

УДК 635.64:575.2

ЗВ'ЯЗОК ЦИТОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ МЕЙОЗУ У ГІБРИДІВ F₁ ТОМАТА З КІЛЬКІСНОЮ МІНЛИВІСТЮ В F₂

© 2007 р. П. Ю. Монтвід^{1,2}, О. М. Черкаський¹, О. П. Самовол¹

¹*Інститут овочівництва і баштанництва Української академії аграрних наук
(п/в Селекційне, Харківська обл., Україна)*

²*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)*

Проведено дослідження зв'язку частоти хіазм в F₁ та прояву кількісної мінливості в F₂ у томата. Виявлено достовірний тісний зв'язок між сумарною частотою хіазм й параметрами мінливості ознак продуктивності та негативний – між даним показником і ознакою «висота головного стебла». Зроблено висновок про можливе існування еволюційно відпрацьованого механізму генетичної адаптації, який може сприяти підвищенню конкурентоздатності щодо інших видів рослин в природних умовах.

Ключові слова: *Lycopersicon esculentum* Mill., *γ*-опромінення, гібрид F₁, хіазма, біваленти, кількісні ознаки

Актуальною проблемою сучасної генетики і селекції є створення генетичного різноманіття, насамперед, за рахунок підвищення потенційної генотипної мінливості та її перетворення на доступну [2].

Відомо, що основними джерелами доступної для добору мінливості є мутації і, насамперед, рекомбінації [4]. Необхідність індукування рекомбінацій за рахунок впливу мутагенних та екстремальних чинників при внутрішньо- і міжвидовій гібридизації зумовлюється існуванням коадаптованих блоків генів, «заборонених» зон хромосом та можливістю підвищення частоти трансгресивних форм [2].

Слід також зазначити, що вплив мутагенних чинників на частоту хіазм, рівень рекомбінації й, особливо, спектр генотипної мінливості, досліджений на різних об'єктах, не відповідає простій моделі. Так, наприклад, обробка насіння гібридів F₁ перцю солодкого антирекомбіногенним чинником (0,002% діазоацетилбутан + центрифугування) призвела до зміни середніх значень ознак, зростання дисперсій, прояву форм з підвищеним значеннями ознак або їх новим поєднанням. При цьому за довжи-

ною пагона до першого плоду, загальною кількістю плодів, у тому числі стандартних, також одержано істотне збільшення [12]. Це свідчить про те, що реакція геному на рівні хромосом, їх окремих сегментів або зон на рекомбіногенний або антирекомбіногенний вплив не завжди відображає адекватність відповіді. Аналогічні дані одержані в експерименті з індукування змін параметрів розподілу модельних кількісних ознак томата [15].

Вважають, що основними причинами змін, що спостерігаються, можуть бути зрушення розщеплення за локусами, які відповідають за відмінності вихідних форм, зміни рівня кросинговеру зчеплених генів немаркованих зон, а також зниження «квазізчеплення» [4].

Для баклажана виявлено неоднозначний зв'язок онтогенетичної пристосованості, частоти хіазм і порушень мейозу у гібридів F₁ за впливу екстремальних чинників середовища та спектра генотипної мінливості в їх потомствах [10, 11].

Вважають, що основні механізми, відповідальні за перетворення потенційної генотипної мінливості на доступну відбору, діють під час мейозу [13]. Встановлено відповідність хіазм сайтам кросинговеру [14], а також експериментально підтверджено положення про відповідність частоти хіазм та їх локалізації кіль-

Адреса для кореспонденції: Монтвід Павло Юрійович,
Інститут овочівництва і баштанництва УААН, п/в Селекційне Харківського р-ну Харківської обл., 62478, Україна;
e-mail: ovoch@intercomplect.kharkov.ua

