

УДК 633.11: 575.222.73

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГИБРИДОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ  
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) С ПШЕНИЦЕЙ ТИМОФЕЕВА  
(*TRITICUM TIMOPHEEVII* ZHUK.)

Е.П. УХИНОВА, В.В. ПЫЛЬНЕВ, В.С. РУБЕЦ

(Кафедра селекции и семеноводства полевых культур)

Проведен анализ мейоза и фертильности пыльцы у гибридов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с пшеницей Тимофеева (*Triticum timopheevii* Zhuk.). Обнаружены нарушения в микроспорогенезе и фертильности пыльцы у межвидовых гибридов. Описан характер этих нарушений и частота их возникновения у различных гибридных комбинаций. Сделан вывод, что количество нормальных пыльцевых зерен у изучаемых образцов достаточно для протекания нормального опыления и оплодотворения.

*Ключевые слова:* отдаленные гибриды, микроспорогенез, фертильность пыльцы, пшеница Тимофеева.

Использование сравнительно небольшого числа сортов мягкой пшеницы при создании новых сортов привело к резкому сужению генофонда культуры. Это, в частности, может существенно сказаться на устойчивости современных сортов пшеницы к различным заболеваниям, увеличивает опасность возникновения и степень проявления вредоносности эпифитотий. Генетический материал мягкой пшеницы по таким признакам, как иммунитет к различным болезням, устойчивость к неблагоприятным условиям внешней среды и продуктивность, практически исчерпан [11]. Проблему обогащения генофонда мягкой пшеницы можно решить за счет использования генофонда ее дикорастущих сородичей. Одним из видов пшеницы, используемых в селекции в этих целях, является *Triticum timopheevii*, который обладает многими генами устойчивости к различным заболеваниям. Однако геномный состав (AAGG) и число хромосом этого вида ( $2n=28$ )

обуславливают трудную скрещиваемость его с мягкой пшеницей (AABBKK;  $2n=42$ ), а также стерильность гибридов  $F_1$ . Данное затруднение преодолевается путем возвратного скрещивания гибридов соответствующим исходным сортом.

Успех в решении проблем отдаленной гибридизации, связанных с несовместимостью геномов исходных видов, во многом зависит от знания особенностей протекания мейоза у гибридов. В процессе мейоза у них происходят рекомбинация, хромосомные и геномные перестройки и формирование функциональных гамет различного хромосомного состава, определяющие генетическое разнообразие и цитогенетическую стабильность следующих поколений гибридов [4]. В связи с этим у отдаленных гибридов со сложными межгеномными взаимодействиями необходимо исследование цитогенетических особенностей мейотических процессов.

В данной работе представлены результаты цитогенетического анализа

микроспорогенеза и фертильности пыльцы у гибридов, полученных от скрещивания *Triticum aestivum* L с *Triticum timopheevii* Zhuk.

### Материалы и методы

В исследованиях использовалось 30 линий  $F_7$  —  $F_8$  мягкой яровой пшеницы и пшеницы Тимофеева: 11 линий (Л-25-1 — Л-25-11) от скрещивания (Новосибирская 67 *Triticum timopheevii*) X Новосибирская 67; 19 линий (Л-6-1 — Л-6-19) от скрещивания (Жница X *Triticum timopheevii*) X Жница; сорта яровой мягкой пшеницы Новосибирская 67 и Жница; линия *Triticum timopheevii* К-47793.

Цитологический анализ фертильности пыльцы и мейоза проводили на окрашенных ацетокармином давленных препаратах пыльников [8]. Колосья фиксировали по Карнуа (3:1). При анализе мейоза подсчитывали и описывали характер аномалий у 10 растений каждой линии и родительского сорта. За исходный критерий генетической стабильности принят мейоз в родительских сортах. При исследовании фер-

тильности пыльцы определяли процент стерильных пыльцевых зерен. В каждой линии анализировали по 5000 пыльцевых зерен.

