

УСПАДКУВАННЯ СТІЙКОСТІ ДО БОРОШНИСТОЇ РОСИ У ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЙ АВРОТІКИ

Результати вивчення частоти передання чужинної ознаки, стійкість до борошнистої роси, у гібридах від схрещування стійких до неї інтрогресивних ліній пшениці м'якої зі сприйнятливим рекуррентним генотипом показали значне відхилення емпіричного співвідношення обсягів фенотипних класів від очікуваного для домінантно-рецесивної моногенної ознаки. Встановлену при вивченні хромосомних конфігурацій у М1 мейозу МПК відсутність бівалентної кон'югації хромосом розглянуто як один із чинників спотворення емпіричного співвідношення проти очікуваного через формування анеуплоїдних гамет та зигот із різною життєздатністю. Запропоновано показник d , який кількісно характеризує ексцес гамет без чужинного хроматину. Оптимальною щодо її відповідності до емпіричних даних розщеплення визнано модель: функціонують усі жіночі та лише еуплоїдні чоловічі гамети, нулісомні зиготи нежиттєздатні, під час мейозу відбувається усунення його продуктів, що містять чужинний хроматин, з величиною $d = 0,11-0,12$.

Ключові слова: інтрогресивні лінії, трансмісія чужинного хроматину, спотворення розщеплення, анеуплоїдні гамети, життєздатність зигот, мейотичний драйв, борошниста роса.

Частоту трансмісії чужинного гена до геному пшениці при схрещуванні пшениці з носіями такого гена у складі доданої, заміщеної хромосоми або транслокації вивчають постійно зокрема через те, що від ефективності трансмісії чужинного гена залежить перспектива успішності залучення чужинної ознаки у пшеницю [1–4]. Є два напрями розгляду питання передання хромосом нащадкам гібридами, які об'єднують негомологічні геноми: втрата хромосом одного з геномів, поступова чи одночасна [5–7], та переважне передання хромосоми порівняно з хромосомним аналогом партнера по схрещуванню [8–10], що можна розглядати як наслідок мейотичного драйву. Питання трансмісії чужинної хромосоми, коли вона входить як додана до консолідованого геному, зокрема, пшениці м'якої чи заміщує пшеничну хромосому, суворо кажучи, не можна віднести до жодного з цих напрямів повністю. На відміну від двох окреслених напрямів досліджень, досі не висунуто жодного механізму втрати чужинної або транслокованої хромосоми, крім елімінації унівалента в мейозі та зниження життєздатності гамет (зигот), які включають до свого складу чужинний хроматин. Цю останню причину взагалі не вдається оцінити об'єктивно, можна лише реєструвати зниження фертильності рослин із чужинним хроматином і робити припущення, що саме є причиною – зниження життєздатності гамет чи зигот,

чи обидва чинники роблять свій внесок у зниження озерненості колоса [1,4].

Авротіка – геномно-заміщений амфідиплоїд з геномом ААВВТТ, де ААВВ є тетраплоїдним компонентом ААВВ геному пшениці м'якої сорту Аврора, який сприйнятливий до кількох листових захворювань пшениці, в тому числі до борошнистої роси. Авротіка борошнистою росю не вражається і була використана для створення інтрогресивних ліній пшениці м'якої, поміж яких було чимало стійких до борошнистої роси [11]. Лінії можна розглядати як генетичне джерело стійкості до борошнистої роси і необхідно дослідити на успішність трансмісії цієї чужинної ознаки у пшеницю м'яку. У статті наведено результати оцінки різних стійких ліній за ступенем передання нащадкам чужинної ознаки при їхньому схрещуванні з рекуррентним генотипом, Авророю, яка була сортом-реципієнтом при створенні інтрогресивних ліній.

Матеріал та методи. Як рослинний матеріал було використано лінії (Авротіка × Аврора) F_3 , стійкі до польової популяції збудників борошнистої роси, їхні гібриди F_1 з сортом Аврора, де лінії використовували як материнські рослини, та гібриди F_2 . Оцінку рослин на стійкість до борошнистої роси проводили у польових умовах перед виходом рослин у трубку та після цвітіння за дев'ятибальною шкалою: 9–7 – стійкі, 6–1 – сприйнятливі. Гібриди F_1 від схрещування

стійких ліній з Авророю оцінювали за стійкістю індивідуально за рослиною. Насіння F_2 збирали також виключно з індивідуальних рослин F_1 , стійких до борошністої роси. Для порівняння розподілів рослин за фенотипними класами використовували метод χ^2 Пірсона.

Результати та обговорення. Гени, що забезпечують стійкість до борошністої роси геном-но-заміщеного амфідиплоїда Авротіка, є домінантними, оскільки гібриди F_1 від схрещування Авротіки з сортом Аврора стійкі. Стійкими є також гібриди F_1 від схрещування з Авророю інтрогресивних ліній пшениці (Авротіка – Аврора) F_5 , стійких до борошністої роси завдяки генам чужинного походження, оскільки сорт Аврора сильно вражається борошністою росю (бал 3).