ЗВ'ЯЗОК ЦИТОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ МЕЙОЗУ

Таблиця 1

Якісний та кількісний склад хіазм у внутрішньовидових гібридів F₁ томата

Гібридна комбінація	Варіант обробки	Частота хіазм на мейоцит		Кількість нетипових бівалентів (типу «8») на мейоцит
		інтерстиціальних	сумарна	
Мо 500 × СХ – 4	контроль	2,57 ± 0,12	12,71 ± 0,15	0
	7 кР	1,72 ± 0,11*	14,06 ± 0,17*	0,09 ± 0,02*
	15 кР	1,47 ± 0,10*	13,88 ± 0,19*	0,17 ± 0,03*
Мо 500 × Шедевр-1	контроль	1,60 ± 0,11	13,67 ± 0,14	0,06 ± 0,01
	7 кР	2,47 ± 0,11*	13,42 ± 0,16	0,07 ± 0,02
	15 кР	1,68 ± 0,12	13,0 ± 0,12*	0,09 ± 0,02
Мо 500 × Карась	контроль	2,0±0,10	13,55±0,21	0,09±0,01
	7 кР	1,85±0,10	13,55±0,21	0,10±0,01
	15 кР	2,71±0,14*	14,38±0,17*	0,19±0,01*
Мо 500 × Кременчуцький	контроль	3,04±0,11	14,37±0,20	0,09±0,01
	7 кР	2,08±0,12*	12,87±0,20	0,09±0,01
	15 кР	2,13±0,08*	13,47±0,28	0,33±0,05*

Примітка: * - відмінності між контролем та варіантом з обробкою (7 або 15 кР) достовірні за $p < 0,05$

кості та розподілу актів кросинговеру, що є фундаментальним принципом, який покладено в основу цитогенетичного аналізу процесів рекомбінації [16]. Тобто, облік частоти та якісного розподілу хіазм дозволяє інтегрально характеризувати рекомбінаційний процес в цілому, а локальна його характеристика може бути одержана шляхом обліку частоти, рівня рекомбінації й «квазізчеплення» [2]. Проте зв'язок рекомбінаційних і цитологічних параметрів мейозу й спрямованості (підвищення максимального ліміту господарсько цінних ознак) кількісної мінливості залишається дослідженим недостатньо.

Метою даної роботи було вивчення зв'язку цитологічних критеріїв, що характеризують кросинговер, таких, як частота хіазм, у тому числі інтерстиціальних, та нетипових бівалентів у гібридів F₁ томата з проявом кількісних ознак в наступному поколінні за впливу γ -опромінення на сухе гібридне насіння в дозах 7 і 15 кР.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили у 2005 – 2006 рр. Для гібридизації як батьківські форми використовували сорти томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) СХ-4, Шедевр-1, Карась та Кременчуцький, материнську форму – багатомаркерну лінію Мо 500. Гібридизацію здійснювали згідно із загальноприйнятою методикою [1]. Сухе насіння гібридів F₁ опромінювали γ -променями в дозах 7, 10 і 15 кР на установці закритого типу

«Исследователь» (180 Р/хв). Пуп'янки розміром 1,6-1,8 мм фіксували в фіксаторі Кларка (суміш абсолютного етанолу та льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1), зберігали в 70%-ному етанолі. Частоту хіазм на мейоцит, кількість нетипових бівалентів (з трьома хіазмами), визначали на стадії раннього діакінезу профазі I, використовуючи мікроскоп „Микмед-1” (збільшення × 800), на тимчасових оцтокармінних препаратах пиляків, які перед фарбуванням витримували протягом 1 години в 4% залізоамонійному галуні [3]. На кожен препарат досліджували 50 мейоцитів.

F₂ (потомства внутрішньовидових гібридів F₁, 25 – 40 рослин на кожен комбінацію схрещування) досліджували в польових умовах за ознаками: висота головного стебла, кількість китиць на головному стеблі, загальна кількість плодів на рослині, індекс форми плоду.

Цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики та кореляційного аналізу [9]. Достовірність різниці між варіантами визначали з урахуванням t- критерію Стьюдента та ф-критерію Фішера для часток варіант [8]. Частоту трансгресій в F₂ обчислювали за методом незалежних рівнів [5].

РЕЗУЛЬТАТИ

Згідно з результатами цитологічної оцінки, у рослин гібридів F₁ Мо 500 × СХ – 4 та Мо 500 × Кременчуцький максимальна частота

Таблиця 2

Частота трансгресій за кількісними ознаками в популяціях внутрішньовидових гібридів F₂