### Результаты и их обсуждение

Во всех изученных гибридных комбинациях  $F_7$  —  $F_8$  и в родительских сортах мейоз характеризуется отклонениями от нормального течения, хотя частота встречаемости таких отклонений различна. На стадии метафаза I наиболее характерным было невключение части унивалентных хромосом (от 0,4 до 10,5%) в метафазную пластинку (рис. 1 а). В анафазе I мейоза отмечали неравномерное расхождение хромосом к полюсам, реже встречались хромосомные и хроматидные мосты.

Характер деления хромосом зависит от полярной ориентации их центромер [12, 14]. При делении и расхождении клеточных центров в начале мейоза унивалентная хромосома получает биполярный тип ориентации центромеры и способность к эквационному делению на хроматиды. В процессе спаривания и синапсиса возникает пре-

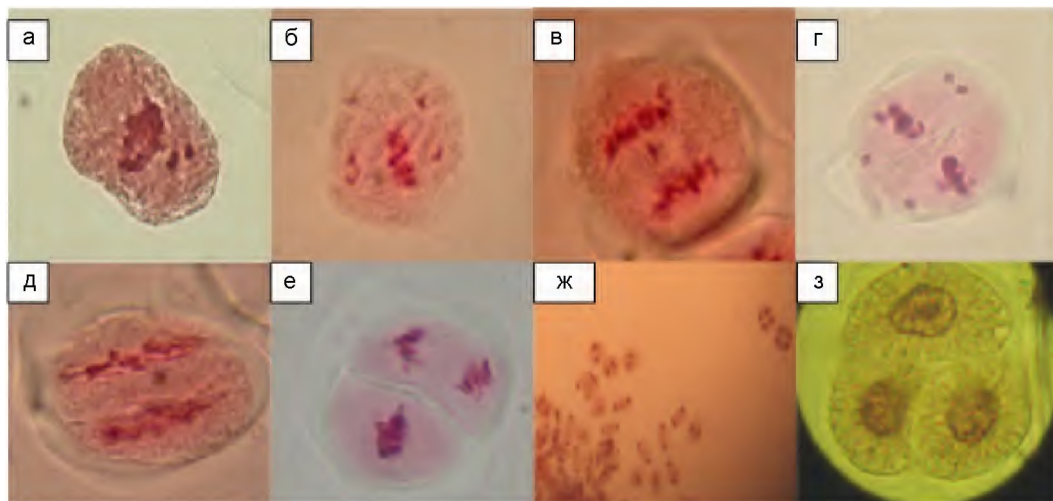


Рис. 1. Нарушения в мейозе: а — отдельно лежащие хромосомы в М-I; б — преждевременное расхождение хромосом в А-I; в — отставание хромосом в А-II; г- преждевременное расхождение хромосом в А-II; д -отставание хромосом в А-II; е — асинхронное расхождение в А-II; ж— клетки, находящиеся в стадиях от М-I до тетрад в одном пыльнике; з — триада

пятствие для образования биполярной ориентации центромер. В результате у хромосом в составе бивалентов и десинаптических псевдоуниверсалов сохраняется униполярная центромерная ориентация, и они расходятся к полюсам без деления на хроматиды (редукционное деление). Соотношение типов деления хромосом в АI зависит от участия генетических систем контроля уровня конъюгации и степени синапсиса исходных видов и их взаимодействия у гибридов различных комбинаций скрещивания.

Возможно, что у изученных гибридов процесс гомеологичной конъюгации препятствовал возникновению у части гомеологов биполярной ориентации центромер. Унивалентные хромосомы, случайным образом разбросанные по периферии клетки в МI, в АI оказывались вблизи формирующихся клеточных центров или активно сдвигались в эти области, сегрегировав по типу редукционного деления ранее хромосом бивалентных ассоциаций («забегания») (рис. 1б). Включенные в метафазную пластинку унивалентные хромосомы в АI делились эквационно и сегрегировали позже («отставания») основной массы хромосом (рис. 1в). При этом трудно точно определить, к какому полюсу отойдут отставшие хро-

мосомы. Возможно, что отставшие хромосомы правильно разойдутся по «своим» полюсам и общее число хромосом в клетках диад нарушено не будет. Частота клеток с нарушениями в АI была достаточно высокой и колебалась от 2,4 до 34,6% (табл. 1, 2).

