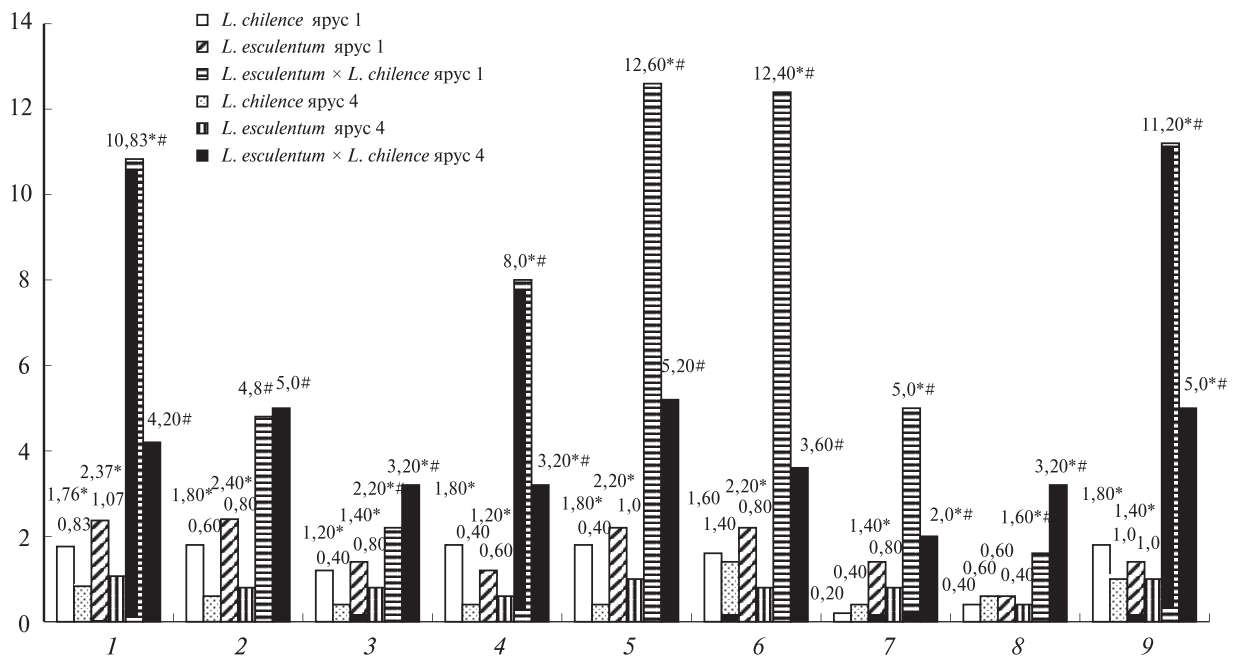


Рис. 4. Прояв порушень мейозу у міжвидового гібрида *F₁ Lycopersicon esculentum Mill. × L. chilense Dun.* й батьківських форм: по вертикалі – частота порушень мейозу (в розрахунку на кількість досліджених мейоцитів на кожній окремій стадії та в сумі), %; по горизонталі – 1 – сумарна частота порушень; 2 – передчасних відходжень унівалента до полюсу в метафазі I; 3 – мостів в анафазі I; 4 – фрагментів в анафазі I; 5 – мікроядер в телофазі I; 6 – передчасних відходжень хромосоми до полюсу в метафазі II; 7 – мостів в анафазі II; 8 – фрагментів в анафазі II; 9 – мікроядер в телофазі II

ність кількості унівалентів від ярусу зазначено у міжвидового гібрида F₁.

Частота порушень мейозу у міжвидового гібрида F₁ *Lycopersicon esculentum* Mill. × *Lycopersicon chilense* Dun. була достовірно вищою (в 2–7 разів залежно від стадії мейозу) у порівнянні з батьківськими формами (рис. 4). Як у гетерозиготних рослин, так і у батьківських форм відсоток окремих аберацій був найбільшим в пиляках нижніх пуп'янків (за винятком передчасного руху хромосоми до полюсу в метафазі II, мостів і фрагментів в анафазі II у *Lycopersicon chilense* Dun., рис. 4).

