

УДК 635.25'264:631.527.5

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ
ПРИЗНАКОВ ДИПЛОИДНЫХ И АМФИДИПЛОИДНЫХ ГИБРИДОВ
A. SERA L. × A. FISTULOSUM L.

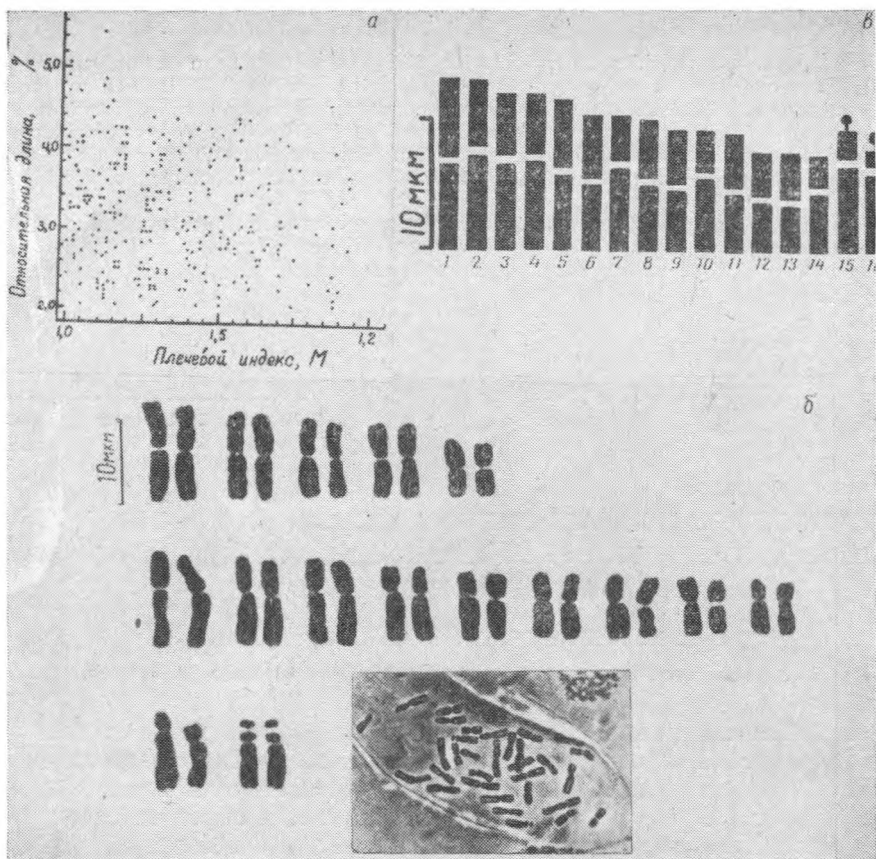
В. А. КОМИССАРОВ, Е. М. ТАРАСОВА, М. САНГАРЕ

(Кафедра селекции и семеноводства овощных и плодовых культур)

Отдаленная гибридизация широко используется при получении исходного материала для селекции. Применение данного метода в роде *Allium* L., в частности в межвидовых скрещиваниях лука репчатого *A. sera* L. с батунном *A. fistulosum* L., позволяет передать луку репчатому отсутствующие у него ценные признаки — ветвление, скороспелость, зимостойкость и засухоустойчивость. Однако стерильность отдаленных гибридов, проявляющаяся уже в F_1 , является основным препятствием в дальнейшей селекционной работе с этими гибридами. Главная причина снижения фертильности гибридов — несбалансированность на ядерно-цитоплазматическом уровне, в результате которой происходят нарушения в процессах мейоза. Повысить фертильность гибридного потомства можно путем искусственного получения полиплоидных форм отдаленных гибридов или использования спонтанно возникших амфидиплоидов. В этой связи представляет интерес анализ хромосомного состава гибридных и исходных форм лука.

Настоящая работа посвящена биолого-морфологической и кариологической характеристике гибридной популяции, полученной от скрещивания лука репчатого (мать) с луком-батуном (отец).