Во втором делении наблюдали отставания и забегания хромосом, мосты (рис. 1 г, д). Часто в пределах одного пыльника встречались клетки, находящиеся в стадиях от диакинеза до тетрад, наблюдалась асинхронность деления (рис. 1 е, ж). Все это, в конце концов, приводит к возникновению дефектных тетрад (рис. 1 з), а также к частичному формированию стерильной пыльцы.

Частоты встречаемости клеток с нарушениями на различных этапах мейоза для всех изучаемых форм приведены в таблицах 1 и 2.

Все изучавшиеся формы по числу тетрад с нарушениями практически не отличаются друг от друга. Мейотический индекс колеблется от 99,6 до 100%. А, как известно, при мейотическом индексе выше 90% растение считается цитологически стабильным, т.е. оно воспроизводит в потомстве стабильное число хромосом [8].

Таким образом, нарушения, отмеченные нами на других этапах мейо-

Таблица 1

**Анализ мейоза и фертильности пыльцы гибридов, полученных от скрещивания (Новосибирская 67 *Triticum timopheevii*) x Новосибирская 67 (в среднем за 2007-2008 гг.)**

Сорт/ Линия	Нарушения, %				Стерильная пыльца, %
	метафаза I	анафаза I	анафаза II	тетрады	
Л-25-1	6,3±0,60	4,2±0,02	10,4±1,40	—	3,0±0,20
Л-25-2	2,4±0,30	11,1±0,60	7,7±0,90	—	5,1±0,10
Л-25-3	1,9±0,70	13,7±3,10	19,0±5,60	0,1±0,04	0,6±0,10
Л-25-4	3,2±0,30	29,1±8,40	29,4±9,10	0,1±0,06	0,8±0,04
Л-25-5	2,2±0,20	6,3±1,50	9,2±3,40	—	5,2±0,10
Л-25-6	2,5±0,80	11,5±0,20	10,1±1,30	—	2,9±0,02
Л-25-7	2,7±0,20	2,5±1,10	7,0±0,80	—	1,8±0,09
Л-25-8	10,5±0,10	20,3±4,50	17,6±4,60	0,1±0,06	4,2±0,10
Л-25-9	8,5±1,20	11,4±3,90	12,6±4,00	0,4±0,04	2,3±0,09
Л-25-10	8,4±1,00	27,1±9,50	20,7±5,60	—	2,5±0,20
Л-25-11	1,4±0,09	10,1±1,10	13,1±2,90	0,1±0,02	2,9±0,20
Новосибирская 67	2,5±0,80	2,4±0,20	10,2±0,50	—	1,2±0,30

Таблица 2

Анализ мейоза и фертильности пыльцы гибридов, полученных от скрещивания (Жница x *Triticum timopheevii*) x Жница (в среднем за 2007-2008 г.)

Сорт/ Линия	Нарушения, %				Стерильная пыльца, %
	метафаза I	анафаза I	анафаза II	тетрады	
Л-6-1	2,8±0,50	34,6±12,20	31,1±12,40	—	3,9±0,02
Л-6-2	3,7±0,60	32,0±9,70	29,7±9,50	—	4,8±0,07
Л-6-3	1,5±0,50	26,1±9,80	11,2±2,70	—	4,2±0,04
Л-6-4	2,6±0,30	12,5±1,40	22,0±6,80	0,1±0,04	3,4±0,60
Л-6-5	5,0±1,00	23,1±2,20	25,8±8,80	—	5,0±0,02
Л-6-6	10,4±0,80	13,2±3,50	14,0±5,70	0,05±0,02	18,4±1,50
Л-6-7	1,8±0,20	20,2±4,90	25,4±10,10	—	1,0±0,09
Л-6-8	2,8±0,40	5,0±1,60	6,9±1,00	0,2±0,10	5,1±0,30
Л-6-9	2,2±0,80	23,2±6,40	12,7±2,80	0,2±0,04	4,1±0,09
Л-6-10	1,4±0,10	16,9±1,70	28,8±8,60	0,1±0,07	3,0±0,50
Л-6-11	8,6±0,80	8,5±2,20	13,9±4,70	—	6,5±0,30
Л-6-12	4,5±0,40	7,6±1,20	13,0±4,70	0,1±0,04	3,7±0,40
Л-6-13	7,2±0,40	20,3±2,60	21,8±6,90	—	7,2±0,09
Л-6-14	0,4±0,10	21,7±4,30	11,5±3,20	0,2±0,07	8,8±0,02
Л-6-15	8,9±0,02	9,2±2,20	7,6±2,50	—	15,6±0,80
Л-6-16	2,0±0,20	12,0±3,50	5,2±0,30	—	7,1±0,40
Л-6-17	2,6±0,60	9,3±0,30	12,5±1,70	—	5,9±0,10
Л-6-18	2,1±0,50	12,3±1,40	7,1±0,20	—	5,5±0,70
Л-6-19	2,0±0,40	14,0±4,50	15,1±4,60	—	21,0±0,40
Жница	4,1±0,50	11,4±3,50	12,3±3,10	—	1,1±0,20

