ИЗМЕНЕНИЕ ДНК ХЛОРОПЛАСТОВ И МИТОХОНДРИЙ ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ У ЗЛАКОВ

М.Г. Синявская[1], Е.А. Аксенова[1], Л.А. Першина[2], С.Ф. Коваль[2], Н.Г. Даниленко[1], О.Г. Давыденко[1]

[1] Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Беларусь, e-mail: soyanort@home.by; [2] Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия, e-mail: pershina@bionet.nsc.ru; kovalsf@bionet.nsc.ru

С целью изучения наследования органельных ДНК у отдаленных гибридов злаков проведен ПЦР анализ: *trnS1*, *3′rbcL*-района хлоропластной (хп); *coxI*, *coxIIE*, *5′cob*, *nad3-orf156*, *18s*/*5s* митохондриальной (мт) ДНК. Показано, что у форм, считавшихся «аллоплазматическими», в геноме митохондрий детектируются локусы обоих родительских типов, а не только материнские. При беккроссировании и последующем самоопылении в ряду поколений у отдаленных гибридов возможно замещение материнских органельных ДНК на отцовские, а также детектируются измененные органельные ДНК-локусы. Обсуждается роль ядра в этом процессе.

Введение

Отдаленная гибридизация – важнейший фактор формообразования в природе. На практике она также широко используется для создания новых форм растений с уникальными свойствами. В результате гибридизации неродственных видов в одном организме объединяются разные не только ядерные, но и цитоплазматические геномы, что приводит к межгеномным конфликтам.

Достижение высокой продуктивности межродовых гибридов, снятие межгеномных конфликтов возможны при сбалансированной работе объединенных в одной клетке генетических систем. Это может быть результатом либо дополнительного введения хромосомных фрагментов в ядерный геном одного из родителей (Tsujimoto *et al*., 1987; Anderson, Maan, 1995; Синявская, 1999), либо изменений, происходящих с ДНК органелл (Davydenko *et al*., 1992; Синявская, 1999).

В последнее время появляются работы, свидетельствующие о том, что процессы реорганизаций геномов ядра и цитоплазмы, происходящие при отдаленной гибридизации, у злаков, намного сложнее, чем представлялось до сих пор (Shaked *et al*., 2001).

Типичное для злаков материнское однородительское наследование органелл в случае отдаленной гибридизации может быть изменено на двуродительское. Присутствие в зиготе двух типов органельных ДНК может создавать предпосылку как для селекции в пользу только одного из двух типов, так и для рекомбинационных процессов.

Первые факты, свидетельствующие о возможности двуродительского наследования митохондриальной ДНК у злаков, были получены на межродовых гибридах ячмень-рожь (Soliman *et al*., 1987). В работе Laser *et al*. (1997) было показано присутствие отцовских и измененных копий *orf25* гена мтДНК у тритикале. Подобные результаты были обнаружены нами у пшеницы на цитоплазме ржи, где ПЦР анализ 5′-фланкирующего района 18S/5S митохондрий показал существование у данной формы фрагментов двух типов – ржи и пшеницы (Sinyavskaja *et al*., 2001). У аллоплазматического гибрида *Aegilops–Triticum* отцовские пшеничные копии митохондриального полицистронного транскрипционного блока *nad3-orf156* (*atp8*) выявлялись в различных субстехиометрических количествах в зависимости от комбинаций ядерных и цитоплазматических геномов (Tsukamoto *et al*., 2000; Kitagawa *et al*., 2002). Несмотря на присутствие копий мтДНК двух типов (и, следовательно, гетероплазматическое состояние), экспрессия и РНК-

эдитинг у данных форм шли преимущественно по материнскому типу, что, вероятно, определялось генетическими факторами ядра (Kitagawa *et al*., 2003).

В лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси совместно с учеными из Института цитологии и генетики СО РАН в течение ряда лет велись работы по изучению ядерно-цитоплазматических взаимодействий у отдаленных гибридов злаков, и в частности по проблемам наследования и реорганизации геномов органелл при отдаленной гибридизации.