В исследованиях были использованы гибриды F_1 *A. sera* L. × *A. fistulosum* L., полученные В. А. Кокоревой на Овощной опытной станции им. В. И. Эдельштейна в 1980 и 1981 гг. Гибридная популяция состояла в 1-й год жизни из 266, во 2-й год — из 139 растений. Кроме того, изучали потомство от 4 гибридов, отличающихся повышенной фертильностью и семяпродуктивностью. Предполагали, что это потомство — амфидиплоиды. Численность популяции на 1-м году жизни составила 212, на 2-м — 36 растений. В контроле было 16 растений *A. fistulosum* L. и 15 растений *A. sera* L. Биометрические учеты и фенологические наблюдения проводили по общепринятым методикам, фертильность пыльцы определяли методом окрашивания в растворе ацетокармина. Индивидуальный учет поражаемости растений пероноспорозом вели по методике ВИЗР. Для кариологического анализа использовали проростки семян, полученных в результате скрещивания. Анализ хромосомных наборов проводили на микрофотографиях метафазных пластинок неокрашенных давленных препаратов. Полученные результаты морфометрического анализа кариотипов обрабатывали статистически с использованием методов количественной идентификации хромосом.



Поликариограмма (а), кариотип (б) и идиограмма (в) амфидиплоида *A. сера* L. × *A. fistulosum* L.

Гибриды стерильной популяции, как и исходные виды, были диплоидами с соматическим числом хромосом $2n=16$. Гибриды фертильной популяции оказались тетраплоидами ($2n=32$). Абсолютная длина хромосомного набора L диплоидного гибрида колебалась от 130 до 220 мкм, размер хромосом l варьировал в пределах 6—18 мкм. Для тетраплоида эти значения соответственно составляли 220—370 и 5—15 мкм. Диплоидные луки (как гибрид, так и исходные виды) несли в своих кариотипах по одной паре, тетраплоиды — по две пары спутничных хромосом, которые являлись акроцентриками с хорошо выраженными спутниками на коротких плечах. Однако морфология спутничного района исходных видов была различной, что проявилось в гетероморфизме составляющих пару спутничных хромосом диплоидного и тетраплоидного гибридов; строение каждой хромосомы в спутничной хромосомной паре гибрида соответствовало морфологии спутничной хромосомы исходного вида. Одна из них обладала микроспутником, присущим спутничным хромосомам *A. сера* L., другая — макроспутником, характерным для спутничных хромосом *A. fistulosum* L. (рисунок, б). Результаты измерений среднего значения плечевого индекса M (отношение большего и меньшего плеч хромосомы) и относительной длины l этих хромосом представлены в табл. 1. Остальные хромосомы имели мета- и субметацентрическое строение. Как видно из поликариограммы тетраплоида (рисунок, а), хромосомы без маркеров четко разделялись только на две группы: метацентрики (M находится в пределах 1,00—1,20) и субметацентрики (1,20—1,95). В связи с этим идентификацию данных хромосом у тетраплоида проводили «методом наибольшего подобия гомологов». Оказалось, что для тетраплоида характерно наличие

Морфометрическая характеристика кариотипа амфидиплоида
A. сера L. × A. fistulosum L.

Кариотипическая группа	$\bar{M} \pm m$	$(\bar{i} \pm m) \%$	$(\bar{i} \pm m)$ мкм
Большие хромосомы			
1 — метацентрики	1,08±0,02	4,2±0,12	12,2±0,35
2 — субметацентрики	1,41±0,07	4,1±0,12	11,9±0,35
3 — »	1,42±0,04	3,8±0,12	11,1±0,35
4 — »	1,51±0,08	3,7±0,12	10,8±0,35
5 — метацентрики	1,09±0,04	3,7±0,12	10,8±0,35
6 — »	1,06±0,02	3,3±0,14	9,6±0,40
7 — субметацентрики	1,72±0,05	3,3±0,14	9,6±0,40
8 — »	1,15±0,02	3,2±0,14	9,3±0,40
Малые хромосомы			
9 — субметацентрики	1,17±0,03	2,9±0,16	8,4±0,46
10 — »	1,71±0,06	2,9±0,16	8,4±0,46
11 — метацентрики	1,09±0,03	2,8±0,16	8,3±0,46
12 — субметацентрики	1,21±0,04	2,3±0,17	6,7±0,49
13 — метацентрики	1,05±0,03	2,3±0,17	6,7±0,49
14 — субметацентрики	1,80±0,09	2,2±0,17	6,4±0,49
15 — акроцентрики (спутничные)	3,21±0,34	2,8±0,16	8,2±0,46
16 — » »	4,68±0,40	2,4±0,17	7,0±0,49