за, не повлияли на частоту видимых нарушений на стадии тетрад.

Нарушения в правильности течения мейоза у гибридов и родительских форм отражаются и на их спермиогенезе. Одной из основных причин стерильности отдаленных гибридов является их цитогенетическая нестабильность [11]. Нарушения мейоза могут стать причиной снижения частоты функционально способных гамет [6]. Еще в 1926 г. Г. Тишлер, изучая цитологические причины стерильности, сделал вывод, что различные нарушения в распределении хромосом во время мейоза приводят к частичной или полной стерильности гамет [15]. В других случаях фертильная пыльца формируется, но ее количество не обеспечивает растрескивание пыльников [3, 5]. Ряд авторов считают, что на растрескивание пыльников оказывают влияние условия во время микроспорогенеза и в период цветения [3, 5, 10].

Однако не только низкая фертильность пыльцы и нерастрескиваемость

пыльников являются причинами низкой плодовитости отдаленных гибридов [2, 3]. Предполагается, что причиной низкой завязываемости является нарушение функционирования завязей, семяпочек и зародышевых мешков [7].

Исследования фертильности — стерильности пыльцы в момент цветения колоса показали наличие в пыльниках пыльцевых зерен следующих типов (рис. 2): 1 — фертильные: пыльцевые зерна с двумя спермиями и вегетативным ядром (А); 2 — стерильные: пыльцевые зерна с двумя ядрами (Б, В); пыльцевые зерна с одним ядром (Е); пыльцевые зерна без содержимого (пустые) (Г).

Из всех вышеназванных типов чаще всего наблюдались пыльцевые зерна первого типа, на втором месте — четвертого типа. Кроме того, нередко наблюдались пыльцевые зерна, в которых происходили процессы плазмолиза цитоплазмы (рис. 2 Б), а также пыльцевые зерна с недоразвитыми