Материалы и методы

Исследовались:

- линия аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи – (*Secale cereale* L.) – *T. aestivum* L. BC_6-поколения (образцы семян линии L62 предоставлены О.Г. Семеновым), ее гибриды F_1–F_3-поколения с сортами мягкой пшеницы Ледовка и Ленинградка;
- линии аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи – (*S. cereale* L.) – *T. aestivum* L. BC_9-поколения (ЦАНК-1А, ЦАНК-1В, ЦАНК-1С, ЦАНК-1Д), полученные в результате беккроссирования гибридов *S. cereale* L. × *T. aestivum* мягкой пшеницей (Коваль, Федотова, 1995);
- гибриды F_1 (*S. cereale* L. × (× *Triticale* Thch.)) и линии секалотритикум, выделенные от самоопыленных потомков последовательного беккроссирования данного гибрида тритикале – F_7–F_8BC_2 (Гордей и др., 1996);
- ячменно-пшеничные гибриды F_1 комбинации (*Hordeum vulgare* L. × *T. aestivum* L.) и их беккроссные потомки BC_1-поколения, характеризующиеся мужской стерильностью и полученные при беккроссировании F_1 растений мягкой пшеницей; полностью стерильные растения BC_4–BC_6-поколения; аллоплазматические рекомбинантные линии L-16(30), L-79(1) (самофертильные) и L-55(2) (нестабильная по проявлению самофертильности), выделенные среди беккроссных потомков гибридов;
- самофертильная аллоплазматическая рекомбинантная линия L-g41, полученная на основе беккроссных потомков ячменно-пшеничного гибрида [*H. geniculatum* All. (= *H. marinum* subsp. *gussoneanum*) × *T. aestivum* L.] (Pershina *et al*., 1998; Першина и др., 1999).

Изучение тотальной ДНК вышеперечисленных форм проводилось с помощью ПЦР специфических маркеров к хлоропластной ДНК – *trnS1*, *3'rbcL*-району; митохондриальной ДНК – *coxI*, *coxIIE*, *5'cob*, *nad3-orf15*, *18s*/*5s* районам (табл. 1).

Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 250 мкМ каждого из dNTP; 0,2–0,4 мкМ каждого праймера, 1,5–2,5 mM $MgCl_2$; 1U Taq ДНК-полимеразы (*MBI*, *Fermentas*), 1 × PCR буфер (*MBI*, *Fermentas*), 100–200 нг тотальной ДНК.

Условия амплификации были следующие: 94^o – 5'; 35 циклов: 94^o – 1' (для *18S*/*5S* – 92^o 20"); Tm (в зависимости от праймера, см. таблицу 1) – 0,5–1'; 72^o – 1'; финальная элонгация 72^o – 10'.

Для детекции принадлежности амплифицированных локусов к какому-либо (или обоим) из родительских типов проводилась эндонуклеазная рестрикция ПЦР продуктов по:

- *18s*/*5s* и *coxIIE* районам мтДНК – *Sal I* и *Taq I* эндонуклеазы рестрикции соответственно (ржано-пшеничные гибриды);
- *coxI* мтДНК району – *MspI* эндонуклеаза (ячменно-пшеничные гибриды).
- ПЦР и ПЦР-ПДРФ анализ проводился в:
- 2 % агарозном геле – *18s*/*5s*, *nad3-orf156*, *coxIIE* районы;
- 0,8 % агарозном геле – *3'rbcL* область;
- 6–8 % полиакриламидном неденатурирующем и денатурирующем гелях – *coxI* и *trnS1* локусы соответственно (*trnS1* район анализировался в секвенаторе ALF Express, праймер был мечен флуорохромом Cy5).