Гібридна комбінація	Варіант обробки	Параметри мінливості кількісних показників									
		Висота головного стебла, м		Кількість китиць на головному стебл. шт.		Загальна кількість плодів на 1 рослинні, шт.		Індекс форми плоду, b/d			
		$\bar{x} \pm m_x$	$K/\%$	$\bar{x} \pm m_x$	$K/\%$	$\bar{x} \pm m_x$	$K/\%$	$\bar{x} \pm m_x$	$K/\%$	$\bar{x} \pm m_x$	$K/\%$
Mo 500 x CX-4	К	0,83±0,11	2/8	4,2±0,37	1/4	74,6±7,96	0/-	1,29±0,03	0/-		
	7 кР	1,72±0,01*	1/4	7,4±0,24*	0/-	104,6±2,52*	0/-	1,28±0,02	0/-		
	15кР	1,69±0,02*	0/-	7,4±0,24*	0/-	101,8±2,42*	1/3,3	1,28±0,03	0/-		
Mo 500 x Шедевр-1	К	1,48±0,27	2/7,1	5,6±0,24	2/7,1	81,0±6,60*	1/3,6	1,30±0,02*	0/-		
	7 кР	1,03±0,05	0/-	4,2±0,20	1/3,7	53,6±6,43	0/-	1,03±0,02	0/-		1/3,7
	15кР	1,94±0,02*	3/10,7	5,0±0,24	3/10,7	95,0±17,35	0/-	1,28±0,02	0/-		
Mo 500 x Карась	К	1,22±0,06	1/4	4,2±0,2	2/7,1	54,2±3,57	0/-	1,03±0,04	0/-		
	7 кР	1,48±0,22	0/-	4,4±0,24	1/4	102,2±4,18*	0/-	1,02±0,02	0/-		1/4
	15кР	1,18±0,10	0/-	7,4±0,40*	1/4	113,8±4,47*	1/4	1,33±0,02*	0/-		0/-
Mo 500 x Кременчуцький	К	1,33±0,02	0/-	7,2±0,37	1/4	100,6±4,75*	1/4	0,97±0,02	1/4		
	7 кР	1,40±0,05	1/3,7	5,0±0,45	0/-	73,2±12,89	0/-	1,05±0,03	0/-		1/3,7
	15кР	1,14±0,10	1/4,5	4,6±0,24	2/9,1	86,8±7,51	0/-	1,05±0,01*	0/-		0/-

Примітки: 1. $K/\%$ – в чисельнику і знаменнику – кількість і частота трансгресивних генотипів відповідно до їх прояву в F₂;

2. * - відмінності між контролем та варіантом з обробкою (7 або 15 кР) достовірні при $p < 0,05$

ЗВ'ЯЗОК ЦИТОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ МЕЙОЗУ

інтерстиціальних хіазм спостерігалася в контролі (табл. 1). Зростання даного показника за впливу γ -опромінення насіння спостерігалася в F_1 Мо 500 \times Шедевр-1 (7 кР) і Мо 500 \times Карась (15 кР). Проте, сумарна частота хіазм збільшувалась у трьох з чотирьох досліджених гібридів при опроміненні насіння в дозі 15 кР (Мо 500 \times СХ – 4, Мо 500 \times Шедевр-1, Мо 500 \times Карась, див. табл.1), як і кількість нетипових бівалентів на мейоцит (Мо 500 \times СХ – 4, Мо 500 \times Карась, Мо 500 \times Кременчуцький). Зростання наведених параметрів мейозу при опроміненні в дозі 7 кР спостерігалася лише в F_1 Мо 500 \times СХ – 4 (див. табл. 1).

γ -опромінення насіння F_1 призводило, в цілому, до зростання середнього значення ознак в наступному поколінні (табл. 2). Особливо чітко прояв даного ефекту ми спостерігали в F_2 Мо 500 \times СХ – 4 (варіанти 7 і 15 кР, ознаки «висота головного стебла», «кількість китиць на головному стеблі», «загальна кількість плодів на рослині») та Мо 500 \times Карась (варіант обробки в дозі 15 кР, ознаки «кількість китиць на головному стеблі», «загальна кількість плодів на рослині») та «індекс форми плоду», див. табл. 2), Мо 500 \times Шедевр-1 (ознака «висота головного стебла», 15 кР, див. табл. 2). У результаті частота трансгресій в варіанті обробки 15 кР зростала, наприклад, в F_2 Мо 500 \times Шедевр-1, за ознакою «кількість китиць на головному стеблі», Мо 500 \times Карась – за ознакою «загальна кількість плодів на рослині») та Мо 500 \times Кременчуцький – за ознакою «кількість китиць на головному стеблі». Проте винятками були контрольні варіанти Мо 500 \times СХ – 4 («висота головного стебла», «кількість китиць на головному стеблі»), Мо 500 \times Шедевр-1 («загальна кількість плодів на рослині»), Мо 500 \times Карась («кількість китиць на головному стеблі», «загальна кількість плодів на рослині», див. табл.2). Але це добре узгоджується з підвищеною частотою інтерстиціальних хіазм у гібридів F_1 Мо 500 \times СХ – 4 і Мо 500 \times Кременчуцький в контрольному варіанті.