Таким чином, одержані результати – відносно невисока частота порушень, перевага бівалентів над іншими хромосомними асоціаціями та унівалентами у гібрида *Lycopersicon esculentum* Mill. × *Lycopersicon chilense* Dun. – в цілому узгоджуються з даними, опублікованими раніше [5], проте в наших досліджах фертильність пилку була високою (на рівні 85–90 %) незалежно від ярусу пуп'янка. Згідно з літературними даними такі розбіжності при міжвидовій гібридизації є цілком вірогідними [14].

Порушення перебігу мейозу обумовлено як негомологічністю окремих локусів хромосом видів *Lycopersicon esculentum* Mill. і *Lycopersicon chilense* [15], так і впливом чинників оточуючого середовища. Під час формування генеративних органів першого ярусу в теплиці спостерігали найвищі денні температури за вегетаційний період (до +55 °С). Висока частота унівалентів в мейоцитах пиляків нижніх пуп'янків може бути пов'язана із пригніченням формування синаптонемального комплексу за впливу екстремальної температури [16].

Поява унівалентів свідчить про наявність інверсій або транслокацій між гомологічними хромосомами [17], які пов'язують зі стерильністю мікро- і мегаспор [17]. Дія високої температури, не виключено, призводила до передчасного старіння або порушення метаболізму пилкових зерен [18] і зародкових мішків [19]. Можливо, цим і пояснюється стерильність квіток перших трьох ярусів.

Разом з тим утворення обнасінених плодів у міжвидових гібридів в ряді випадків пов'язують із збільшенням віку рослин та їхнім ступенем розвитку [20]. Наявність градієнту з

частоти інтерстиціальних хіазм (а у культурного томата – й сумарної) і порушень мейозу узгоджується з даними, одержаними для іншого виду родини пасльонових – баклажана [21].

Таким чином, виявлене збільшення частоти унівалентів та інших порушень мейозу в пиляках перших пуп'янків у міжвидового гібрида F₁ *Lycopersicon esculentum* Mill. × *Lycopersicon chilense* Dun. може бути обумовленим як гібридною природою генотипу, так і впливом чинників оточуючого середовища. Не виключено, що екстремальна температура в онтогенезі є однією з причин стерильності квіток нижніх ярусів їхньої вертикальної закладки.

P.Yu. Montvid,

O.P. Samovol, V.P. Miroshnichenko

MEIOSIS BEHAVIOUR IN INTERSPECIFIC
HYBRID F₁ *LYCOPERSICON ESCULENTUM*
MILL. × *LYCOPERSICON CHILENSE* DUN.

The investigation concerns meiosis behaviour in embryo-culture-obtained *Lycopersicon esculentum* Mill. (mutant seedline Mo 638) × *L. chilense* Dun. F₁ hybrid and its parental forms. It was determined that chiasma frequency decreased while univalent and meiotic disorder frequencies increased in F₁ plants in comparison with parents forms. Univalent number and the percent of main disorders lowered with bud tier increasing. The conclusion was made about meiosis regularity connection with the influence of environment factors and heterozygous genotype of F₁ plants *Lycopersicon esculentum* × *L. chilense*.

П.Ю. Монтвід,

А.П. Самовол, В.П. Мірошниченко

ПРОХОЖДЕНИЕ МЕЙОЗА У МЕЖВИДОВОГО
ГИБРИДА F₁ *LYCOPERSICON ESCULENTUM*
MILL. × *LYCOPERSICON CHILENSE* DUN.