Інформацію про кількість сприйнятливих і стійких рослин F_2 , отриманих від окремих стійких рослин F_1 , наведено у табл. 1. Не залишається сумніву в тому, що моногенну картину успадкування тестувати немає сенсу, адже розщеплення навіть не нагадує співвідношення 3 стійких : 1 сприйнятлива. У всіх випадках без винятку маємо суттєвий надлишок чутливих рослин. Звичайно, можна збільшувати кількість генів, які беруть участь у забезпеченні стійкості, і припускати, що стійкість забезпечується комплементарною взаємодією кількох домінантних генів. Проте цей шлях, на нашу думку, неправильний. По-перше, з генетики рослин відомо, що вертикальна стійкість контролюється зазвичай поодинокими домінантними R -генами [12]. По-друге, якщо у схрещуванні бере участь лінія інтрогресивного походження і у мейозі не всі хромосоми формують біваленти, це створює умови для нерегулярного розходження хромосом

Таблиця 1. Результат оцінки рослин F_2 від індивідуальних рослин F_1 за стійкістю до борошністої роси

Номер лінії	Номер рослини F_1	Кількість рослин у F_2	
		стійких	сприйнятливих
24.3/6	1	3	10
	2	0	11
24.5/5	1	0	13
	2	1	11
21.4/8	1	1	8
	2	7	1
24.1/7	1	3	11
	2	0	13
24.4/2	1	9	5
29.5/4	1	0	14
40.5/3	1	4	1

Таблиця 2. Найвища асоціація хромосом у метафазі I мейозу МКП гібридів (стійка лінія \times Аврора) F_1

Лінія	Кількість досліджених клітин	Конфігурації хромосом за найвищою їхньою асоціацією*
24.3/6	26	$16^{P3} + 2^{Pb} + 3^I + 1^{III}$
24.5/5	58	$18^{P3} + 2^{Pb} + 2^I$
21.4/8	19	$19^{P3} + 1^{Pb} + 2^I$
24.1/7	32	$19^{P3} + 4^I$
24.4/2	71	$17^{P3} + 3^{Pb} + 2^I$
29.5/4	23	$17^{P3} + 1^{Pb} + 3^I + 1^{III}$
40.5/3	44	$19^{P3} + 1^{Pb} + 2^I$

* P_3 – закритий бівалент, P_b – відкритий бівалент, I – унівалент, III – тривалент.

у анафазі та формування анеуплоїдних гамет [1,2,4]. Жодна зі стійких ліній не утворювала з сортом Аврора гібридів F_1 з бівалентною кон'югацією хромосом (табл. 2). Тому чинник спотворення співвідношення фенотипних класів проти очікуваного за найпростішою та очевидною моделлю $3R- : 1rr$ потрібно шукати на рівні формування функціональних гамет та утворення життєздатних зигот.

Відомо [13], що для пшеничного унівалента імовірність відійти до одного, будь-якого, з полюсів становить 0,25, а бути втраченим у цитоплазмі – 0,75. За таких умов має утворитися чотири типи гамет щодо структури за хромосомами, які не кон'югують: обидва уніваленти відійшли до полюса (DT, 22-хромосомна гамета), до полюса відійшов один з унівалентів (D, пшенична хромосома, або T, хромосома з чужинним хроматином, яка не кон'югує з пшеничним гомеологом, 21-хромосомні гамети), жоден з унівалентів не відійшов до полюса (0, 20-хромосомні гамети). Частоти таких гамет отримуються при розкритті бінома (0,25 унівалент зберігся : 0,75 унівалент втрачений), оскільки унівалентів два [13]. Частоти різних гамет будуть 0,0625 DT, 0,1875 D, 0,1875 T, 0,5625 0. Тому першим етапом у моделюванні картини успадкування було отримати співвідношення між чутливими та резистентними рослинами у F_2 , якщо ген стійкості інтрогресивної лінії локалізований у хромосомі, яка не утворює бівалент із хромосомою пшениці, з урахуванням двох умов: 1) участі у заплідненні гамет, різних за складом та за кількістю хромосом; 2) формування життєздатних насінин зиготами різного складу (табл. 3) [14]. Частки стійких та сприйнятливих рослин для кожної умови отримуються зі звичайної решітки Пеннета, у який вихідні частки жіночих та чоловічих гамет 0,0625 DT, 0,1875 D, 0,1875 T, 0,5625 0

Таблиця 3. Відношення фенотипних класів сприйнятливих та стійких рослин у F_2 за умов наявності у $M1$ мейозу гібридів F_1 двох унівалентів

Шифр умови	Гамети, які функціонують	Частка рослин		Відношення сприйнятливих : стійкі
		стійких	сприйнятливих	
1. Функціонують всі зиготи				
1.1	1. Всі	0,4375	0,5625	1,29
1.2	2. Лише 21-хромосомні	0,75	0,25	0,33
1.3	3. Жіночі всі, чоловічі 21-хромосомні	0,625	0,375	0,6
1.4	4. Жіночі 21–22-хромосомні, чоловічі 21-хромосомні	0,7857	0,2143	0,27
2. Не функціонують зиготи, нулісомні за пшеничною хромосомою				
2.1	1. Всі	0,4375	0,5625	1,29
2.2	2. Лише 21-хромосомні	0,6667	0,3334	0,5
2.3	3. Жіночі всі, чоловічі 21-хромосомні	0,4	0,6	1,5
2.4	4. Жіночі 21–22-хромосомні, чоловічі 21-хромосомні	0,7273	0,2727	0,375
3. Не функціонують зиготи, нулісомні за парою гомеологів				
3.1	1. Всі	0,64	0,36	0,5625
3.2	2. Лише 21-хромосомні	0,75	0,25	0,33
3.3	3. Жіночі всі, чоловічі 21-хромосомні	0,625	0,375	0,6
3.4	4. Жіночі 21-22-хромосомні, чоловічі 21-хромосомні	0,7857	0,2143	0,2727

