

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСМИССИИ УНИВАЛЕНТНОЙ ХРОМОСОМЫ 5R ЧЕРЕЗ ГАМЕТЫ ДИ-МОНОСОМИКА 5D-5R

Н.И. Дубовец¹, О.Г. Силкова², А.И. Шапова², Л.А. Соловей¹, Т.И. Штык¹

¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: N.Dubovets@igc.bas-net.by; ² Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия, e-mail: silkova@bionet.nsc.ru

Изучена частота трансмиссии унивалентных хромосом 5D и 5R через гаметы ди-моносомика 5D-5R. Выявлена зависимость характера передачи чужеродной хромосомы 5R от условий внешней среды. Показано, что воздействие стрессовых факторов приводит к различным структурным изменениям 5R хромосомы, обусловленным особенностями функционирования ее центромерного района. Высказано предположение, что появление в потомстве ди-моносомика 5R хромосомы с делецией терминального участка длинного плеча является следствием активизации нецентромерного района.

Введение

Несмотря на появление трансгенных технологий, отдаленная гибридизация продолжает оставаться наиболее эффективным приемом интродукции чужеродной генетической изменчивости в геном мягкой пшеницы. Одним из способов такой интродукции является создание замещенных линий, содержащих, как правило, одну пару хромосом родственного пшенице вида, замещающую соответствующую пару ее хромосом. Установлено, что чужеродное замещение происходит в строгом соответствии с гомеологией хромосом (Gupta, 1971; Шапова и др., 1987). В то же время частота встречаемости межгеномных замещений по разным хромосомам различна (May, Appels, 1982; Merker, 1984; Шапова, Кравцова, 1990; Дубовец и др., 1995), что указывает на избирательность процесса трансмиссии чужеродных хромосом через гаметы. Однако до сих пор не ясно, какие причины лежат в основе всех этих явлений.

В своих исследованиях мы поставили задачу на примере пшенично-ржаных замещенных линий выявить механизмы мейотического цикла, обеспечивающие успешный перенос чужеродного генетического мате-

риала. Необходимым этапом этих исследований являлось изучение частоты передачи индивидуальных унивалентных хромосом через гаметы пшенично-ржаных ди-моносомиков. В данной статье обсуждаются результаты, полученные в ходе анализа потомства пшенично-ржаного ди-моносомика 5D-5R, позволяющие судить о частоте трансмиссии через гаметы унивалентных хромосом 5D и 5R. При этом большое внимание уделено особенностям поведения чужеродной хромосомы.

Материалы и методы

Для получения экспериментального материала пшенично-ржаная замещенная линия 5R(5D) была беккроссирована исходным сортом пшеницы Саратовская 29. В результате были синтезированы 42-хромосомные формы (ди-моносомики), содержащие в своем кариотипе 20 пар гомологичных хромосом пшеницы и одну пару гомеологов 5D-5R. Часть растений выращивалась в полевых условиях, другая часть – в теплице. Анализ хромосомного состава полученного потомства ди-моносомика проводился с помощью метода дифференциального окрашивания хромосом по Гимза (Бадаев и др., 1983).

Результаты и обсуждение

В ходе формирования гамет в мейозе F_1 пшенично-ржаных ди-моносомиков гомологичные хромосомы пшеницы образуют биваленты, а хромосомы из гомеологичной пары остаются в унивалентном состоянии. В случае их редукционного деления в анафазе I (когда хромосома не претерпевает эквационного деления в области центромеры и отходит к одному из полюсов) образуется четыре типа гамет: 20W, 20W+R, 21W+R и 21W+R. Их сочетание в процессе оплодотворения приводит к формированию в F_2 ди-моносомиков 9 классов генотипов:

- 1) 40W (нуллисомик по замещенной хромосоме пшеницы);
- 2) 40W+R^I;
- 3) 40W+R^{II};
- 4) 41W (моносомик по замещенной хромосоме пшеницы);
- 5) 41W+R^I;
- 6) 41W+R^{II};
- 7) 42W (исходная мягкая пшеница);
- 8) 42W+R^I;
- 9) 42W+R^{II}.