Результаты

Данные, полученные при изучении аллоплазматических линий пшеницы, имеющих цитоплазму ржи – L62, ЦАНК-1А, ЦАНК-1В, ЦАНК-1С, ЦАНК-1Д, гибридов одной из них с сортами мягкой пшеницы, гибридов рожь–тритикале, представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, аллоплазматические пшеницы на цитоплазме ржи L62 и ЦАНК-линии подобны друг другу по наблю-

Таблица 1

Праймеры, районы геномов органелл, подобранные для анализа гибридов ячменя, пшеницы и ржи

Праймер	Последовательность	°C
хлоропластная ДНК		
trnS1 (Provan *et al*., 1999)	5′-CTTTAGCGGGCATTTCCATA-3′ 5′-ATGGTGGATTTGATAAGAACCC-3′	60
3′rbcL (Ohsako *et al*., 1996)	5′-TTCGAGTTCGAGCCGGTAGATA-3′ 5′- TGACAAGTTCCTCTTTACCC-3′	58
митохондриальная ДНК		
coxI (Tsukamoto *et al*., 2000)	5′-CTAACCACAAGGATATTGGGAC -3′ 5′-AGTTCTCCAAAAGTATGAAAGGC -3′	58
coxIIE (Tsukamoto *et al*., 2000)	5′-GGGTATTAGTAGATCCAGCCAT -3′ 5′-TCATCGGAACTGTTATAGTCCG -3′	58
5′cob (Tsukamoto *et al*., 2000)	5′- CAATAAGAGTTTCCGAGAGTT-3′ 5′- GGGAGTAAATGATGGAGACTA-3′	58
nad3-orf156(region I)(Hattori *et al*., 2002)	5′- ATGAATGGAAAAGGGGTGCTT-3′ 5′-GGAGAAGACATAACCAGAAGA-3′	58
5′ 18s/5s (Coulthart *et al*., 1993)	5′-TTCTCGCGTTCCCTTAATTC-3′ 5′-CGTTCGCCACTTTGTTCTCA-3′	45

Таблица 2

Хлоропластные и митохондриальные ДНК-локусы, детектируемые у гибридов рожь–пшеница, рожь–тритикале

Форма	Исследуемые области			
	митохондриальная ДНК		хлоропластная ДНК	
	5′18s/5s	*coxIIE*	*3′rbcL*	*trnS1*
Аллоплазматическая пшеница на цитоплазме ржи BC_6 – L62;	Р* + П	Р + п	Р	Р
гибриды F_1–F_3 с сортами пшениц	Р + П р + П	Р + п Р + П Р + п Изм?	Р	Р
Аллоплазматические пшеницы на цитоплазме ржи BC_9:				
ЦАНК-1А	Р + П	Р + п	Р	Р
ЦАНК-1В	Р + П	Р + п	Р	Р
ЦАНК-1С	Р + П	Р + п	Р	Р
ЦАНК-1В	Р + П	Р + п	Р	Р
Гибриды (рожь-тритикале) F_1	Р + П или Р + п	Изм?	Р	Р
линии секалотритикум (выделенные из $F_{7–8}BC_2$)	П	р + П	П	П

* Р – исследуемые локусы ДНК органелл материнского типа (ржаные) ($+_р$ – следовые количества); П – исследуемые локусы ДНК органелл отцовского типа (пшеницы) ($+_п$ – следовые количества); Изм – молекулы измененного типа.

даемым сочетаниям родительских хлоропластных и митохондриальных ДНК локусов. Выявляется гетероплазмия для ДНК митохондрий, а для хлоропластов обнаружены аллели исключительно материнского типа.

Вышеописанные формы «считаются» аллоплазматическими пшеницами на цитоплазме ржи. Надо отметить, что у них, по данным цитогенетических и ПЦР исследований, присутствуют дополнительные хромосомы/ хромосомные фрагменты ржи (Коваль, Федотова, 1995; Sinyavskaja *et al*., 2001).

При исследовании индивидуальных растений гибридов F_1, F_2 аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи с сортами пшениц, а также гибридов рожь–тритикале F_1 нами показано (см. табл. 2), что исследуемые митохондриальные локусы существуют либо в гетероплазматическом состоянии с различными вариантами соотношений копий родительских органельных ДНК в клетке, либо, как обнаружено для *coxIIE*-района, являются измененными.