$$K = 2n = 32 = 2(3L_m + 5L_s + 2M_m + 4M_s + 2M_c)$$

П р и м е ч а н и е. Число хромосом в каждой кариотипической группе равно 2.

вместе со спутничными хромосомами 16 пар хромосом: 3 пар больших и 2 пар малых метацентриков, 5 пар больших и 4 пар малых субметацентриков, 2 пар малых акроцентриков (рисунок, б). Данная систематизация находится в соответствии с результатами изучения кариотипов исходных видов [8] и указывает на амфидиплоидный характер изученного лука. Для каждой кариотипической группы вычислены средние значения морфометрических параметров (табл. 1). На основании этих результатов составлена формула кариотипа и построена идиограмма (рисунок, в). Морфометрические данные кариотипов исходных видов и их диплоидного гибрида были опубликованы ранее [3, 8].

Полученные гибриды *A. сера L. × A. fistulosum L.* — многолетние растения с двухлетним циклом развития, по основным фенотипическим признакам занимают промежуточное положение по отношению к исходным видам. В отличие от диплоидных гибридных форм, у которых в 1-й год жизни формировалась луковица диаметром около 2 см, у амфидиплоидов на протяжении всего вегетационного периода образования луковицы не отмечалось. По морфологическим признакам гибридная популяция F_1 (как диплоидная, так и амфидиплоидная) характеризовалась значительной изменчивостью: наряду с явно гетерозисными растениями встречались формы с промежуточным или депрессивным по отношению к исходным видам проявлением фенотипических признаков. Такие признаки, как число листьев, ветвей, диаметр соцветия, варьировали у отдельных растений в широких пределах. Коэффициенты вариации по высоте растений у амфидиплоидов и диплоидных гибридов составляли соответственно 18,3 и 12,4 %. Форма соцветий у гибридов и исходных форм была практически одинаковой, округло-плоской. Индекс соцветия для всех луков варьировал в пределах 0,7.

Морфологическая характеристика изученных гибридов приведена в табл. 2. По признакам количество ветвей и стрелок семенные растения гибридных форм занимали промежуточное положение между *A. сера L.* и *A. fistulosum L.* Период начала цветения диплоидной и амфидиплоидной популяции (19—20 дней) был почти в 4 раза больше,

Характеристика межвидового гибрида F_1 *A. cepa* L. \times *A. fistulosum* L.

