

УДК 635.25/.26:631.528.1

РЕЗУЛЬТАТЫ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА МЕЖВИДОВОГО ГИБРИДА A. NUTANS L. × A. ODORUM L.

Е. М. ТАРАСОВА, В. А. КОКОРЕВА

(Кафедра селекции и семеноводства овощных и плодовых культур)

У всех исследуемых гибридных форм наблюдалось значительное количество хромосомных aberrаций, в том числе обменного типа (исключение форма 7-11), приводящих к нестабильности гибрида как на уровне популяции, так и в поколениях. Выделена форма, у которой отсутствуют aberrации обменного типа, что указывает на возможность ее стабилизации и использования в качестве исходного материала для селекции. Выявлены статистически значимые различия кариотипов исходных видов *A. nutans* L. и *A. odorum* L., что может являться наиболее вероятной причиной нарушений в мейозе F₁ и хромосомных aberrаций в последующих поколениях гибрида. Делается вывод о необходимости предварительного кариотипического анализа при подборе родительских пар для скрещивания.

Отдаленная гибридизация широко используется при получении исходного материала для селекции. Применение этого метода в скрещиваниях на полиплоидном уровне помогает избежать ряда недостатков, свойственных потомству диплоидных отдаленных гибридов (в частности, стерильности). Однако, как показывает практика, скрещивание полиплоидных форм растений или перевод диплоидных отдаленных гибридов на полиплоидный уровень не устраняет все нежелательные эффекты такого рода. В этой связи хромосомный анализ представляет значительный интерес. Характеристика хромосомного состава

гибридных и исходных форм позволяет, с одной стороны, провести контроль за скрещиванием и дать цитогенетическое обоснование результатам гибридизации, с другой — прогнозировать дальнейшую работу с полученными гибридными формами.

Содержанием настоящей работы являются результаты цитогенетического анализа гибридного потомства F₂ от скрещивания *A. nutans* L. × *A. odorum* L., описанного нами ранее [1]. Необходимость проведения такого анализа была продиктована широкой вариабельностью гибридной популяции F₁ по фенотипу.

В качестве материала исследования использовали проростки семян F₂ 11 форм (вариантов) гибрида *A. nutans* L. × *A. odorum* L. и исходных родительских видов *A. nutans* L. (лук-слизун) и *A. odorum* L. (лук душистый). Анализ хромосомных наборов проводили на метафазных пластинках неокрашенных давленных временных препаратов в иммерсионной системе фазового контраста микроскопа МБИ-15. Техника приготовления метафазных пластинок описана в [3]. Всего в анализе было использовано для гибрида *A. nutans* L. × *A. odorum* L. (F₂) 389 метафазных пластинок, для *A. nutans* L. — 11, для *A. odorum* L. — 10. Учитывали количество аномальных клеток с измененным набором хромосом и разные типы хромосомных aberrаций (изолюкусные разрывы, микрофрагменты, симметричные и асимметричные обмены, кольца и др.). Определяли лабораторную всхожесть семян F₂, метафазный индекс, плоидность и частоту встречаемости анеуплоидных клеток.

Полученные морфометрические характеристики кариотипических групп и систематизацию кариотипов исходных видов *A. nutans* L. и *A. odorum* L. проводили с помощью метода поликариограмм и последовательного анализа распределений хромосом [3, 5]. Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием критериев Стьюдента, Колмогорова — Смирнова, метода χ^2 .

Данные табл. 1 показывают, что у гибрида F₂ во всех вариантах (формах) довольно низкая лабораторная всхожесть семян (не выше 16,1 %) и сравнительно невысокий метафазный индекс (1,4—20,1 %). Тем не менее независимо от способа опыления отмечался чрезвычайно высокий уровень мутирования. Исключение составила форма 7-11, у которой частота встречаемости клеток с aberrациями не превышала 18,2 %. Во всех остальных случаях при гейтеногамном опылении она составляла более 75 %, а при свободном — более 60 %. Следует добавить, что высокая частота встречаемости анеуплоид-

Таблица 1

Лабораторная всхожесть, метафазный индекс и плоидность гибридов F₂ *A. nutans* L. × *A. odorum* L.