У всех проанализированных растений линий секалотритикум демонстрируется присутствие исключительно отцовских (пшеничных) типов хлоропластных *trnS1-*, *3′ rbcL*-локусов, и практически такая же картина обнаружена по исследуемым областям митохондриальной ДНК. Отметим также, что по некоторым областям митохондриальных ДНК при электрофоретическом анализе выявлялись едва детектируемые ПЦР фрагменты материнского типа. Отдельные данные по этой модели были опубликованы ранее (Синявская и др., 2004).

Результаты изучения процессов преобразования органельных ДНК у беккроссных потомков ячменно-пшеничных гибридов представлены в таблице 3.

Как видно из приведенных в таблице 3 данных, у мужскостерильных растений F_1 и BC_1-поколений обнаружились хпДНК фрагменты только ячменного типа (как у материнской формы гибридов). Тот же результат наблюдался и для полностью стерильных растений более поздних беккроссных поколений (BC_1 и BC_6), и для нестабильной по проявлению фертильности аллоплазматической рекомбинантной линии L-55(2). Однако у самофертильных аллоплазматических рекомбинантных линий L-16(30), L-79(1), L-g41 обнаружены хлоропластные ДНК пшеничного, то есть отцовского типа (Aksyonova *et al*., 2005). Отметим, что изучение ядерного генома жизнеспособных аллоплазматических линий L-16(30), L-79(1), L-g41 с использованием молекулярных маркеров показало полное замещение ячменного генома пшеничным рекомбинантным геномом (Бильданова и др., 2003).

Исследование передачи отдельных мито-

Таблица 3

Хлоропластные и митохондриальные ДНК-локусы, детектируемые у гибридов ячмень–пшеница

Форма	Исследуемая область					
	Митохондриальная ДНК				Хлоропластная ДНК	
	CoxI	*5′cob*	*nad3-orf156*	*18S/5S*	*TrnS1*	*3′rbcL*
Мужскостерильные растения F_1 and BC_1	Я+$_п$	Я	Я+$_п$	Я+П	Я	Я
Полностью стерильные растения BC_4; BC_6	Я+$_п$/ Я+п	Я	п	Я+П / П	Я	Я
Нестабильная по проявлению самофертильности линия L-55(2)	Я+п	Я	п	Я+П/П	Я	Я
Стабильные по проявле-нию самофертильности линии L-16(30); L-79(1); L-g41	П	П	П	П	П	П

Я – копии органельных локусов типа ячменя; П – копии органельных локусов типа пшеницы (+$_п$ – следовые количества).

хондриальных локусов выявило более сложную картину. У гибридов F_1 и BC_1 детектировались как фрагменты обоих родительских типов, так и только материнские. В поздних поколениях беккроссов у растений разных гибридных комбинаций обнаружена связь между фертильностью и типом митохондриальной ДНК. Так, во всех исследованных случаях самофертильные аллоплазматические рекомбинантные линии имели спектр митохондриальной ДНК пшеничного (отцовского!) типа, тогда как у линии L-55(2), характеризующейся нестабильной фертильностью семян, и у стерильных растений BC_4- и BC_6-поколений сохранялись материнские копии митохондриального генома (Aksyonova *et al*., 2005).

Обсуждение

На основании изучения геномов цитоплазматических органелл становится очевидным, что гибридизация неродственных видов приводит не только к объединению, рекомбинации и перераспределению геномов ядра, но и к композиционному видоизменению органельных геномов.

У аллоплазматических форм пшеницы на цитоплазме ржи, если придерживаться аксиомы материнского наследования, должна была бы быть цитоплазма ржаного типа. Результаты нашей работы свидетельствуют об ином: исследованные мтДНК районы демонстрируют явную гетероплазмию (присутствие копий мтДНК обоих родительских типов) (табл. 2). Если сопоставить эти данные с ранее полученной информацией о хромосомном составе этих форм, то бросается в глаза присутствие в их ядре добавочного фрагмента генома ржи (1R и, возможно, 7R). Из других работ известно, что именно хромосомы 1-й группы сцепления обеспечивают ядерно-цитоплазматическую совместимость (Anderson, Maan, 1995; Asakura *et al*., 1997; Fedak, 1999). По-видимому, хромосомы 1-й гомеологичной группы содержат также и некие факторы, детерминирующие тип органельных ДНК или способствующие репликации молекул определенного типа. Благодаря присутствию у отдельных растений аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи дополнительных фрагментов ядерного генома ржи возможно существование таких форм в природе и в эксперименте, хотя это состояние не самое благоприятное для растения – такие формы не являются высокопродуктивными.