Если же унивалентные хромосомы в F_1 ди-моносомика подвергаются в анафазе I мейоза эквационному делению (сестринские хроматиды, образовавшиеся в результате эквационного деления хромосомы в области центромеры, отходят к разным полюсам клетки), количество ожидаемых в F_2 классов генотипов существенно уменьшается. Это связано с тем, что хромосомы, разделившиеся на хроматиды, часто остаются невключенными во вновь образованные ядра второго мейотического деления (Щапова и др., 1995; Силкова и др., 1999). Если эквационному делению подвергается только унивалентная хромосома ржи, то в потомстве ди-моносомика следует ожидать преобладание 1, 4 и 7-го классов, причем наиболее многочисленным будет 4-й. При эквационном делении унивалентной хромосомы пшеницы в потомстве будут преобладать 1, 2 и 3-й классы при наибольшей численности 2-го.

В исследованном нами материале, выращенном в полевых условиях, были выявлены все классы генотипов, за исключением 9-го. С наибольшей частотой встречались

3-й (25,0 %) и 5-й классы (18,7 %), затем следовали 2-й, 4-й и 7-й (по 12,5 %). Наименьшая частота встречаемости (6,2 %) отмечена для растений 1-го, 6-го и 8-го классов. Полученное распределение генотипов по классам в большей степени соответствует картине, наблюдаемой при редукционном делении унивалентных хромосом.

Из 16 проанализированных растений 5R-хромосому содержали 11, причем в 5 из них она присутствовала в дисомном состоянии. 5D-хромосома в дисомном состоянии была обнаружена у 3 растений, а в моносомном – у 6.

В общей сложности в кариотипах растений содержалось 16 5R-хромосом. Из них лишь 7 имели нормальную структуру, а остальные 9 были aberrantными. Одно растение содержало телоцентрическую хромосому 5RS, в другом растении была выявлена изохромосома по короткому плечу, в остальных отмечена 5R-хромосома с делецией дистального участка длинного плеча – 5RS.5RL-del. (рис.).

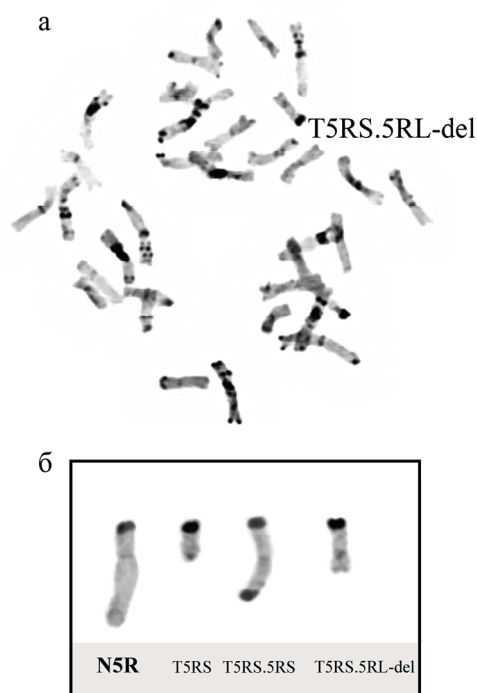


Рис. Варианты хромосомных aberrаций в потомстве ди-моносомика 5D-5R: а – кариотип растения с aberrацией 5RS.5RL-del; б – нормальная 5R хромосома и типы ее структурных преобразований.