Форма	Лабораторная всхожесть, %	Метафазный индекс, %	Распределение клеток по плоидности, %		
			2n-32	2n-48	анеуплоиды
<i>Гейтеногамное опыление</i>					
7-2	11,6	1,4	22,2	0,0	77,8
7-4	9,4	3,2	21,1	0,0	78,9
7-5	13,2	2,8	0,0	0,0	100,0
7-11	16,1	2,1	27,3	0,0	72,7
7-14	12,0	20,1	44,5	2,9	52,6
7-18	10,1	16,4	16,1	0,0	83,9
<i>Свободное опыление</i>					
18	8,6	72,9	73,3	0,0	26,7
24	9,1	13,0	100,0	0,0	0,0
29	6,7	18,0	91,8	0,0	8,2
30	5,0	15,1	60,7	0,0	39,3
137	13,2	2,5	75,0	0,0	25,0

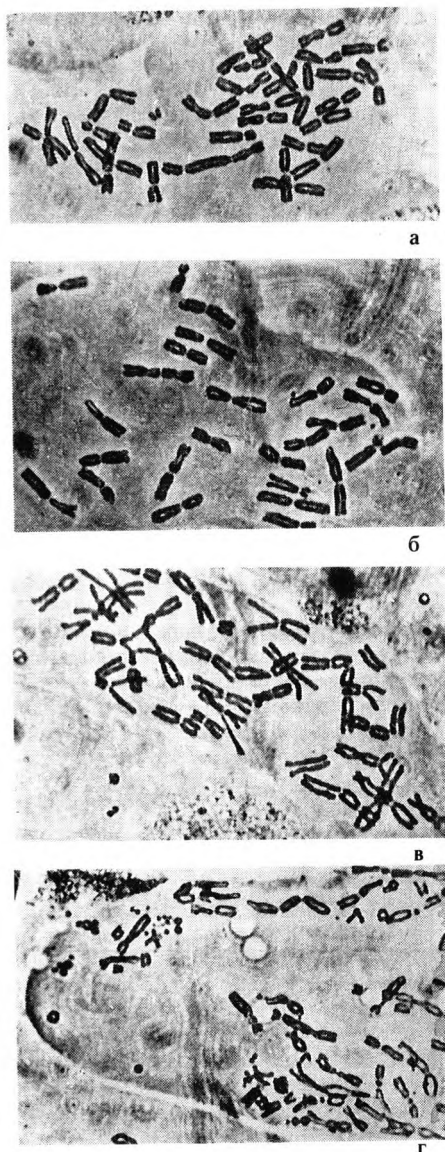


Рис. 1. Метафазная пластинка *A. pitans* L. × *A. odorum* L.

a — микрофрагменты; *б* — дицентрики и фрагменты; *в* — тетрадиалы; *г* — дицентрики, микрофрагменты, фрагменты, кольца, делеции, изолюкусные разрывы.

ных клеток (табл. 1) делает этот уровень более высоким.

Основной тип aberrаций в данном исследовании — хромосомный. Наряду с микрофрагментами (рис. 1, *a*) и изолюкусными разрывами выявлены aberrации хромосомного типа во всех изученных вариантах как в клетках с соматическим числом хромосом ($2n=16, 24, 32, 48$), т. е. кратным основному хромосомному числу ряда $X=8$, так и в анеуплоидных клетках.

Aberrации хроматидного типа наблюдались только в 4 вариантах из 11 изученных, но частота их в сравнении с частотой aberrаций хромосомного типа была незначительной и не превышала 1,7%. Эти aberrации представлены концевыми и интерстициальными делециями, кольцами и тетрадиалами (табл. 2, рис. 1, *в, г*).

Спектр aberrаций хромосомного типа значительно разнообразнее. Наиболее многочисленны дицентрики (рис. 1, *б*) и фрагменты. Частота этих aberrаций достигала соответственно 43,7 и 36,4%. Трицентрики, тетрацентрики, симметричные транслокации можно считать единичными и, по всей видимости, случайными. Частота этих aberrаций по каждому варианту, за исключением формы 30, не превышала 1,5% (табл. 2).