Однако дальнейшее опыление данных форм (как в случае линии *L62*) сортами мягкой пшеницы приводит к тому, что либо меняется соотношение по отдельным мтДНК локусам у некоторых растений гибридов F_2, F_3 из гетероплазматического с преобладанием копий материнского родителя (ржи) в сторону увеличения числа копий отцовского родителя (пшеницы), либо появляются некие измененные мтДНК локусы (*coxIIE*) (табл. 2). В исследованиях, проведенных ранее еще в «доПЦР-ную эпоху» (Davydenko *et al*., 1987), обнаружено, что в F_7–F_8 от скрещивания аллоплазматической пшеницы на цитоплазме ржи – *L62* с сортом мягкой пшеницы Ленинградка выделялись линии «пшеничного», «ржаного типа», у которых, по данным рестрикции хпДНК и мтДНК, выявлялись «измененный» либо «пшеничный» (отцовский), либо «ржаной» (материнский) спектры соответственно. Этот факт также свидетельствует в пользу того, что возникновение отдельных растений с видоизмененными или с отцовским (преобладающим) типами органельных ДНК (что детектируется нами методом ПЦР) – не случайность.

Какова в этом роль добавочных хромосомных фрагментов? У гибридных форм, исследованных в работе (Davydenko *et al*., 1987), дополнительных хромосомных фрагментов в ядре обнаружено не было. Как мы полагаем, на определенном этапе становления гибридной формы присутствие дополнительного хромосомного фрагмента уже не есть необходимость, так как та часть молекул органельной ДНК, которая несовместима с ядром, была либо утрачена, либо видоизменилась. Наличие хромосомного фрагмента ржи (ржаной хромосомы) не является критическим для растения, и оно может как содержать, так и не содержать его. Коадаптация ядра и цитоплазмы в данном случае достигается за счет видоизменения органельных ДНК.

В системе гибридов рожь–тритикале в F_1 выявлена картина, подобная наблюдаемой у F_1 гибридов аллоплазматической пшеницы с сортами пшениц: гетероплазмия по *5′18S*/*5S*-району мтДНК и появление измененных мтДНК по *coxIIE*-району. У гибридов $F_2BC_{7–8}$

картина другая, нежели у аллоплазматических линий и их гибридов – преимущественное существование в цитоплазме секалотритикум хлоропластных и митохондриальных копий отцовского типа.

По-видимому, по мере изменения хромосомного баланса гибридных форм последующих поколений *Secalotriticum* в пользу *Triticum aestivum* происходит нарушение материнского наследования органелл, типичного для покрытосеменных. В возникшей сложной гибридной системе допускаются двуродительское наследование и последующая преимущественная сегрегация и дифференциальная амплификация копий органельных ДНК пшеницы, тритикале. Если обратить внимание на изменение набора ядерного генома от гибрида F_1 к BC_2 и сопоставить это с характером передачи родительских органельных геномов в потомство, то очевидно, что определенное соотношение хромосомных факторов родительских геномов в ядре детерминирует и тип передачи органелл.

По результатам исследования ячменно-пшеничных гибридов и их беккроссных потомков прослеживается та же закономерность, что и у вышеописанных гибридов других комбинаций – изменение характера передачи или дифференциальной амплификации определенных районов геномов хлоропластов и митохондрий в зависимости от композиционного состава ядра.