змінюються відповідно до вказаних у табл. 2 умов функціонування гамет 1.1 – 1.4 та нормалізуються так, щоб довести до одиниці суму часток як жіночих, так і чоловічих гамет окремо. Якщо тестується гіпотеза про функціонування всіх зигот, цим все і обмежується. Якщо до умов додається склад зигот, які функціонують, з решітки видаляються частки зигот, що не функціонують, і сума часток зигот нормалізується, щоб стати одиницею.

З табл. 3 видно, що результат, найбільш наближений до співвідношення сприйнятливих : стійкі, який спостерігаємо, дає модель 2.3: функціональними є всі жіночі гамети та лише 21-хромосомні чоловічі, насіння не формують зиготи, які не мають пари пшеничних гомологів (нулісомики). Проте добре видно, що ця модель не повністю покриває нестачу стійких рослин і надлишок сприйнятливих. Переважають розщеплення, де сприйнятливих у рази більше, ніж стійких (див. табл. 1). Для того, щоб наблизити модель до емпіричних результатів, введено ще один параметр, d , умовний показник мейотичного драйву. Мейотичний драйв, за визначенням Sandler & Novitsky (цит. за [15]), це будь-яка зміна нормального процесу мейозу, в результаті чого гетерозиготний за двома альтернативними генетичними станами організм продукує ефективний гаметичний пул з ексцесом одного з двох таких станів. Механізми та наслідки драйву обговорюються активно [16], але ми їх не торкаємось,

оскільки не маємо експериментальних даних для участі в такому обговоренні. В нашому випадку важливим є те, що цим альтернативним генетичним станом є чужинний генетичний матеріал: у гаметичному пулі у наявності ексцес гамет, які не містять чужинного хроматину, що забезпечує стійкість.

Якщо, за Кіхарою, імовірність унівалента взагалі відійти до полюса становить 0,25, то d – це величина, на яку цей показник відрізняється від 0,25. В наших розрахунках ми перевіряли d від 0,01 до 0,24 і з'ясували, що застосування цього показника забезпечує такий розмах у співвідношенні сприйнятливих : чутливі (від 1,37 до 49,25), що можна виправдати будь-яку кількість сприйнятливих рослин, не беручи до уваги інших умов (склад гамет, що функціонують, життєздатність зигот), які ми обговорювали до цього. Проте досвід роботи з анеуплоїдними рослинами пшениці багатьох дослідницьких груп показав, що кількість хромосом у жіночих та чоловічих гаметах, які формуються, наприклад, моносомною рослиною, є різними [1,2,4,17]. Отже, нехтувати фактором функціональності гамет із різною кількістю хромосом не можна. За нашими даними, озерненість рослин як самих інтрогресивних ліній, так і F_2 від схрещування цих ліній однієї з одною чи з сортом м'якої пшениці ніколи не буває 100-відсотковою і може знижуватися до 10–15 % у деяких комбінаціях. Це показує, що не кожна квітка утворює зиготу, яка

буде розвиватися у насінину. Тому цю умову формування моделі успадкування також є сенс враховувати. Отже, маємо три параметри: частоти гамет, що функціонують, частоти зигот, які життєздатні, та величина мейотичного драйву, і потрібно знайти таке сполучення трьох показників, яке оптимально виправдовує отримання тих результатів розщеплення у F_2 від окремих рослин F_1 , які було констатовано при оцінці (див. табл. 1).

З табл. 1 видно, що є певне розмаїття рослин F_2 , які походять від схрещування з сортом Аврора різних інтрогресивних ліній. Для перших чотирьох ліній було взято по дві рослини F_1 , для трьох останніх – по одній рослині. Оскільки лінії різні, дані за окремими рослинами об'єднувати не варто, а тестувати окремі рослини на статистичну вірогідність певної моделі не ефективно через замалу кількість нащадків від кожної рослини. Натомість можна використати дані фенотипного розщеплення по кожній рослині як джерело різноманітності для застосування методу максимальної правдоподібності з метою пошуку оптимального сполучення трьох вказаних параметрів, які впливають на частоту появи стійких і сприйнятливих рослин. Ми скористались ідеєю Мортонна, автора широко відомого методу LOD scores, про можливість застосування у генетичному аналізові великої кількості маленьких за обсягом груп нащадків, пов'язаних родинними зв'язками [18]. За алгоритмом Мортонна, для кожної окремої групи особин (у нас – рослини F_2 від одної рослини F_1) розраховують величину Z за формулою