Наличие во всех вариантах, кроме 7-11, изолюкусных разрывов, микрофрагментов, дицентриков и соединенных фрагментов, а также высокая частота каждого из этих типов aberrаций указывает на неслучайность появления их у изученных гибридов. У формы 7-11 спектр aberrаций на 42,9% представлен микрофрагментами и на 57,1% — изолюкусными разрывами.

По литературным данным [2, 4, 6], повышение уровня мутационного процесса — явление нередкое

для отдаленных гибридов. Однако высокая частота мутационных изменений хромосом у гибрида *A. nutans* L. × *A. odorum* L. ставит вопрос о причинах столь серьезных нарушений хромосомного набора у данного гибрида. С этой целью нами было проведено сравнительное изучение хромосомных наборов самих родительских видов *A. nutans* L. и *A. odorum* L.

Оба эти вида — тетраплоиды с соматическим числом хромосом $2n=32$, содержащие в своих наборах по 4 акроцентрические спутничные хромосомы с микроспутниками на коротких плечах (рис. 2). У каждого вида наблюдалось 4 типа спирализации спутничного района: 1 — классический, с четко выраженным спутником и спутничной нитью (27,2 и 50,0 % соответственно для *A. nutans* L. и *A. odorum* L.), 2 — без спутничной нити,

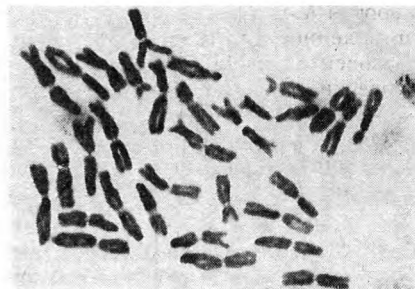
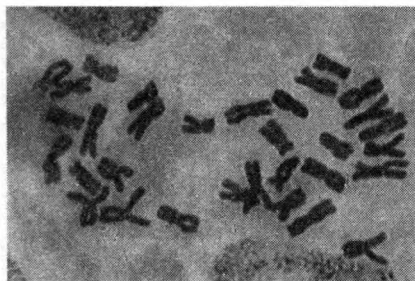


Рис. 2. Метафазная пластинка *A. nutans* L.— сверху ($2n=32$) и *A. odorum* L. ($2n=32$).

с сильно спирализованной спутничной нитью (9,1 и 5,0 %); 3 — без спутника, вторичная перетяжка не обнаруживается в связи с чрезмерной спирализацией спутника и спутничной нити (45,5 и 20,0 %); 4 — диффузный, с частично деспирализованым спутником (18,2 и 25,0 %).

Сравнение характера распределения спутничных хромосом по типу спирализации спутничного района, проведенное с использованием критерия χ^2 , показало, что имеются статистически значимые различия по этому показателю у данных видов ($\chi^2_{0,01}=7,9$, $\chi^2_{0,05}=7,8$).

Для хромосом, не имеющих маркеров, картина получилась иная. В этом случае, используя критерий Колмогорова — Смирнова, мы не обнаружили статистически значимых различий в характере распределения таких хромосом у *A. nutans* L. и *A. odorum* L. ($\lambda^2_M=0,72$, $\lambda^2_1=0,72$). Однако анализ формул кариотипа и морфометрических характеристик кариотипических групп, полученных с помощью метода поликариограмм и последовательного построения распределений хромосом в зависимости от относительной длины и плечевого индекса, свидетельствует о том, что кариотипы *A. nutans* L. и *A. odorum* L. не являются тождественными. Исключение составляют группы спутничных хромосом и малых субметацентриков, включающие по 4 хромосомы (табл. 3). При сравнении морфометрических характеристик этих двух групп не выявлено статистически значимых различий ни по плечевому индексу (соответственно $t_M=0,12$, $t_M=0,00$), ни по относительной длине ($t_l=0,15$, $t_l=0,41$). По остальным группам хромосом отмечены явные различия этих видов луков. В первую очередь различия касались количества

Морфометрическая характеристика кариотипов *A. nutans* L. и *A. odorum* L.