По-видимому, соотношение родительских геномов в ядре или определенных генов детерминирует тип ДНК органелл. Жизнеспособность гибридного растения может достигаться двумя способами: либо сохранением в гибридном ядерном геноме определенных генов, отвечающих за ядерно-цитоплазматическую совместимость, либо путем изменения типа ДНК органелл. Последнее достигается преимущественной репликацией отцовских органелл, гетероплазмией или изменением этих органельных ДНК в результате гибридизации, или мутаций. Наблюдаемая во всех рассмотренных системах «пришлифовка» ядра и цитоплазмы происходила не сразу после факта гибридизации, а в ряду последующих поколений и по-своему в каждом гибриде.

«Аллоплазматические линии» или ядерно-цитоплазматические гибриды, по-видимому, далеко не всегда являются сочетанием ядерных генов одного и органельных генов другого родителя, поскольку в процессе коадаптации материнские ДНК органелл могут замещаться на отцовские или изменяться (Sinyavskaja *et al*., 2001; Kitagawa *et al*., 2002; Aksyonova *et al*., 2005).

Работа была частично поддержана грантами Белорусского № Б02-Р045 и Российского № 02-04-81007, № 05-04-48600 Фондов фундаментальных исследований.

Литература

Бильданова Л.Л., Салина Е.А., Першина Л.А. Особенности рекомбинаций ядерного генома у беккроссного потомства ячменно-пшеничных гибридов *Hordeum vulgare* L. ($2n = 14$) × *T. aestivum* L. ($2n = 42$) // Генетика. 2003. Т. 39, № 12. Р. 1420–1426.

Гордей И.А., Гордей Г.М., Новикова Л.В. Создание ржано-пшеничных амфидиплоидов // Генетика. 1996. Т. 32, № 6. С. 783–787.

Коваль С.Ф., Федотова В.Д. Цитогенетическое и морфологическое изучение аллоплазматических линий сорта Новосибирская 67 // Генетика. 1995. Т. 31, № 6. С. 809–814.

Першина Л.А., Нумерова О.М., Белова Л.И. и др. Восстановление фертильности у беккроссных потомков ячменно-пшеничных гибридов *Hordeum vulgare* L. × *Triticum aestivum* L. в зависимости от генотипов пшеницы, введенных в возвратные скрещивания // Генетика. 1999. Т. 35, № 2. С. 228–236.

Синявская М.Г., Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. и др. Наследование органельных ДНК у гибридов ржи (*Secale cereale* L.) и тритикале (× *Triticale* Thch.) // Генетика. 2004. Т. 40, № 2. С. 218–223.

Синявская М.Г. Взаимосвязь структурных изменений ДНК хлоропластов с формированием элементов продуктивности у аллоплазматических линий пшеницы на цитоплазме ржи // Биологическая продуктивность растений и пути ее повышения: Сб. статей науч.-практ. конференции. Горки, 1999. С. 49–53.

Aksyonova E., Sinyavskaya M., Danilenko N. *et al*. Heteroplasmy and paternally oriented shift of the organellar DNA composition in barley–wheat hybrids during backcrosses by wheat parents // Genome. 2005. (In press).

Anderson J.A., Maan S.S. Interspecific nuclear-cytoplasmic compatibility controlled by genes on group 1 chromosomes in durum wheat // Genome. 1995. V. 38, N 4. P. 803–808.

Asakura N., Nakamura C., Ohtsuka I. A nuclear

compatibility gene, *Ncc-tmp*, of *Triticum timopheevii* for the cytoplasm of *Aegilops squarrosa* // Genes Genet. Syst. 1997. V. 72. P. 71–78.

Coulthart M.B., Spencer D.F., Gray M.W. Comparative analysis of a recombining-repeat-sequence family in the mitochondrial genomes of wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale* L.) // Curr. Genet. 1993. V. 23. P. 255–264.

Davydenko O.G., Terekhov A.Y., Fomchenko N.S. Structural alterations of chloroplast and mitochondrial DNA in progenies of the alloplasmic wheat with rye cytoplasm // Wheat Inform. Serv. 1992. № 75. P. 7–13.

Fedak G. Molecular aids for integration of alien chromatin through wide crosses // Genome. 1999. V. 42. P. 584–591.