Таким чином, згідно з результатами наших досліджень, γ -опромінення насіння F_1 (особливо в дозі 15 кР) призвело до зростання цитологічних параметрів, що характеризують кросинговер – сумарної частоти хіазм, кількості нетипових бівалентів на мейоцит. Внаслідок цього відбувалося зростання середніх значень кількісних ознак та частоти трансгресій в наступному поколінні. Так, наприклад, сумарна частота хіазм у гібридів F_1 мала тісний або середній зв'язок із проявом таких кількісних

ознак в F_2 , як «кількість китиць на головному стеблі» ($r = +0,79 \pm 0,10$) та «загальна кількість плодів на рослині» ($r = +0,57 \pm 0,18$), частота інтерстиціальних хіазм від'ємно корелювала з висотою головного стебла ($r = -0,69 \pm 0,15$).

Істотні кореляції виявлено також між сумарною частотою хіазм в F_1 і частотою трансгресій в F_2 за ознаками «маса плодів на рослині» ($r = +0,70 \pm 0,15$) та «висота головного стебла» ($r = -0,61 \pm 0,17$).

ОБГОВОРЕННЯ

Результати наших досліджень свідчать про зв'язок між частотою цитологічних параметрів мейозу та мінливістю в наступному поколінні й узгоджуються з даними ряду авторів, одержаних на інших, у тому числі рослинних об'єктах [10, 11, 16]. Це пояснюється, очевидно, рекомбіногенною дією γ -опромінення насіння F_1 [4], особливо в дозі 15 кР. Така дія підтверджується результатами аналізу динаміки змін частоти хіазм і нетипових бівалентів у гібридних рослин. Тобто, можна зробити висновок про зростання частоти кросоверних подій в цілому на материнську клітину пилку [4], а також збільшення частоти нетрадиційних рекомбінантів, на що вказує істотне підвищення частоти нетипових бівалентів [4].

Відомо, що завдяки процесу кросинговеру можуть відбуватися нові рекомбінації, які призводять до зростання генотипної мінливості завдяки утворенню нових генних варіантів, у тому числі трансгресивних генотипів [4], що, в цілому, підтверджують також результати наших досліджень. Окремі випадки збільшення частоти трансгресій в контрольному варіанті (без опромінення) пояснюються, можливо, високою частотою інтерстиціальних хіазм. Утворення цих структур може призводити до формування нетрадиційних рекомбінантних генотипів, насамперед, завдяки їх прицентромірній локалізації (центромера, як правило, є «забороненою зоною» для кросинговеру [4]). Інше пояснення – дія природного гаметофітного добору, яка призводить до елімінації таких рекомбінантних генотипів завдяки їх зниженій життєздатності, особливо на стадіях гаметогенезу, проростання пилку, запліднення [7]. Від'ємний зв'язок між частотою хіазм і параметрами мінливості ознаки «висота головного стебла» пояснюється, можливо, локалізацією генів, які відповідають за формування архітектури репродуктивної системи, в «заборонених» зонах хромосом [6]. Як наслідок, не виключено, що генетично зумовлене зниження висоти рослини

є наслідком дії еволюційно відпрацьованого механізму генетичної адаптації, що може призводити до скорочення терміну досягання плодів та насіння й сприяти підвищенню конкурентоздатності щодо рослин інших видів [7].