Название группы	Число хромосом в группе	$M \pm m$	$(\bar{l} \pm m)$, %	$(\bar{l} \pm m)$, мкм
<i>A. nutans</i> L. Число клеток 11, $L = (325 \pm 5)$ мкм				
Большие метацентрики	4	$1,00 \pm 0,00$	$3,70 \pm 0,12$	$12,0 \pm 0,39$
Большие субметацентрики	8	$1,23 \pm 0,04$	$3,60 \pm 0,11$	$11,7 \pm 0,36$
Малые субметацентрики	4	$1,20 \pm 0,04$	$2,88 \pm 0,14$	$9,4 \pm 0,46$
Малые субметацентрики с $M > 1,40$	8	$1,55 \pm 0,06$	$2,88 \pm 0,15$	$9,4 \pm 0,49$
Малый метацентрики	4	$1,00 \pm 0,00$	$2,88 \pm 0,16$	$9,1 \pm 0,52$
Спутничные акроцентрики	4	$3,39 \pm 0,30$	$2,66 \pm 0,15$	$8,66 \pm 0,48$
$\Phi = 2(2L_m + 2M_m + 4L_s + 6M_s + 2M_a)$				
<i>A. odorum</i> L. Число клеток 10, $L = (288 \pm 5)$ мкм				
Большие метацентрики	2	$1,00 \pm 0,00$	$3,89 \pm 0,13$	$11,2 \pm 0,37$
Большие субметацентрики	10	$1,26 \pm 0,04$	$3,67 \pm 0,11$	$10,6 \pm 0,32$
Малые метацентрики	4	$1,00 \pm 0,00$	$2,90 \pm 0,15$	$8,4 \pm 0,42$
Малые субметацентрики с $M < 1,40$	6	$1,24 \pm 0,05$	$2,90 \pm 0,10$	$8,4 \pm 0,29$
Малые субметацентрики с $M > 1,40$	6	$1,59 \pm 0,09$	$2,90 \pm 0,14$	$8,4 \pm 0,41$
Спутничные акроцентрики	4	$3,44 \pm 0,31$	$2,28 \pm 0,18$	$6,6 \pm 0,46$
$\Phi = 2(1L_m + 2M_m + 2L_s + 6M_s + 2M_a)$				

Примечание. М — плечевой индекс; l — относительная длина; L — абсолютная длина диплоидного набора; В — большие хромосомы с $l < 3,2$; м — малые хромосомы с $l < 3,2$; m — метацентрики; s — субметацентрики; а — акроцентрики.

хромосом в кариотипических группах. Как видно из рис. 3, хромосомные наборы обоих родительских видов содержат по 6 кариотипических групп, однако число хромосом, входящих в каждую кариотипическую группу, неодинаково.

Полученные данные о числе хромосом, входящих в отдельные кариотипические группы, позволяют сделать предположение о характере полиплоидии. У вида *A. odorum* L. число хромосом в группах малых метацентриков и спутничных хромосом кратно 4, для остальных кариотипических групп оно кратно 2, что указывает на возможность аллополиплоидного происхождения, по крайней мере, некоторых групп хромосом этого вида.

У *A. nutans* L. число хромосом в каждой кариотипической группе кратно 4. Скорее всего здесь мы сталкиваемся с автополиплоидией.

Сравнение средних значений абсолютной длины тетраплоидных наборов *A. nutans* L. и *A. odorum* L., проведенное с помощью критерия Стьюдента, также показало статистически значимые различия ($t_L = 5,2$ при $t_{0,05} = 1,98$).

Имеются данные [4 и др.] о наличии хромосомных aberrаций у отдаленных диплоидных гибридов *A. sepa* L. \times *A. fistulosum* L., *A. sepa* L. \times *A. pskemense* B. Fedtsch., *A. sepa* L. \times *A. vavilovii* M. Pop. et Vved. Эти aberrации наблюдались в F_1 названных гибридов в соматических клетках с частотой, ненамного превышающей частоту спон-