Hattori N., Kitagawa K., Takumi S., Nakamura C. Mitochondrial DNA heteroplasmy in wheat, *Aegilops* and their nucleus-cytoplasm hybrids // Genetics. 2002. V. 160. P. 1619–1630.

Laser B., Mohr S., Odenbach W. *et al*. Parental and novel copies of the mitochondrial *orf25* gene in the hybrid crop-plant triticale: predominant transcriptional expression of the maternal gene copy // Curr. Genet. 1997. V. 32. P. 337–347.

Kitagawa K., Takumi S., Nakamura C. Evidence of paternal transmission of mitochondrial DNA in a nucleus-cytoplasm hybrid of timopheevi wheat // Genes Genet. Syst. 2002. V. 77. P. 243–250.

Kitagawa K., Takumi S., Nakamura C. Selective transcription and post-transcriptional processing of the heteroplasmic mitochondrial orf156 copies in the nucleus-cytoplasm hybrids of wheat // Plant Mol. Biol. 2003. V. 53. P. 609–619.

Ohsako T., Wang G.-Z., Miyashita N.T. Polymerase chain reaction – single strand conformational polymorphism analysis of intra- and interspecific variations in organellar DNA regions of *Aegilops* mutica and related species // Genes Genet. Syst. 1996. V. 71. P. 281–292.

Pershina L.A., Numerova O.M., Belova L.I., Devyatkina E.P. Biotechnological and cytogenetic aspects of producing new wheat genotypes using hybrids // Euphytica. 1998. V. 100. P. 239–244.

Provan J., Russell J.R., Booth A., Powell W. Polymorphic chloroplast simple sequence repeat primers for systematic and population studies in the genus *Hordeum* // Mol. Ecology. 1999. V. 8. P. 505–511.

Shaked H., Kashkush K., Ozkan H. *et al*. Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat // Plant Cell. 2001. V. 13. P. 1749–1759.

Sinyavskaja M., Aksyonova E., Dubovets N. *et al*. Alloplasmic wheat with rye cytoplasm: peculiarities of organelle genomes integration and inheritance // Proc. Intern. Conf. «Genetic Collections, Isogenic and Alloplasmic Lines». Novosibirsk, 2001. P. 104–107.

Soliman K., Fedak G., Allard R.W. Inheritance of organelle DNA in barley and *Hordeum* × *Secale* intergeneric hybrids // Genome. 1987. V. 29. P. 867–872.

Tsujimoto H., Panayotov I., Tsunewaki K. Behavior of an extra chromosome carried by alloplasmic common wheat lines having *Agropyron trichophorum* cytoplasm // Japan J. Genet. 1987. V. 62. P. 291–299.

Tsukamoto N., Asakura N., Hattori N. *et al*. Identification of paternal mitochondrial DNA sequences in the nucleus-cytoplasm hybrids of tetraploid and hexaploid wheat with D and D2 plasmons from *Aegilops* species // Current Genetics. 2000. V. 38. P. 208–217.

Change of chloroplast and mitochondrial DNA at wide hybridization in cereals

M.G. Sinyavskaya[1], E.A. Aksyonova [1], L.A. Pershina[2], S.F. Koval [2], N.G. Danilenko [1], O.G. Davydenko [1]

[1] Institute Genetics and Cytology of NASB, 220072, Minsk, Belarus, e-mail: soyanort@home.by;
[2] Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russia, e-mail: pershina@bionet.nsc.ru

Summary

The mode of organelle DNA inheritance was studied in wide gramineae crosses. We have analyzed by PCR – *trnS1*, *3'rbcL* chloroplast (cp) DNA regions and *coxI*, *coxIIE*, *5'cob*, *nad3-orf156*, *18s/5s* mitochondrial (mt) DNA regions. Biparental mtDNA regions were detected in the alloplasmic forms. We revealed also the possibility of maternal organelle DNA substitution by paternal and appearance of new (changed) organelle DNA loci in backcrossed selfpollinated wide crosses hybrids. The nuclear role in this process is discussed.