Показатель	Диплоид		Амфидиплоид		<i>A. fistulosum</i> L.		<i>A. cepa</i> L.	
	\bar{x}	min—max	\bar{x}	min—max	\bar{x}	min—max	\bar{x}	min—max
1-й год жизни								
Высота растений, см	42,4	12—70	50,4	19—78	—	—	46,9	32—58
	$\pm 0,9$		$\pm 1,5$				$\pm 2,0$	
Число ветвей	1,4	1—4	1,0	1—1	—	—	1,1	1—11
Число листьев	6,1	2—16	4,7	2—9	—	—	8,7	7—11
Диаметр листа, см	0,9	0,2—2,5	1,9	0,5—3,0	—	—	1,1	0,8—1,3
	$\pm 0,0$		$\pm 0,1$				$\pm 0,2$	
2-й год жизни								
Высота растений, см	93,4	62—125	82,9	56—115	64,5	50—80	86,9	50—113
	$\pm 1,4$		$\pm 5,5$		$\pm 3,0$		$\pm 8,7$	
Число ветвей	8,9	2—25	6,8	3—12	12,2	5—21	4,6	3—8
Число стрелок	7,5	2—20	5,9	3—9	7,9	2—15	4,4	3—7
Диаметр соцветий, см	4,8	2—8	5,4	3—8	5,7	4—8	7,8	5—9
	$\pm 0,1$		$\pm 0,1$		$\pm 0,3$		$\pm 0,5$	
Индекс соцветия	0,7	0,4—1,0	0,7	0,5—1,0	0,7	0,6—0,9	0,7	0,6—0,9
Диаметр вздутия стрелки, см	2,2	1,0—3,5	2,9	2—4	2,3	1,5—2,5	2,4	1,5—3,0
	$\pm 0,0$		$\pm 0,2$		$\pm 0,1$		$\pm 0,4$	
Начало цветения у отдельных растений	20/VI—9/VII		10/VI—1/VII		10—15/VI		9—14/VII	

чем у исходных видов. Фертильность пыльцы диплоидных гибридов в 1981 и 1982 гг. составила соответственно 30 и 29,6 % — значительно меньше, чем у амфидиплоидов (92 и 90,6 %). Семяпродуктивность амфидиплоидов при свободном опылении в эти годы была около 30 %, в то время как у диплоидных гибридов F_1 не превышала 0,5 %. У исходных видов уровень семяпродуктивности был около 50 %. Всхожесть семян амфидиплоидов, исходных видов и гибридных семян составляла соответственно 50, 85 и 30 %.

Степень поражаемости семенников пероноспорозом зависела от погодных условий. Для диплоидных гибридов она не превышала 0,5 балла (1981 г.), для амфидиплоидов — 1,5 балла (1982 г.).

Согласно результатам исследований [4, 5, 9], скрещивание *A. cepa* L. с *A. fistulosum* L. протекает легко, гибриды F_1 жизнеспособны, устойчивы к головне и розовой гнили, луковиц не образуют, хорошо размножаются вегетативно и высокостерильны.

Как указывает А. В. Кузнецов [5], в первых поколениях гибридов доминируют фенотипические признаки *A. fistulosum* L. В наших опытах отклонения фенотипа гибридов в сторону *A. fistulosum* L. не происходило. Более того, на 1-м году жизни гибридные растения образовывали небольшую луковицу. В остальном наши результаты согласуются с данными [5]. С. Эмвеллер и Н. Джонс [11] отмечают, что при обратном скрещивании (*A. fistulosum* L. \times *A. cepa* L.) в F_1 наблюдается некоторая фертильность гибридов, которая повышается при тщательном отборе среди большого количества растений на устойчивость к головне и розовой гнили. Несмотря на то, что всхожесть гибридных семян при таком скрещивании была выше [4], семян образовывалось меньше, чем при прямом скрещивании. При свободном опылении растений F_1 завязываемость семян очень низкая — 0,5—3,2 % [3], что согласуется с нашими результатами, хотя большинство растений в нашем опыте вообще не завязывало семян, а у остальных формировалось небольшое количество низкокачественных семян. По данным [7], достаточно высокая всхожесть семян у луков наблюдается лишь к 30—35-дневному возрасту, семена же межвидовых гибридов *A. cepa* L. \times *A. fistulosum* L. либо вообще лишены зародыша, либо обладают слаборазвитым зародышем, по возрасту не превосходящим 20-дневный зародыш семени

репчатого лука. Семена с такими зародышами в естественных условиях не всходят.