Известно, что появление телоцентрических и изохромосом является следствием поперечного деления (*misdivision*) центромер унивалентных хромосом во время первого или второго мейотического деления. Механизм образования таких aberrантных хромосом у мягкой пшеницы был детально описан (Vega, Feldman, 1998). В первом мейотическом делении наряду с продольным делением всей центромеры может происходить деление одной из сестринских центромер, что приводит к образованию двух телохромосом и одной сестринской хромосомы. В случае если поперечное деление затрагивает центромеры обеих сестринских хроматид, то образуются две изохромосомы – одна по короткому плечу, а другая – по длинному. Поперечное деление центромер может иметь место и во втором мейотическом делении, если сайты прикрепления микротрубочек веретена деления на хроматиде будут ориентированы к противоположным полюсам. Тогда в ранней телофазе при укорачивании нитей веретена деления центромера сначала удлиняется, а затем рвется в поперечном направлении. В итоге образуются две телоцентрические хромосомы.

Что касается делеций, то они, как правило, образуются в результате действия мутагенов или открытых недавно гаметоцидных генов (Endo, 1990). Однако ни один из этих факторов на исследованный нами материал не воздействовал. В связи с этим возникает закономерный вопрос: чем обусловлено появление данного типа aberrаций? Единственное возможное, на наш взгляд, объяснение этого феномена связано с нецентрической активностью хромосом.

Недавно рядом авторов (Schlegel, 1987; Manzanero *et al.*, 2000, 2002) было установлено, что область проксимальной перетяжки, локализованной в длинном плече 5R-хромосомы, способна проявлять нецентрическую активность в метафазе I мейоза гаплоидов ржи и пшенично-ржаных дополненных линий. С помощью различных молекулярных и биохимических методов показано, что в области нецентромеры формируется структура, аналогичная кинетохору, к ней прикрепляются нити веретена деления, при этом наблюдается коориентация нецентромеры с истинной центромерой.

В выявленной нами aberrантной 5R-хромосоме разрыв длинного плеча произошел как раз в месте расположения вышеупомянутой перетяжки. Исходя из этого, в нашем случае можно предположить такую ситуацию: центромера и нецентромера унивалентной 5R-хромосомы оказываются связанными нитями веретена деления с противоположными полюсами; сокращение микротрубочек веретена в А-I приводит к растяжению хромосомы и последующему разрыву в области нецентромеры. Образовавшийся терминальный фрагмент элиминируется, а дилетированная хромосома сохраняет функциональную активность и передается через гаметы, что мы и наблюдали в изученном материале.

Результаты хромосомного анализа потомства 5R-5D-ди-моносомика, выращенного в условиях теплицы, отличались от результатов анализа полевого материала. Хотя суммарное количество генотипических классов осталось прежним, но не был выявлен 6-й класс, в то время как появился 9-й. Наблюдалось также значительное перераспределение частоты встречаемости классов: численное преимущество получили 4-й и 5-й классы (по 27,8 %). С частотой 11,1 % встречались растения 1-го и 7-го классов. Частота встречаемости растений, принадлежащих остальным четырем генотипическим классам, едва превышала 5 %. Отмеченные изменения явились следствием преобладания в материале растений с 5D-хромосомой (18 против 11 растений с 5R). В дисомном состоянии хромосома 5D была отмечена у 4 растений, в моносомном – у 10. Хромосома 5R присутствовала в дисомном состоянии у 2 растений, в моносомном – у 7. Подавляющее большинство 5R-хромосом имели нормальную структуру, и лишь у двух растений выявлены aberrантные хромосомы – в одном случае это был телоцентрик по короткому плечу, в другом – терминальная делеция длинного плеча. Полученное распределение генотипов по классам в большей степени соответствует картине, наблюдаемой при эквационном делении унивалентных хромосом ржи.

Проведенные исследования свидетельствуют о высокой степени зависимости процесса трансмиссии через гаметы унивалентных хро-

мосом ржи и пшеницы от условий внешней среды. Особенно сильно эта зависимость сказывается на поведении чужеродных хромосом ржи. Воздействие различных стрессовых факторов в полевых условиях не только приводит к нарушению функционирования истинной центромеры 5R-хромосомы, вследствие чего она претерпевает различные структурные изменения и передается в виде изохромосом и телоцентриков, но и может вызывать активацию неоцентромеры.