$$Z = \log_{10} \frac{L_{test}}{L_{init}}$$

Сенс ідеї Мортонна полягає в тому, що якщо є певна тенденція у варіюванні показника Z , сума показника по групах накопичуватиметься. Якщо тенденції немає, результати оцінки окремих родин будуть різними і при додаванні позитивні та негативні значення величини Z нівелюватимуть одні одних, як це буває з відхиленнями від середнього значення. Z є десятковим логарифмом відношення шансів отримати певну кількість сприйнятливих і стійких рослин за умов певних імовірностей утворення тих та інших. Для розрахунку відношення у знаменнику – максимальна правдоподібність отримати ті кількості сприятливих та стійких рослин, що спостерігається, за ініціальними умовами (L_{init}). У чисельнику – максимальна правдоподібність отримати ті кількості сприятливих та стійких

рослин, що спостерігається, за умовами моделі, що тестується (L_{test}).

$$L = \frac{N!}{a!b!} \times p^{a!} \times q^{b!},$$

де N – кількість рослин F_2 ; a – кількість стійких рослин; b – кількість сприйнятливих рослин; p – імовірність утворення стійкої рослини; q – імовірність утворення сприйнятливої рослини.

Порядок тестування, який зберігається при перевірці всіх моделей, полягає у такому. Спочатку в межах кожної моделі, яку тестують, для кожного індивідуального F_2 визначають величину d , за якою індивідуальне розщеплення формує максимальну величину Z . Потім кожне індивідуальне розщеплення F_2 перевіряють за всіма величинами d , які було встановлено на попередньому етапі, і отримують суми Z за всіма розщепленнями. Саме ці дані за всіма моделями, що перевіряли, наведено у табл. 4.

Першою тестували модель 1.1, коли умови функціонування гамет і життєздатності зигот не розглядають, а змінюється лише величина d від 0,01 до 0,24 (див. табл. 4). Для моделі 1.1 максимальною є величина $Z = 5,55$, коли накопичується за окремими групами рослин F_2 за $d = 0,13$.

Далі тестували лише моделі, створені з умов, виявлених суттєвими для формування найвищого співвідношення між кількістю сприйнятливих та стійких рослин (див. табл. 3): 1.3 – у заплідненні беруть участь усі жіночі та лише еуплоїдні чоловічі гамети, всі зиготи формують життєздатне насіння, 2.3 – у заплідненні беруть участь усі жіночі та лише еуплоїдні чоловічі гамети, насіння не формують зиготи, нулісомні за пшеничною хромосоמוю. В кожному з цих моделей успадкування включали варіювання величини d . Таким чином, варіювання за d від 0,01 до 0,24 тестували щодо трьох ініціальних умов (L_{init}): 1.1, 1.3 та 2.3. При цьому вирішували таке питання: сукупність яких умов, що стосуються генетичного драйву (d), функціонуючих гамет і життєздатних зигот, є оптимальною для наближення теоретично очікуваних кількостей стійких та сприйнятливих рослин до співвідношень, які спостерігаються серед нащадків F_2 від різних рослин F_1 . Результати, наведені у табл. 4, свідчать, що найвищі суми Z виходять при тестуванні моделі 2.3 щодо ініціальних умов 1.3 за $d = 0,11$ ($\sum Z = 18,9$) та $d = 0,12$ ($\sum Z = 19,0$), і від них майже не відрізняються суми Z при тестуванні моделі 1.3 стосовно ініціальної моделі 1.3. Проте в останньому випадку

Таблиця 4. Значення Z для окремих рослин F₁ при тестуванні моделей із тими величинами d, за яких співвідношення стійких і сприйнятливих рослин у F₂ дали найвище значення Z для кожної індивідуальної рослини