Основным препятствием для успешного получения межвидовых гибридов является различное распределение повторяющихся последовательностей в хромосомах даже близкородственных видов [13]. Структурные различия хромосом делают их неспособными нормально конъюгировать в мейозе, что приводит к стерильности. Резкие различия кариотипов *A. cepa* L. и *A. fistulosum* L., выявленные с помощью количественных и качественных методов идентификации хромосом [8, 20 и др.], подтверждаются ранее полученными данными цитогенетического анализа. А. Леван [15], отмечает, что хромосомы *A. cepa* L. крупнее хромосом *A. fistulosum* L. В последующих работах было обнаружено, что геном *A. cepa* L. содержит на 27—33% больше ДНК, чем геном *A. fistulosum* L. [1, 19], а характер распределения радиоактивной метки в спутничных хромосомах *A. cepa* L. иной, чем у *A. fistulosum* L. [12]. С другой стороны, различия между кариотипами этих видов определяются морфологией хромосомных наборов, в частности их морфометрическими характеристиками и рисунком гетерохроматина, содержащего повторяющиеся последовательности [20]. Совершенно очевидно, что различия кариотипов *A. cepa* L. и *A. fistulosum* L. обуславливают невозможность нормального протекания мейоза у их гибридов. Действительно, по данным [12, 15—17], у F_1 *A. cepa* L. \times *A. fistulosum* L. в отличие от исходных видов в мейозе значительно меньше хиазм и бивалентов, присутствуют фрагменты и, как результат неравного кроссинговера, образуются новые типы хромосом.

При переходе диплоидных гибридов на полиплоидный уровень резко повышается их фертильность. Именно этим фактом объясняется высокая фертильность некоторых гибридных растений в нашем опыте. Обнаруженные в популяции стерильных гибридов F_1 *A. cepa* L. \times *A. fistulosum* L. высокофертильные растения оказались спонтанными амфидиплоидами. Кариологический анализ показал, что число маркированных и немаркированных хромосом у них вдвое больше, чем у стерильного гибрида F_1 . По фертильности пыльцы и семяпродуктивности амфидиплоиды превосходили диплоидные гибриды соответственно в 3 и 60 раз.

Амфидиплоиды *A. cepa* L. \times *A. fistulosum* L. — двухлетние растения с соматическим числом хромосом $2n=32$, легко дают семена, фенотипы этих растений весьма разнообразны [14, 16]. В частности, Х. Джонс и А. Кларк [14] отмечают, что амфидиплоиды превосходят исходные виды по высоте растения, размерам цветков, устьиц, пыльцевых зерен, а также по массе семян и росту куста. В наших опытах полного гетерозиса по этим показателям не наблюдалось, хотя амфидиплоиды характеризовались большей мощностью развития (разветвленность куста, ширина листа), чем диплоидные гибриды или исходные виды. Повышенная фертильность и семяпродуктивность амфидиплоидов объясняются тем, что мейоз у них протекает почти без отклонений. Как указывает А. Леван [16], в отличие от диплоидных гибридов, для которых наличие в мейозе фрагментов, микроядер, хроматиновых тяжелей является закономерным, у амфидиплоидов такие нарушения встречаются редко. Тем не менее семян в соцветии у амфидиплоидов образуется значительно меньше (так называемая «частичная стерильность амфидиплоида»), чем у любого из исходных видов [10]. Это наблюдалось и в нашем опыте.

Снижение семенной фертильности амфидиплоидов по сравнению с таковой у исходных видов отмечено не только у межвидовых гибридов лука, но и у гибридов других культур [18]. В настоящее время выдвигаются различные предположения относительно причин стерильности отдаленных гибридов — практически полной у диплоидов и частичной у амфидиплоидов. По имеющимся на сегодняшний день данным [6], механизмы этого явления в первую очередь связаны с частичной цитогене-

нетической нестабильностью и имеют общую природу как для диплоидных, так и для амфидиплоидных гибридов.

Выводы

1. Популяция межвидовых гибридов F_1 *A. cepa* L. \times *A. fistulosum* L. оказалась очень неоднородной по основным биолого-морфологическим признакам. Наряду с основной массой гибридов, обладающих промежуточным характером наследования ветвистости, количества стрелок и других признаков, наблюдались гетерозисные и слабые растения.

2. Анализ хромосом показал, что гибридная популяция состоит из диплоидных и амфидиплоидных растений. Определены морфометрические характеристики выделенных кариотипических групп амфидиплоида, на основании которых систематизирован его кариотип, построена идиограмма и составлена формула кариотипа.