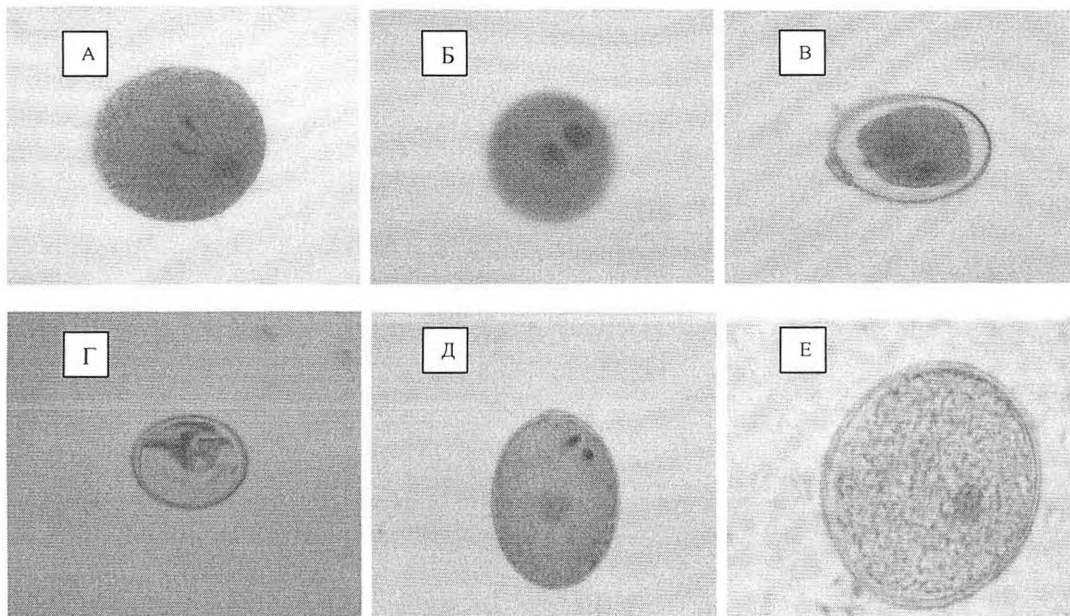


Рис. 2. Типы пыльцевых зерен: А — с двумя спермиями и вегетативным ядром; Б, В — с двумя ядрами; Г — без содержимого (пустые); Д — с недоразвитыми спермиями; Е — с одним ядром

спермиями (рис. 2 Д). Наряду с хорошо выполненными пыльцевыми зёрнами встречались более или менее слабо выполненные. Дегенерация пыльцевых зёрен происходит на всех фазах развития, особенно же часто на одной и двухъядерной стадиях. Стерилизация пыльцы выражается в резком нарушении процесса вакуолизации в пыльцевых зёрнах, дегенерации и плазмоллизе цитоплазмы и ядра, остановке митоза на двухъядерной стадии.

Процесс «стерилизации» гипотетически может зависеть от нарушений процессов как мейоза, так и микроспорогенеза на любой стадии развития микроспор и пыльцевых зёрен. Дегенерация пыльцы начинается после распада тетрад микроспор, что может объясняться нарушениями в питании пыльцевых зёрен за счет недоразвития сосудистой системы тычиночных нитей [13].

Процент фертильной пыльцы у всех гибридов довольно высок (91,2-99,4%).

Большинство гибридов показывают фертильность на уровне родительских форм (95,6-98,9%). Относительно высокая фертильность у гибридов, по видимому, связана с элиминацией дефектных клеток на разных этапах мейоза. В итоге можно предположить, что причиной аномалий мейоза является недостаточная гомологичность хромосом исходных форм [9].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что уровень фертильности *T. timopheevii* (95,6%) ниже, чем у сортов мягкой пшеницы (98,8%), что также ранее было отмечено Н.И. Вавиловым [1]. Наблюдалось изменение процентного содержания фертильных пыльцевых зёрен у *Triticum timopheevii* по годам. В 2007 г. оно составляло 92,1, а в 2008 г. — 99,2% (табл. 3).

Линии Л-6-6 (81,6%), Л-6-15 (84,4%) и Л-6-19 (79,0%), полученные от скрещивания (Жница x *Triticum timopheevii*) x Жница отмечают пониженным содержанием фертильных пыльцевых

Таблица 3

Процентное содержание фертильных и стерильных пыльцевых зерен  
в родительских сортах

Линия, сорт	2007 г.				2008 г.				В среднем за 2007–2008 гг.			
	пыльца											
	фертильная		стерильная		фертильная		стерильная		фертильная		стерильная	
	количе- ство	%	коли- чество	%	коли- чество	%	коли- чество	%	коли- чество	%	количе- ство	%
Жница	4925	98,5	75	1,5	4963	99,3	37	0,7	4944	98,9	56	1,1
Новосибирская 67	4907	98,1	93	1,9	4975	99,5	25	0,5	4941	98,8	59	1,2
<i>T.timopheevii</i>	4605	92,1	395	7,9	4960	99,2	40	0,8	4782	95,6	218	4,4

зерен. Причем эта закономерность наблюдается в оба года исследований.

Линии, полученные от скрещивания (Новосибирская 67 х *Triticum timopheevii*) х Новосибирская 67, характеризуются стабильностью и показывают высокий уровень фертильности (94,8–99,4%). Данный показатель внутри комбинации варьирует незначительно.