		Тестують модель за умовами 1.1 із вказаними величинами d					Тестують модель за умовами 1.3 із вказаними величинами d					Тестують модель за умовами 2.3 із вказаними величинами d							
1)	2)	0,01	0,13	0,14	0,19	0,24	0,01	0,18	0,19	0,22	0,23	0,24	0,01	0,11	0,12	0,18	0,23	0,24	
24.3/6	3/10	0,07	0,53	0,52	0,24	-1,62	-1,16	0,52	0,21	-0,12	-0,82	-0,22	0,53	0,52	0,26	-0,01	-1,78		
	0/11	0,13	1,53	1,64	2,16	-1,75	1,43	1,62	2,18	2,37	2,56	0,42	1,48	1,58	2,14	2,32	2,66		
24.5/5	0/13	0,15	1,8	1,93	2,55	3,13	-2,06	1,69	2,58	2,80	3,02	0,5	1,75	1,86	2,53	2,74	3,15		
	1/11	0,11	1,24	1,31	1,58	1,31	-1,6	1,17	1,3	1,59	1,61	0,37	1,21	1,27	1,58	1,61	1,27		
21.4/8	1/8	0,08	0,82	0,87	0,99	0,59	-1,13	0,78	0,86	0,99	0,97	0,81	0,25	0,84	0,99	0,98	0,54		
	7/1	-0,1	-1,87	-2,11	-3,83	-9,15	0,85	-1,68	-2,07	-3,93	-5,08	-7,11	-0,35	-1,77	-1,98	-3,75	-4,73		
24.1/7	3/11	0,08	0,66	0,67	0,43	0,43	-1,37	0,65	0,67	0,41	0,10	-0,59	0,26	0,66	0,67	0,45	0,2		
	0/13	0,15	1,8	1,93	2,55	3,13	-2,06	1,69	2,58	2,80	3,02	0,5	1,75	1,86	2,53	2,74	3,15		
24.4/2	9/5	-0,08	-1,89	-2,16	-4,19	-10,87	0,5	-1,68	-2,11	-4,32	-5,74	-8,28	-0,3	-1,78	-2,01	-4,09	-5,3		
29.5/4	0/14	0,16	1,94	2,08	2,75	3,38	-2,22	1,82	2,06	2,77	3,01	3,26	0,54	1,88	2,01	2,72	2,95		
40.5/3	4/1	-0,05	-1,01	-1,14	-2,1	-5,13	0,42	-0,9	-1,12	-2,16	-2,81	-3,96	-0,18	-0,96	-1,07	-2,06	-2,61		
	Сума Z	0,7	5,55	5,52	3,12	-13,95	-11,5	5,5	5,53	2,89	-0,1	-6,57	2,22	5,53	5,55	3,3	0,89		
	1)	2)	0,01	0,18	0,19	0,22	0,23	0,24	0,24	0,23	0,24	0,01	0,11	0,12	0,18	0,2	0,24		
	24.3/6	3/10	0,14	1,82	1,82	1,51	-0,12	0,48	1,52	1,82	1,82	0,48	1,52	1,82	1,55	1,29	-0,48		
	0/11	0,19	3,37	3,55	4,12	2,37	4,50	2,36	3,41	3,51	4,08	2,36	3,41	3,51	4,08	4,26	4,6		
	24.5/5	0/13	0,23	3,98	4,2	4,87	5,09	5,31	2,79	4,04	4,15	4,82	5,03	5,44	5,44	5,44	5,44		
	21.4/8	1/8	0,18	2,95	3,08	3,37	3,39	3,29	2,15	2,99	3,05	3,36	3,39	3,05	3,36	3,39	3,05		
	1/11	0,13	2,03	2,11	2,25	2,22	2,27	2,07	1,51	2,06	2,1	2,25	2,23	2,23	2,23	1,79	1,79		
	7/1	-0,06	-2,59	-2,98	-4,84	-5,99	-8,02	-1,25	-2,68	-2,89	-4,65	-5,64	-10,5	-10,5	-10,5	-10,5	-10,5		
	24.1/7	3/11	0,16	2,13	2,14	1,88	1,57	0,89	1,73	2,13	2,14	1,92	1,92	1,67	1,67	-0,06	-0,06		
	0/13	0,23	3,98	4,2	4,87	2,37	5,31	2,79	4,04	4,15	4,82	5,03	5,03	5,03	5,03	5,03	5,03		
	24.4/2	9/5	-0,01	-2,19	-2,63	-4,84	-6,25	-8,79	-0,82	-2,29	-2,01	-4,61	-5,81	-11,9	-11,9	-11,9	-11,9		
	29.5/4	0/14	0,24	4,28	4,52	5,24	5,48	5,72	3	4,35	4,47	5,19	5,42	5,86	5,86	5,86	5,86		
	40.5/3	4/1	-0,03	-1,35	-1,56	-2,61	-3,26	-4,41	-0,62	-0,96	-1,51	-2,5	-3,06	-5,8	-5,8	-5,8	-5,8		
	Сума Z	1,4	18,4	18,5	15,8	6,87	6,35	15,1	18,9	16,2	13,8	13,8	13,8	13,8	13,8	13,8	13,8		
Ініціальна модель 1.3, d = 0		Ініціальна модель 2.3, d = 0		Ініціальна модель 2.3, d = 0		Ініціальна модель 2.3, d = 0		Ініціальна модель 2.3, d = 0		Ініціальна модель 2.3, d = 0		Ініціальна модель 2.3, d = 0		Ініціальна модель 2.3, d = 0		Ініціальна модель 2.3, d = 0			
1)		2)		1)		2)		1)		2)		1)		2)		1)		2)	
24.3/6		3/10		24.3/6		3/10		24.3/6		3/10		24.3/6		3/10		24.3/6		3/10	
0/11		0/11		0/11		0/11		0/11		0/11		0/11		0/11		0/11		0/11	
24.5/5		0/13		24.5/5		0/13		24.5/5		0/13		24.5/5		0/13		24.5/5		0/13	
21.4/8		1/8		21.4/8		1/8		21.4/8		1/8		21.4/8		1/8		21.4/8		1/8	
24.1/7		3/11		24.1/7		3/11		24.1/7		3/11		24.1/7		3/11		24.1/7		3/11	
24.4/2		9/5		24.4/2		9/5		24.4/2		9/5		24.4/2		9/5		24.4/2		9/5	
29.5/4		0/14		29.5/4		0/14		29.5/4		0/14		29.5/4		0/14		29.5/4		0/14	
40.5/3		4/1		40.5/3		4/1		40.5/3		4/1		40.5/3		4/1		40.5/3		4/1	
Сума Z		2,41		Сума Z		2,41		Сума Z		2,41		Сума Z		2,41		Сума Z		2,41	
Сума Z		3,877		Сума Z		3,877		Сума Z		3,894		Сума Z		1,644		Сума Z		-22,2	

Примітки: 1) номер інтрогресивної лінії, з якої отримано F₁; 2) кількість стійких рослин / кількість сприйнятливих рослин серед F₂.