3. Диплоидные гибриды характеризовались высокой стерильностью пыльцы и неспособностью к образованию семян. Фертильность и семяпродуктивность амфидиплоидов были выше, чем у диплоидных гибридных форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гиндилис В. М., Бадаев Н. С., Павулсоне С. А., Барский В. Е. Определение содержания ДНК в индивидуальных хромосомах растений. — Изв. АН СССР, 1972, сер. биол., № 4, с. 480—488. — 2. Иорданский А. Б., Матюшина Е. Д., Павулсоне С. А., Гиндилис В. М. Эффект доминирования при репродукции спутничных хромосом у межвидовых гибридов *A. cepa* L. \times *A. fistulosum* L. — Докл. АН СССР, 1969, сер. биол., т. 189, № 1, с. 188—191. — 3. Кокорева В. А. Особенности межвидовой гибридизации лука репчатого с дикорастущими видами. — Автореф. канд. дис. М., 1982. — 4. Кривенко А. А. Биологические скрещивания луков. — Биол. журн., 1937, т. 6, № 3, с. 459—478. — 5. Кузнецов А. В., Туголуков В. П. Изменчивость морфологических признаков у межвидовых гибридов лука. — Тр. Кубан. СХИ, 1981, № 197—225, с. 99—107. — 6. Орлова И. Н. Цитогенетическая стабильность и фертильность отдаленных гибридов. — Тез. докл. 4-го съезда ВОГиС 1—5 февраля 1982 г. М., 1982. — 7. Полумордвинова И. В., Ерина О. И., Рябкова В. И. Изучение развития семян и зародышей разных видов лука и их межвидовых гибридов. — Тр. ВНИИССОК, 1980, № 12, с. 133—139. — 8. Тарасова Е. М. Кариологические признаки некоторых диплоидных видов рода *Allium* L. — Бюл. ВИРа, 1973, вып. 31, с. 66—72. — 9. Юрьева Н. А., Титова И. В. О межвидовой гибридизации лука. — Тр. ВНИИССОК, 1980, № 12, с. 98—104. — 10. Davis E. — Amer. J. Bot., 1955, vol. 42, N 1, p. 41—48. — 11. Emsweller S., Jones H. — Hilgardia, 1935, vol. 9, N 5, p. 265—273. — 12. Emsweller S., Jones H. — Hilgardia, 1935, vol. 9, N 5, p. 277—294. — 13. Interfase between molecular biology and plant breeding. — Science, 1982, vol. 216, N 4552, p. 1306—1307. — 14. Jones H., Clarke A. — Yearbook of agriculture, 1947, vol. 143. — 15. Levan A. — Hereditas, 1936, Bd 21, N. 1—2, p. 195—214. — 16. Levan A. — Hereditas, 1941, Bd 27, N. 3—4, p. 253—272. — 17. Maeda T. — Jap. j. Genet., 1937, vol. 13, N 3—4, p. 146—159. — 18. Rao N., Ponnaiya B., Menon P. — Madras Agr. j., 1980, vol. 67, N 3, p. 148—156. — 19. Rees H., Jones R. — Nature, 1967, vol. 216, N 5117, p. 825—826. — 20. Vosa C. — Heredity, 1976, vol. 36, N 3, p. 383—392.

Статья поступила 15 марта 1983 г.

SUMMARY

Comparative characteristics are given for morphobiological characters of sterile and fertile forms of hybrid plants: population F_1 received from crossing *A. cepa* L. \times *A. fistulosum*. The majority of plants have intermediate character of inheritance of phenotypic features of the original species. The quantitative analysis of chromosomes showed that the fertile hybrid population is represented by 32-chromosome amphidiploids and has rather high seed production. Diploid hybrids were characterized by high level of pollen sterility and inability to produce seeds. Morphometric characteristics of karyotypic groups of amphidiploids, idiogramme and formula of the carotype are given in the article.