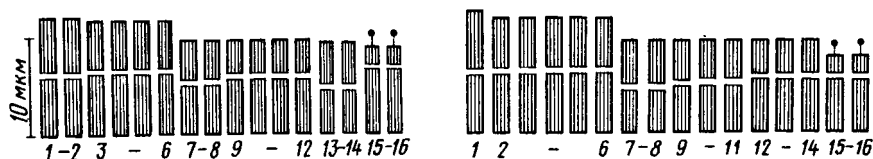
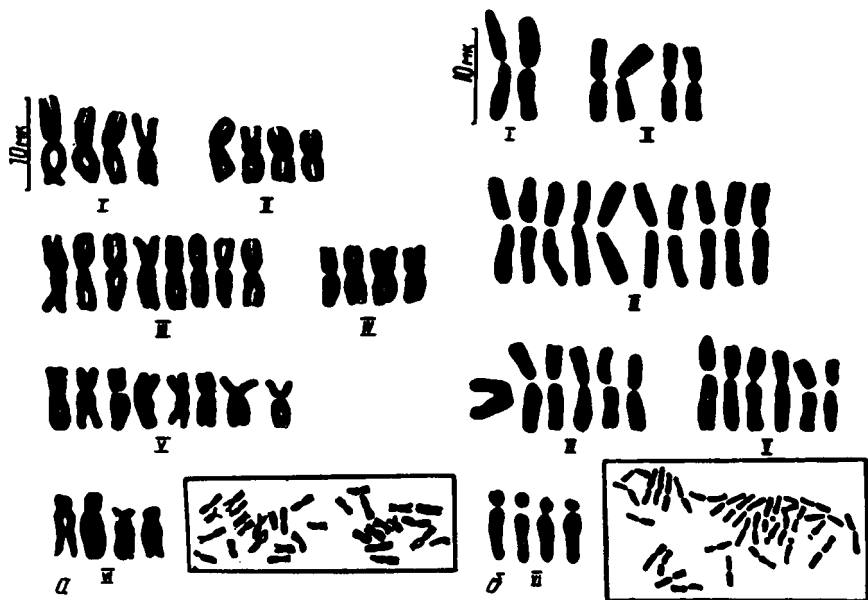
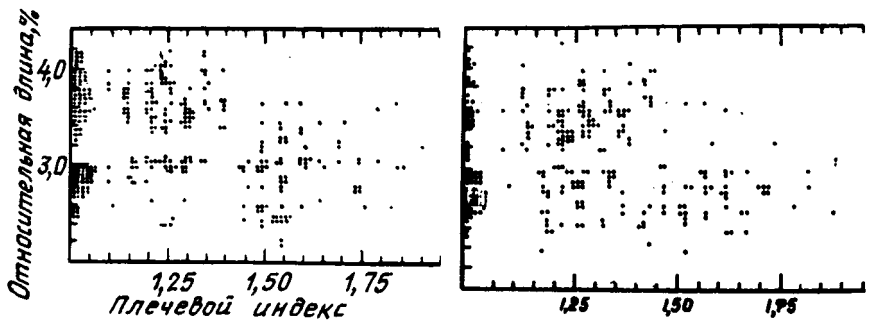


Рис. 3. Поликардиограммы (вверху), систематизированные кариотипы (посередине) и идиограммы (внизу).
 1 — *A. nutans* L., 2 — *A. odorum* L.

танного хромосомного мутагенеза в природе. В дальнейшем данные гибриды F_1 характеризовались высокой стерильностью. По мнению авторов, возникновение aberrаций в хромосомных наборах отдаленных гибридов связано с повышением мутационного фона, вызванного влиянием присутствующих в клетках хромосом, принадлежащих другому виду.

Родительские виды гибрида *A. nutans* L. \times *A. odogum* L., изученного в нашей работе, кариологически, казалось бы, вполне подходят для получения отдаленного гибрида, обладающего нормальной фертильностью и семепродуктивностью: оба вида тетраплоиды с одинаковым соматическим числом хромосом $2n=32$. Однако полученные нами данные (низкая всхожесть семян F_2 , невысокий метафазный индекс и высокая частота геномных и хромосомных аномалий) указывают на недостаточность соблюдения соответствия только этих показателей при подборе родительских пар для скрещивания.