Работа частично выполнена на средства, предоставленные Белорусским фондом фундаментальных исследований (проект Б02Р-090) и Российским фондом фундаментальных исследований (проект Бел 2002а 02-04-81025).

Литература

- Бадаев Н.С., Бадаева Е.Д., Большева Н.Л., Зеленин А.В. Идентификация хромосом А- и D-геномов пшеницы с использованием замещений и перестроек между гомеологами у пшеницы и тритикале // Докл. АН СССР. 1983. Т. 273, № 4. С. 994–996.
- Дубовец Н.И., Дымкова Г.В., Соловей Л.А. и др. Реконструкция кариотипа гексаплоидных тритикале путем межгеномных замещений хромосом // Генетика. 1995. Т. 31, № 10. С. 1394–1399.
- Силкова О.Г., Щапова А.И., Потапова Т.А., Кравцова Л.А. Причины, обуславливающие различия в частоте передачи через гаметы двух гомеологичных унивалентных хромосом пшенично-ржаного ди-моносомика // Генетика. 1999. Т. 35, № 6. С. 784–790.
- Щапова А.И., Кравцова Л.А., Потапова Т.А. Закономерности преобразований геномной структуры пшенично-ржаных полигаплоидов ABDR // Генетика. 1987. Т. 23, № 2. С. 295–302.
- Щапова А.И., Кравцова Л.А. Цитогенетика пшенично-ржаных гибридов. Новосибирск: Наука, 1990. 164 с.
- Щапова А.И., Силкова О.Г., Кравцова Л.А. Роль хромосом пятой гомеологичной группы пшеницы и ржи в регуляции эквационного деления унивалентов // Генетика. 1995. Т. 31, № 3. С. 390–395.
- Gupta P.K. Homoeologous relationship between wheat and rye chromosomes. Present status // Genetica. 1971. V. 42, № 2. P. 199–213.
- Manzanero S., Puertas M.J., Jimenez G., Vega J.M. Neocentric activity of rye 5RL chromosome in wheat // Chromosome Res. 2000. V. 8, № 6. P. 543–554.
- Manzanero S., Vega J.M., Houben A., Puerta M.J. Characterization of the constriction with neocentric activity of 5RL chromosome in wheat // Chromosoma. 2002. V. 8, № 4. P. 228–235.
- May C.E., Appels R. The inheritance of rye chromosomes in early generations of triticales × wheat hybrids // Canad. J. Genet. Cytol. 1982. V. 24, № 3. P. 285–291.
- Merker A. The rye genome in wheat breeding // Canad. J. Genet. Cytol. 1984. V. 100. P. 183–191.
- Schlegel R. Neocentric activity in chromosome 5R of rye revealed by haploidy // Hereditas. 1987. V. 107, № 1. P. 1–6.
- Vega J.M., Feldman M. Effect of the pairing gene Ph1 on centromere misdivision in common wheat // Genetics. 1998. V. 148, № 4. P. 1285–1294.

Transmission of univalent chromosome 5R *via* gametes of di-monosomic 5D-5R

N.I. Dubovets¹, O.G. Silkova², A.I. Shchapova², L.A. Solovey¹, T.I. Shtyk¹

¹ Institute of Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus,
e-mail: N.Dubovets@igc.bas-net.by

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russia,
e-mail: silkova@bionet.nsc.ru

The transmission frequency of univalent chromosomes 5D and 5R *via* gametes of di-monosomic 5D-5R was studied. The relationship was revealed between the transmission pattern of alien chromosome 5R and environmental conditions. The effect of stress factors was shown to result in different structural changes in the chromosome 5R caused by functioning peculiarities of its centromere region. It was assumed that appearance of the chromosome 5R with deletion of a terminal site in a long arm in the progeny of di-monosomic resulted from activation of the neocentromere region.