значення d збільшується: $d = 0,18$ ($\sum Z = 18,4$) та $d = 0,19$ ($\sum Z = 18,5$). Всі значення сум Z статистично значущі, оскільки перевищують 3 [18].

Отже, моделлю успадкування, яка найкращим чином відповідає експериментальним даним розщеплення рослин F_2 на стійкі та сприйнятливі за умов контролю ознаки одним доміантним геном, є модель, яка враховує такі умови для розрахунку імовірностей формування стійкої чи сприйнятливої рослини: функціонують усі жіночі та лише еуплоїдні чоловічі гамети, нулісомні зиготи нежиттєздатні, під час мейозу відбувається усунення його продуктів, що містять чужинний хроматин із величиною $d = 0,11-0,12$.

Вивчення метафази 1 мейозу МКП гібридів F_1 із табл. 1 показало, що всі вони 42-хромосомні, а в метафазній пластинці завжди у наявності від двох до чотирьох унівалентів. Крім того, у тетрадах мікроспор зареєстровано велику кількість мікроядер із розкидом розподілу від 1 до 6 і модальним класом 2 або 4 уніваленти залежно від рослини. Хоча наявність унівалентів зафіксовано у цитологічних дослідженнях, немає доказів того, що чужинний ген, який забезпечує стійкість інтрогресивних ліній і гібридів F_1 від їхнього схрещування з пшеницею з м'якою, розташований саме в такій хромосомі, яка не формує бівалент із гомеологом партнера по схрещуванню. Якщо бівалент формується, то з усіх умов, що були обговорені вище, залишається лише одна, що може пояснити нестачу стійких рослин серед рослин F_1 , – це мейотичний драйв, який виявляється у ексцесі гамет, позбавлених гена чужинного походження. Перевірка такої моделі показала, що величина d , яка у випадку бівалентної кон'югації хромосом може варіювати в межах від 0 до 0,5, для більшості рослин коливається від 0,42 до 0,49, а максимального значення сума $Z = 34,84$ сягає при $d = 0,44$. Таке високе значення показує, що у жіночій статевій сфері, де з чотирьох макроспор гаметофіт утворює лише одна, гамети формуються практично лише з такого продукту мейозу (макроспора), який не має чужинного хроматину. З іншого боку, гаметофіт утворюється з макроспори, яка займає найбільш централізовану позицію [19]. Чи існує якась відповідність між наявністю чи відсутністю у макроспорі чужинного хроматину та її орієнтацією щодо централізованості, зрозуміти поки не можна. Для з'ясування такого питання потрібно було б гістологічно вивчати продукти мейозу у макроспорогенезі з застосуванням

гібридизації *in situ* з зондом на чужинний хроматин. Таких робіт ми не знайшли.

Єдиний показник, яким можна скористатися для оцінки участі яйцеклітин у формуванні життєздатних насінин, це озерненість колосів на рослинах F_1 . Якщо квітка не дала насінину, можна думати, що це є наслідком формування нулісомної зиготи, при цьому ендосперм формується за участю анеуплоїдних жіночих гамет, не розвивається нормально і насінина абортуює. Проте було б неправильним проведення прямої залежності між кількістю порожніх квіток і кількістю нулісоміків. Можливо, частина квіток не формує насінину через те, що жіноча гамета з чужинним хроматином усувається від участі у заплідненні, і саме в цьому виражається мейотичний драйв. Дія мейотичного драйву у чоловічій статевій сфері, можливо, полягає в усуванні від запліднення чоловічих гамет із чужинним хроматином. Але можливо, що розвиток таких гамет переривається ще раніше.

Якщо припустити, що хромосома з чужинним геном стійкості формує бівалент із пшеничним гомологом, то для опису наявного у експерименті співвідношення стійких і сприйнятливих рослин, за нашими розрахунками, слід допустити величину мейотичного драйву $d = 0,44$. За приблизних розрахунків, а для більш точних ми не маємо даних, у рослинах із бівалентною кон'югацією хромосом та чужинним хроматином, який спричинює мейотичний драйв, половина квіток не дасть насінину. Це не відповідає результатам оцінки насінневої фертильності рослин, тому маємо припустити, що чужинний ген стійкості входить до складу хромосоми, яка не кон'югує зі пшеничною, і для формування моделі успадкування ознаки маємо враховувати умови 1 та 2, зазначені у табл. 3.