Анализ данных показал, что процент фертильной пыльцы у линий, полученных от скрещивания (Новосибирская 67 х *Triticum timopheevii*) х Новосибирская 67 выше, чем у линий от скрещивания (Жница х *Triticum timopheevii*) х Жница.

Линия Л-25-10, полученная от скрещивания (Новосибирская 67 х

*Triticum timopheevii*) х Новосибирская 67, хотя и содержит высокое число зерен в колосе (30), характеризуется низкой массой зерна (36,1 г). Остальные линии в данной комбинации находятся на одном уровне или превосходят родительский сорт по всем элементам структуры урожая (табл.4).

Линии Л-6-6 и Л-6-15, полученные от скрещивания (Жница х *Triticum timopheevii*) х Жница, которые отличались пониженной фертильностью по таким показателям, как число продуктивных колосков в колосе и число зерен в колосе, уступают родительскому сорту, но по массе 1000 зерен значительно превосходят его (табл. 5).

При сравнении двух изучаемых комбинаций между собой можно заметить,

Таблица 4

Структурный анализ гибридов, полученных от скрещивания  
(Новосибирская 67 х *Triticum timopheevii*) х Новосибирская 67  
(в среднем за 2007–2008 гг.)

Сорт / линия	Высота растений, см	Длина колоса, см	Число продуктивных колосков в колосе	Число зерен в колосе	Вес 1000 зерен, г
Л-25-1	75,0	7,0	13	29	38,5
Л-25-2	76,5	7,0	13	29	37,3
Л-25-3	76,5	7,0	14	28	39,1
Л-25-4	76,5	7,5	13	31	39,1
Л-25-5	77,5	7,5	13	30	40,0
Л-25-6	78,5	7,0	12	24	37,7
Л-25-7	79,5	7,0	12	27	38,4
Л-25-8	80,5	7,0	11	24	36,6
Л-25-9	77,0	7,0	13	25	37,2
Л-25-10	76,0	7,0	12	30	36,1
Л-25-11	73,5	7,0	12	27	39,1
Новосибирская 67	79,5	6,5	13	24	36,5

**Структурный анализ гибридов, полученных от скрещивания  
(Жница x *Triticum timopheevii*) x Жница** (в среднем за 2007-2008 гг)

Сорт / линия	Высота растений, см	Длина колоса, см	Число продуктивных колосков в колосе	Число зерен в колосе	Масса 1000 зерен, г
Л-6-1	81,0	7,5	13	30	40,2
Л-6-2	79,5	8,0	12	26	40,3
Л-6-3	74,0	8,5	12	29	44,0
Л-6-4	79,0	8,0	12	31	42,7
Л-6-5	73,0	8,0	13	30	41,0
Л-6-6	79,0	8,5	11	23	45,8
Л-6-7	80,0	9,0	13	33	43,0
Л-6-8	76,0	8,5	13	33	41,9
Л-6-9	74,5	7,5	12	26	44,6
Л-6-10	83,5	8,5	12	27	41,7
Л-6-11	83,0	8,5	12	28	40,3
Л-6-12	77,5	8,5	13	32	41,9
Л-6-13	83,0	8,0	12	28	40,0
Л-6-14	77,0	7,5	11	25	42,5
Л-6-15	69,5	7,5	11	22	43,9
Л-6-16	75,5	9,0	13	28	41,5
Л-6-17	78,5	8,5	12	25	43,1
Л-6-18	71,5	8,0	13	31	39,8
Л-6-19	73,0	8,0	12	26	40,9
Жница	75,0	7,0	12	25	40,5

что линии, полученные от скрещивания (Новосибирская 67 X *Triticum timopheevii*) X Новосибирская 67, по числу зерен в колосе (25) и массе 1000 зерен (38,1 г) уступают линиям, полученным от скрещивания (Жница X *Triticum timopheevii*) X Жница (28 и 42,1 г соответственно).