Проведено исследование прохождения мейоза у межвидового гибрида F₁ *Lycopersicon esculentum* Mill. (мутантна лінія Мо 638) × *L. chilense* Dun., полученного путем эмбриокультуры, и его родительских форм. У гибридных растений выявлено снижение частоты хиазм, возрастание частоты унивентов и нарушений мейоза по сравнению с родительскими формами. Количество унивентов и процент основных нарушений уменьшались с увеличением яруса бутона. Сделан вывод о связи регулярности мейоза у гетерозиготных растений F₁ *Lycopersicon esculentum* × *L. chilense* с гибридной природой генотипа и влиянием факторов внешней среды.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы). — М., 2001. — Т. 2. — 1489 с.
2. Жученко А.А., Глущенко Е.Я., Андриющенко В.К., Балашова Н.Н., Самовол А.П., Медведев В.В. Дикие виды и полукультурные разновидности томатов и их использование в селекции. — Кишинев : Карта Молдовеняскэ, 1974. — 204 с.
3. Fernandes-Munoz R., Gonzales-Fernandes J.J., Cuarteo J. Variability of pollen tolerance to low temperatures in tomato and related wild species // J. Hort. Sci. — 1995. — № 70. — P. 41–49.
4. Грати М.И., Грати В.Г. Перспективы использования отдаленной гибридизации в селекции томата // Овочівництво і баштанництво. — 2005. — Вип. 51. — С. 139–151.
5. Rick C.M. Differential zygotic lethality in a tomato species hybrid // Genetics. — 1963. — **48**. — P. 1497–1507.
6. Giddings G.D., Rees H. A detail analysis of chromosome pairing at meiosis in pollen mother cells of somatic hybrid *Lycopersicon esculentum* and *Lycopersicon peruvianum* // Proc. Roy. Soc. London. — 1992. — **248**, № 1323. — P. 255–259.
7. Picó B., Herraiz J., Nuez F. *Lycopersicon chilense* — derived bridge lines for introgressing *L. peruvianum* traits into the *esculentum* genome // Rep. Tomato Genet. Coop. — 2000. — № 50. — P. 30–33.
8. Боос Г.В., Бадина Г.В., Буренин В.М. Гетерозис овощных культур. — М.: Агропромиздат, 1990. — 223 с.
9. Кондратенко С.І., Монтвід П.Ю., Самовол О.П., Мірошниченко В.П. Використання методу культури *in vitro* для дорощування незрілих гібридних зародків несумісних видів томата // Овочівництво і баштанництво. — 2005. — Вип. 51. — С. 381–396.
10. Takashina T., Imanishi S., Egashira H. Evaluation of the cross-incompatibility of «peruvianum-complex» lines with *Lycopersicon esculentum* Mill. by the ovule-selection method // Breed. Sci. — 1997. — № 47. — P. 33–37.
11. Жученко А.А., Грати В.Г., Андриющенко В.К., Грати М.И. Индуцирование хромосомных перестроек и локализация генов, контролирующих некоторые хозяйственно ценные признаки в геноме томатов // Изв. АН МолдССР. Сер. биол. и хим. наук. — 1980. — № 4. — С. 24–30.
12. Орлов А.И. Прикладная статистика. — М.: Экзамен, 2004. — 656 с.
13. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
14. Molhar-Lang M., Galiba G., Kovacs G., Sutka I. Changes in the fertility, mesotic behaviour of barley (*Hordeum vulgare*) × wheat (*Triticum aestivum*) hybrids generated from tissue cultures // Genome. — 1991. — **34**, № 2. — P. 261–266.
15. Жученко А.А. Генетика томатов. — Кишинев : Штиинца, 1973. — 663 с.
16. Loidl J. Effects of elevated temperature on meiotic chromosome sinapsis in *Allium ursinum* // Chromosoma. — 1988. — **94**, № 6. — P. 449–458.
17. Смирнов В.Г. Цитогенетика. — М.: Наука, 1991. — 247 с.
18. Tang Ri-Sheng, Zheng Jian-Chu, Jin Zhi-Qing, Zhang Da-Dong, Huang Yi-Hong, Chen Liu-Gen. Possible correlation between high temperature-induced floret sterility and endogenous levels of IAA, GAs and ABA in rice (*Oryza sativa* L.) // Plant Growth Regulat. — 2008. — **54**, № 1. — P. 37–43.
19. Peet Mary M., Willits D.H., Gardner R. Response of ovule development and post-pollen production processes in male-sterile tomatoes to chronic, sub-acute high temperature stress // J. Exp. Bot. — 1997. — **48**, № 1. — P. 101–111.
20. Лудилов В.А. Способ повышения фертильности межвидовых гибридов баклажан // С.-х. биология. — 1974. — **9**, № 6. — С. 32–34.
21. Монтвід П.Ю. Компенсаційний розподіл хіазм в межах репродуктивної системи гібридів *F₁ Solanum melongena* L. // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. біол. — 2006. — Вип. 2. — С. 61–65.

Надійшла 09.09.09