Не можна не згадати ще один аспект при вивченні трансмісії чужинного гена у гібридних популяціях – його експресію. На сьогодні відомо багато молекулярних механізмів, які призводять до зміни експресії генів без втручання до його нуклеотидної основи. Це метилювання промотора, гетерохроматизація чужинного хроматину внаслідок ремоделювання, РНК-опосередкована інтерференція експресії гена, активація транспозонів, що супроводжує відповідь рослин на різні стреси, в тому числі гібридизацію [20,21]. І всі ці зміни експресії спрямовані на замовчування гена. На фенотипному рівні замовчування гена стійкості призведе до зменшення частки стійких рослин проти очікуваної

та залишатиме враження про втрату інтрогресивного матеріалу у рослинах, які мають гібридне походження. Звичайно, всі ці механізми вивчатимемо і перевірятимемо щодо можливої їхньої участі у експресії генів стійкості. Але наразі хочемо згадати лише один із механізмів замовчування генів стійкості, який став очевидним і таким, який вивчають через актуалізацію технології пірамідінгу, тобто накопиченню в одному й тому самому геномі різних генів стійкості до одного і того самого збудника, в нашому випадку борошністої роси. І розгляд робіт про результат такого пірамідінгу показує, що одночасна наявність у складі геномів кількох одноптипних генів вертикальної стійкості *R* призводить до зникнення стійкості на рівні фенотипу рослини [22,23].

Крім того, для інших ознак інтрогресивних ліній, які, на перший погляд, контролюються генами чужинного походження, ми також спостерігаємо відхилення від канонічних менделівських розщеплень, які можна було б пояснити цитологічною нестабільністю гібридів від схрещування ліній, не всі хромосоми яких утворюють біваленти [4,24,25]. Тому ми думаємо, що все ж відбувається втрата чужинного генетичного матеріалу при формуванні гамет та утворенні життєздатних зигот. Це відбувається як через негативний добір елементів репродукції

із поганою пристосованістю, так і через втрату чужинного хроматину внаслідок молекулярних процесів, що відбуваються при стабілізації геномів гібридного походження [26]. Такі результати оцінки гібридних популяцій показують, що завдання перенесення чужинного гена стійкості на генетичне тло комерційного сорту м'якої пшениці, яке є результатом тривалої консолідації через добір найбільш оптимальних генотипів, без використання внутрішньогенних молекулярних маркерів є не дуже конструктивним. Підтвердження факту передання такого гена на молекулярному рівні має передувати спробам з'ясувати, чому рослина не демонструє стійкість – чи вона не має чужинного гена стійкості, чи ген у наявності у складі геному, проте не функціонує.

Висновки. Моделлю успадкування, яка найкращим чином відповідає експериментальним даним розщеплення рослин F_2 на стійкі та сприйнятливі за умов контролю ознаки одним доміантним геном, є модель, яка враховує такі умови для розрахунку імовірностей формування стійкої або сприйнятливої рослини: функціонують усі жіночі та лише еуплоїдні чоловічі гамети, нулісомні зиготи нежиттєздатні, під час мейозу відбувається усунення його продуктів, що містять чужинний хроматин із величиною $d = 0,11-0,12$.

Список літератури

1. Терновская ТК, Вдовиченко ЖВ. Зависимость результатов генетического анализа самоопыляющихся видов злаков от природы картирующей популяции. Цитология и генетика. 2003;37(3):67–9.
2. Motsnyu II, Omelchenko LI, Simonenko VK. Inheritance of qualitative traits in the hybridization of wheat with a *Triticum-Elymus* amphiploid. Cytology and Genetics. 1997;31(1):20–31.
3. Whelan EDP. Transmission of an alien telocentric addition chromosome in common wheat that confers blue seed color. *Genome*. 1989;32(1): 30–4.
4. Friebe B, Mukai Y, Dhaliwal HS, Martin TJ, Gill BS. Identification of alien chromatin specifying resistance to wheat streak mosaic and greenbug in wheat germplasm by C-banding and *in situ* hybridization *Theor. Appl. Genet.* 1991; 81(3):381–9.
5. Linde-Laursen I, von Bothmer R. Orderly arrangement of the chromosomes within barley genomes of chromosome-eliminating *Hordeum lechleri* × barley hybrids. *Genome*. 1999; 42:225–36.
6. Gernand D, Rutten T, Pickering R, Houben A. Elimination of chromosomes in *Hordeum vulgare* × *H. bulbosum* crosses at mitosis and interphase involves micronucleus formation and progressive heterochromatinization. *Cytogenet Genome Res.* 2006;114:169–74.
7. Maruthachalam R, Chan SWL. Haploid plants produced by centromere-mediated genome elimination. *Nature*. 2010;464:615–9.
8. Davies DR. Chromosome elimination in inter-specific hybrids. *Hered.* 1974;32:267–70.
9. Ishii T, Ueda T, Tanaka H, Tsujimoto H. Chromosome elimination by wide hybridization between triticeae or oat plant and pearl millet: pearl millet chromosome dynamics in hybrid embryo cells. *Chromosome Res.* 2010;18:821–31.
10. Komeda N, Chaudhary HK, Mukai Y. Cytological evidence for chromosome elimination in wheat × *Imperata cylindrica* hybrids. *Genes Genet Syst.* 2007;82:241–8.
11. Iefimenko TS, Antonyuk MZ, Martynenko VS, Navalihina AG, Ternovska TK. Introgression of *Aegilops mutica* genes into common wheat genome. *Cytol Genet.* 2018;52(1):21–30.
12. Zhang R, et al. Paleo-evolutionary plasticity of plant disease resistance genes. *BMC Genomics.* 2014;1:187.
13. Kihara H. Wheat studies. Retrospect and prospect. Tokyo: Kodansha LTD; 1982. 310 p.
14. Терновська ТК, Антонюк МЗ, Штефюк ТВ, Мартиненко ВС. Неканонічне успадкування стійкості до борошністої роси у інтрогресивних лініях м'якої пшениці. Фактори експериментальної еволюції організмів. Збірник наукових праць. Т. 21. Київ: Логос; 2017, с. 41–6.
15. Zimmering S, Sandler L, Nicoletti B. Mechanisms of meiotic drive. *Annu Rev Genet.* 1970;4:406–436.
16. Lindholm AK, Dyer KA, Firman RC, Fishman L, Forstmeier W, Holman L. The ecology and evolutionary dynamics of meiotic drive. *Trends Ecol Evol.* 2016;31(4):315–26.