Таким чином, на початкових етапах селекційного процесу (створення різноманітності в наступних поколіннях) поряд з індукуванням розширення генотипної мінливості шляхом використання екстремальних (мутагенних або рекомбіногенних) чинників доцільним є застосування цитологічних досліджень мейозу у гібридів F₁ з метою її прогнозу в наступному поколінні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Боос Г.В., Бадина Г.В., Буренин В.М. Гетерозис овощных культур. – М.: Агропромиздат, 1990. – 223 с.
2. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. – Кишинев: Штиинца, 1980. – 587 с.
3. Жученко А.А., Грати В.Г., Андрущенко В.К., Грати М.И. Индуцирование хромосомных перестроек и локализация генов контролирующих некоторые хозяйственно ценные признаки в геноме томатов // Изв. АН Молд. ССР. Сер. биол. и хим. наук. – 1980. - № 4. – С. 24 – 30.
4. Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции.- М.: Наука, 1985. - 400 с.
5. Жученко А.А., Нестеров В.С., Андрущенко В.К. и др. Вопросы использования генетических параметров в селекционном процессе для культуры томата // Тез. науч.-техн. конф. «Пути повышения качества овощной продукции». – Кишинёв, 1973. – С. 176 – 178.
6. Жученко А.А. мл. Архитектура репродуктивной системы томата. – Кишинев: Штиинца. – 1990. – 200 с.
7. Лях В.А. Микрогаметофитный отбор и его роль в эволюции покрытосеменных растений // Цитология и генетика. – 1995. – Т. 29, №6. – С. 76 – 82.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
9. Монтовид П.Ю. Компенсацийний розподіл хіазм в межах репродуктивної системи гібридів F₁ *Solanum melongena* L. // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. 2006. – Вип. 2 (9). – С. 61 – 65.
10. Монтовид П.Ю., Самовол О.П. Розподіл частоти хіазм за ярусами вертикальної закладки генеративних органів у гібридів F₁ баклажана з різною онтогенетичною пристосованістю // Біологія і валеологія. – 2002. – Вип. 5. – С. 88 – 94.
11. Самовол А.П., Юрченко А.П., Монтовид П.Ю. Эффект вертикальной зависимости в проявлении характера высвобождения спектра генотипической изменчивости // Тез. докл. Междунар. конф. «Селекция и семеноводство в XXI веке». – М., 2000. - С. 175 -176.
12. Самовол А.П. Генетический потенциал видов родов *Lycopersicon* T. и *Capsicum* L. и пути расширения спектра доступной для селекции генотипической изменчивости: Дис. д-ра с.-х. наук. – Харьков, 2004. – 388 с.
13. Смирнов В.Г. Цитогенетика. – М.: Наука, 1991. – 247 с.
14. Jones G.H. The analysis of exchanges in tritium-labelled meiotic chromosomes. 2. *Stethophyma grossum* // Chromosoma. – 1971. – V. 34. – P. 367-382.
15. Samovol A.P. Effect of mutagenic factors on recombination in distribution parameters of quantitative traits // *Capsicum* Newsletter (Turin, Italy). – 1987. – V. 6. – P. 28-29.
16. Srivastava H.K. Heterosis for chiasma frequency and quantitative traits in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) // Theor. Appl. Genetics. – 1980. – V. 56. – P. 25 – 29.

Надійшла до редакції
03.05.2007 р.

ЗВ'ЯЗОК ЦИТОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ МЕЙОЗУ

DEPENDENCE QUANTITATIVE VARIABILITY IN F₂ FROM CYTOLOGICAL PARAMETERS OF MEIOSIS IN F₁ TOMATO HYBRIDS

P. Yu. Montvid^{1,2}, O. M. Cherkasskyi¹, O. P. Samovol¹

¹*Institute of Vegetables and Melon Ukrainian Academy of Agrarian Sciences
(Seleksijne, Kharkiv rg., Ukraine)*

²*V.V. Dokuchaev National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)*

Investigation has been conducted on the relationship of chiasmata frequency in F₁ and manifestation of quantitative variability in F₂ of tomato. There is revealed the trustworthy positive relationship between summary chiasmata frequency and variability parameters of productivity signs and the negative one – between this index and the sign “height of the main stem”. The conclusion is drawn about possible existence of the evolutionally worked out mechanism of genetic adaptation which can favour the competitiveness raising with respect to other kinds of plants under natural conditions.

Key words: *Lycopersicon esculentum* Mill., γ -irradiation, hybrid F₁, chiasma, bivalent, quantitative signs

СВЯЗЬ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МЕЙОЗА У ГИБРИДОВ F₁ ТОМАТА С КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТЬЮ В F₂

П. Ю. Монтвид^{1,2}, А. М. Черкасский¹, А. П. Самовол¹

¹*Институт овощеводства и бахчеводства Украинской академии аграрных наук
(п/в Селекционное, Харьковская обл., Украина)*

²*Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)*

Проведено исследование связи частоты хиазм в F₁ и проявления количественной изменчивости в F₂ у томата. Выявлена достоверная положительная связь между суммарной частотой хиазм и параметрами изменчивости признаков продуктивности и отрицательная – между данным показателем и признаком «высота главного стебля». Сделан вывод о возможном существовании эволюционно выработанного механизма генетической адаптации, который может способствовать повышению конкурентоспособности по отношению к другим видам растений в естественных условиях.

Ключевые слова: *Lycopersicon esculentum* Mill., γ -облучение, гибрид F₁, хиазма, бивалент, количественные признаки