На основании данного исследования мы пришли к заключению, что хотя у изученных гибридов обнаружены нарушения в правильности течения микроспорогенеза и спермиогенеза,

процент нормальных микроспор и пыльцевых зерен у них достаточно высок для протекания нормального опыления и оплодотворения. Таким образом, уровень плодовитости отдаленных гибридов определяется не нарушениями микроспорогенеза, а другими факторами. Возможно, частичная стерильность гаметоцитов, нестабильность процесса оплодотворения и аномалии в эндоспермогенезе вызваны межгеномной и ядерно-цитоплазматической несбалансированностью.

#### Библиографический список

1. Вавилов Н.И. Сб. Теоретические основы селекции растений, 1935. Т.2. С. 107.
2. Колее Д., Кажыилов Н. Цитологические исследования пшенично-ржаных амфидиплоидов // Цитология и генетика, 1970. №1. С. 3-10.
3. Любимова В.Ф. Механизм включения отдельных геномов пырея в геномный комплекс твердой пшеницы // Генетика, 1991. №6. С. 1020-1033.
4. Люсиков О.М., Белько Н.Б., Щетъко И.С., Гордей И.А. Создание ржано-пшеничных амфидиплоидов с цитоплазмой ржи — секалотритикум (RRAABB, 2n =42): особенности мейоза у ржано-тритикальных гибридов Fi (RRAABR, 5x=35) // Генетика, 2005. №7. С. 902-909.
5. Мустафаев И.Д., Пиралов Г.Р. Биологические особенности пшенично-эгилопсных и пшенично-ржаных гибридов // Сельскохозяйственная биология, 1977. №2. С. 194-196.

6. Першина Л. А., Шумный В. К., Белова Л. И., Нумерова О. М. Ячменно-ржаные гибриды и их потомство от первого возвратного скрещивания с рожью // Цитология и генетика, 1986. №2. С. 125-130.

7. Поддубная-Арнольди В. А. Микроспорогенез и спермиогенез у ржано-пырейных гибридов // Отдаленная гибридизация растений. Зерновые и зернобобовые культуры. М., 1970. С. 259-267.

8. Пухальский В. А., Соловьев А. А., Бадаева Е. Д., Юргцев В. Н. Практикум по цитологии и цитогенетике растений. М.: КолосС, 2007.

9. Серюкова Е. Г., Шаманин В. П., Леонтьев С. И., Серпухов Г. М. Изучение особенностей мейоза у яровых пшенично-пырейных гибридов // Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур, 2003. С. 61-62.

10. Шив Чаран Шарма. Совместимость геномов некоторых видов тетраплоидной и гексаплоидной пшеницы с цитоплазмой *Triticum timopheevii*: Автореф. канд. дисс. биол. наук. М., 1970.

11. Ячевская Г. Л., Наумов А. А. Использование метода отдаленной гибридизации в селекции пшеницы. М., 1990.

12. Aragon-Alkaide L., Reader S., Miller T., Moore G. Centromeric behaviour in wheat with high and low homoeologous chromosomal pairing // Chromosoma, 1997. V/106/ P. 327-333.

13. Joppa L.R., Me Neal F.H., Welsh J.R. Pollen and anthers development in cytoplasmic male sterile wheat *T.aestivum* L. // Crop Sci., 1966. V.6. P. 296-297.

14. Vega J.M., Feldman M. Effect of the Pairing Gene Phi on centromere misdivision in common wheat // Genetics, 1998. V. 148. P. 1285-1294.

15. Tischler G. Investigation concerning the Causation of gametic sterility // Memoirs of the Horticultural Soc. of New-York 3, 1927.

Рецензент — д. б. н. А. А. Соловьев

#### SUMMARY

Both Meiosis and pollen fertility analyses have been carried out in hybrids of soft wheat (*Triticum aestivum* L.) and Timopheev wheat (*Triticum timopheevii* Zhuk.). Abnormalities in microsporogenesis and pollen fertility in interspecific hybrids are found. The type of these abnormalities and frequency of their emergence in various hybrid combinations have been described. It has been inferred from this that the quantity of normal pollen grains in test samples is sufficient for the normal process of pollination and fertilization.

*Key words:* remote hybrids, microsporogenesis, pollen fertility, Timopheev wheat.