17. Sears ER. The aneuploids of common wheat. Bull. Mo. Agric. Exp. Sta. 1954;572:3–58.
18. Dizier M, Babron M, Clerget-Darpoux F. Conclusions of LOD-score analysis for family data generated under two-locus models. Am J Hum Genet. 1996;58:1338–46.
19. Malik HS, Henikoff S. Major evolutionary transitions in centromere complexity. Cell. 2009;138:1067–82.
20. Mutti JS, Bhullar RK, Gill KS. Evolution of gene expression balance among homeologs of natural polyploids. G3: Genes, Genomes, Genetics. 2017;7:1225–37.
21. Adams KL. Evolution of duplicate gene expression in polyploid and hybrid plants. J Hered. 2007;98:136–41.
22. McIntosh RA, Zhang P, Cowger C, Parks R, Lagudah ES, Hoxha S. Rye-derived powdery mildew resistance gene Pm8 in wheat is suppressed by the Pm3 locus. Theor Appl Genet. 2011;1123(3):359–67.
23. Ma H, Singh RP, Mujeeb-Kazi A. Suppression/expression of resistance to stripe rust in synthetic hexaploid wheat (*Triticum turgidum* × *T. tauschii*). Euphytica. 1995;83(2):87–93.
24. Вдовиченко ЖВ, Антонюк МЗ, Терновская ТК. Воздействие гаметоцидной хромосомы 4Sl на соотношение фенотипического расщепления при генетическом анализе мягкой пшеницы. Цитология и генетика. 2003;37(5):49–56.
25. Терновська ТК, Єфіменко ТС, Антонюк МЗ, Мартиненко ВС. Генетичний контроль морфологічних ознак колосу в інтрогресивних лініях м'якої пшениці. Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. Зб. наукових праць ІХ з'їзду УТГіС. Т. 3. Київ: Логос; 2012, с. 175–80.
26. Chen ZJ, Yu HH. Genetic and epigenetic mechanisms for polyploidy and hybridity. In: Chen ZJ, Birchler JA, editors. Polyploid and hybrid genomics. New York: Wiley-Blackwell; 2013, p. 335–54.

*T. Ternovska, T. Iefimenko,
A. Navalikhina, M. Antonyuk*

INHERITANCE OF POWDERY MILDEW RESISTANCE IN AUROTICA'S INTROGRESSIVE LINES

Aim. *Frequency of alien chromatin inheritance in hybrids from crosses of common wheat and introgressive lines determines whether transfer of alien chromatin controlling desirable trait into common wheat genome would be successful. The paper presents results of introgressive lines assessment for frequency of transfer of alien dominant trait of powdery mildew resistance to their progeny in the crossing with recurrent genotype Aurora, which was a recipient cultivar in the development of these lines.*

Methods. *Artificial hybridization of introgressive lines with common wheat, visual assessment of cross components and hybrids F_1 and F_2 for powdery mildew resistance. Determination of chromosome numbers and chromosome configurations in meiosis M_1 of F_1 plants. Results.* *Among F_2 plants, from the crossing of resistant to powdery mildew introgressive lines of Aurotica and susceptible cultivar Aurora excess of susceptible plants was observed. In order to explain distortion of ratio susceptible : resistant plants in comparison with expected for monogenic segregation, we propose the determined fact of absence in meiosis M_1 of MPC of bivalent chromosome conjugation, which results in formation of aneuploid gametes and zygotes with reduced viability. As the third parameter, the one that can influence the mentioned ratio, we propose d parameter, which quantitatively expresses excess of gametes without alien chromatin controlling resistance to powdery mildew. Conclusion.* *Model of inheritance, which best explains experimental data of F_2 plants segregation for resistant and susceptible if the trait is controlled by one dominant gene, takes into account the following conditions for calculation of probabilities of resistant or susceptible plant formation: all female and only euploid male gametes function, nullisomic zygotes are not viable, during meiosis elimination of meiosis products with alien chromatin occurs with parameter $d = 0, 11-0, 12$.*

Keywords: introgressive lines, alien chromatin transmission, segregation distortion, aneuploid gametes, zygote viability, meiotic drive, powdery mildew.

Матеріал надійшов 11.06.2018