Одним из результатов детального сравнительного кариотипического анализа исходных родительских видов *A. nutans* L. и *A. odogum* L., проведенного с помощью методов количественной идентификации хромосом, явилось установление полной статистически значимой идентичности в группах спутничных хромосом и малых метацентриков у этих видов, которая наблюдалась как в морфологии хромосом, так и в средних значениях их относительных параметров. Этот факт наряду с отсутствием значимых различий в характере распределений хромосом, не имеющих маркеров по относительной длине и плечевому индексу, а также визуальное сходство поликардиограмм *A. nutans* L. и *A. odogum* L. позволяют предположить возмож-

ность филогенетической близости этих видов на каком-то этапе эволюции. В остальных кариотипических группах отмечены явные различия как по количеству хромосом в группе, так и по морфометрическим характеристикам. Интересно, что, несмотря на отмеченную выше идентичность спутничных хромосом у изучаемых двух видов лука, в характере распределения этих хромосом по типу спирализации спутничного района наблюдались значимые различия. Совершенно очевидно, что при имеющихся различиях в кариотипах данных видов, в том числе по абсолютной длине диплоидных наборов и характеру полиплоидии, нормальное протекание мейоза в F_1 *A. nutans* L. \times *A. odogum* L. маловероятно. Высокий уровень aberrаций у всех форм этого гибрида подтверждает данное предположение, а высокая частота aberrаций обменного типа (так называемых мостов) указывает на нестабильность, неизбежно возникающую в каждом поколении. Ситуация «мост — разрыв — воссоединение», создающаяся спонтанно в каждом следующем цикле, будет происходить на качественно новом уровне. Следовательно, в каждом поколении, в том числе и клеточном, будет складываться новая картина в спектре хромосомных aberrаций.

Исходя из полученных данных, мы вправе считать гибрид *A. nutans* L. \times *A. odogum* L. нестабильным в генетическом отношении. Исключение может представлять форма 7-11, единственная из всех изученных в работе форм, у которой отсутствуют aberrации обменного типа. Этот факт указывает на возможность стабилизации данной формы и использования ее в качестве исходного материала для селекции.

Выводы

1. Методом метафазного анализа показано, что для F_2 межвидового гибрида лука *A. nutans* L. \times *A. odorum* L. характерно большое количество хромосомных aberrаций, что указывает на нестабильность данного гибрида. Из 11 изученных гибридных форм выделена форма, у которой отсутствуют aberrации обменного типа, что говорит о возможности ее стабилизации и использования в качестве исходного материала для селекции.

2. Методом статистического анализа хромосом дана детальная характеристика кариотипов *A. nutans* L. и *A. odorum* L., на основании которой составлены формулы кариотипа и построены идиограммы.

Сравнительное исследование количественных характеристик кариотипических групп показало значимые различия кариотипов родительских видов *A. nutans* L. и *A. odo-*

rum L., которые можно рассматривать как основную причину нарушений в мейозе F_1 и появления хромосомных aberrаций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кокорева В. А., Тарасова Е. М. Характеристика межвидовых гибридов луков-слизуна (*A. nutans* L.) и душистого (*A. odorum* L.).— Изв. ТСХА, 1991, вып. 4, с. 75.— 2. Карпеченко Г. Д. Теория отдаленной гибридизации.— В кн.: Теоретич. основы селекции.— М.-Л.: Сельхозгиз, с. 292—354.— 3. Тарасова Е. М. Исследование кариотипов девяти видов рода *Allium* L.— Бюл. ВИР, 1973, вып. 29, с. 74—87.— 4. Тарасова Е. М., Кокорева В. А. Биолого-морфологическая и кариологическая характеристика межвидового гибрида F_1 *A. scera* L. \times *A. pskemense* V. Fedtsch.— Изв. ТСХА, 1982, вып. 3, с. 102—109.— 5. Patau K.— Amer. J. Human Genetics, 1960, vol. 12, p. 250—257.— 6. Poole Ch. F.— Agric. Sci. Univ. of Calif., 1932, N 6, p. 9.

Статья поступила 12 марта 1991 г.

SUMMARY

In all investigated hybrid forms considerable amount of chromosome aberrations, including those of exchange type (except 7—11 form), resulting in non-stable hybrid both on population level and in generations was found. The form without exchange type aberration, which shows that it may be stabilized and used as the stock for selection, has been picked up. Statistically significant distinctions of karyotypes in initial species *A. nutans* L. and *A. odorum* L. have been found, which can be the most probable cause of disturbances in F_1 meiosis and of chromosome aberrations in subsequent hybrid generations.