

УДК 523.575.116.4

DOI: 10.18523/2617-4529.2020.3.3-13

Плигун В. В., Єфіменко Т. С., Антонюк М. З., Терновська Т. К.

ЦИТОЛОГІЧНА СТАБІЛЬНІСТЬ ПШЕНИЧНИХ АМФІДИПЛОЇДІВ І СОРТІВ ПШЕНИЦІ В МЕЙОЗІ І

Інтрогресія генів, що контролюють корисні ознаки, до генофонду пшениці м'якої не втрачає своєї актуальності. Звичайним мостом для перенесення чужинних генів є пшеничні амфідиплоїди. Однією з умов успішного використання амфідиплоїдів як джерела чужинних генів є їхня цитологічна стабільність та фертильність. Цитологічну стабільність пшеничних геномно-заміщених амфідиплоїдів Авротіка та Авроале визначили через характеристику подій мейозу на різних його стадіях шляхом вивчення цитологічних препаратів. Амфідиплоїди характеризувались відхиленнями від бівалентної кон'югації хромосом з появою мультівалентних хромосомних асоціацій і унівалентів у метафазі I. У анафазі спостерігали мости. Уніваленти і фрагменти, утворені після розриву мостів, спричиняли появу мікроядер у тетрадах. Мейотичний індекс, розрахований на підставі кількісної характеристики зразків амфідиплоїдів за появою мікроядер і поліад, виявився однаковим для Авротіки та Авроале і перебував у межах 64–69 %. Кон'югація хромосом сортів пшениці м'якої, вивчених для порівняння, була бівалентною з абсолютною перевагою закритих бівалентів у метафазних пластинках. Процес гаметогенезу в амфідиплоїдів супроводжується іноді появою третього генеративного ядра в чоловічому гаметофіті. Отримані характеристики мейозу пояснюють зниження насінневої фертильності Авротіки та особливо Авроале в порівнянні з сортами пшениці м'якої.

Ключові слова: пшениця м'яка, геномно-заміщені амфідиплоїди, мікроспорогенез, мікрогаметогенез, макроспорогенез.

Міжвидову гібридизацію використовують для розширення генетичного пулу гексаплоїдної пшениці. У гібридів можлива втрата хромосом у предзиготичний або постзиготичний періоди. Основними гіпотетичними механізмами, які пояснюють елімінацію хромосом під час мейозу в материнській клітині макроспори, є асинхронність клітинного циклу, деградація чужинного хроматину нуклеазами, інактивація центромер. Різниця в посттрансляційній модифікації гістонів у батьківських видів спричиняє порушення прикріплення кінетохорів до веретена поділу та аномальну сегрегацію сестринських хроматид у анафазі [1,2]. Сестринські хроматиди скріплені когезинами, одночасність розщеплення когезинів протеазами забезпечує точну сегрегацію сестринських хроматид

у дочірні клітини [3,4]. Сильна когезія в центромерних ділянках провокує відсутність розділення хроматид та утворення хромосомних містків, ацентричних фрагментів, розриву пліч [5,6]. Хромосомні фрагменти конденсуються і візуалізуються на стадії тетрад як мікроядра. Гібриди мають знижену фертильність, і можна лише припускати причину цього – порушення сегрегації хромосом, відсутність функціональних гамет, некроз ембріона [6,7].

Амфідиплоїди використовують для створення стійких до грибних захворювань інтрогресованих ліній пшениці м'якої. Успішність створення залежить, зокрема, від фертильності амфідиплоїдів та отриманих за їхньою участю гібридів. Мейоз є ключовою стадією у зниженні фертильності

амфідиплоїдів та їхніх гібридів з пшеницею, тому дослідити цитологічну стабільність амфідиплоїдів, які використовуються для створення інтрогресивних ліній, потрібно для планування успішної роботи з ними. У статті наведено результати оцінки мейотичного поділу материнських клітин пилку (МКП) та материнських клітин макроспори (МКМ) у амфідиплоїдів та сортів пшениці м'якої.

Матеріали та методи

Як рослинний матеріал використано геном-заміщені амфідиплоїди Авротіка ($2n = 42$, геном AABBTT) та Авроале ($2n = 42$, геном AABRRR), стійкі до збудників борошнистої роси та інших грибних захворювань пшениці. Субгеноми AABB амфідиплоїдів є тетраплоїдним компонентом AABB озимого сорту пшениці м'якої Аврора, субгеном TT походить від *Amblyopyrum muticum* Eig, RR – від *Secale cereale* L. [8]. Також використано озимі сорти пшениці м'якої Аврора, Лелека, Ніконія ($2n = 42$, AABDD).

Рослини вирощували за умов штучного освітлення. Коли колос був у трубці між другим і третім листками, вилучали його з соломини та проводили фіксацію у фіксаторі Карнуа. Перед мікроскопічним дослідженням поміщали зразки у 2% ацетокармін. З колоса діставали колосок, з нього – квітку, яка містить одну маточку та три пиляки. Для таких маніпуляцій використовували біокуляр. Мікроскопічний аналіз проводили за допомогою мікроскопа Leica DM LB2 (об'єктиви $\times 40$ та $\times 60$).

Для аналізу цитологічної стабільності амфідиплоїдів і сортів вивчали МКП та МКМ. Підраховували кількість бівалентів, унівалентів, мультівалентів у метафазі I МКП та МКМ. Враховували правильність розподілу хромосом по дочірніх клітинах, після першого та другого поділів мейозу через підрахунок триад та тетрад, визначення кількості мікроядер на стадії тетрад. Порівнювали перебіг мейозу у сортів пшениці та амфідиплоїдів.

Результати та обговорення

Сорт Аврора досліджували під час інтерфази (рис. 1a) та лептотени профазі I (рис. 1b) мікроспорогенезу. Інтерфаза та лептотена профазі I не мали порушень проходження мейотичного поділу. Мікроспорогенез сортів Лелека, Аврора та Ніконія аналізували на стадії метафазної пластинки (рис. 1c) шляхом підрахунку кількості хромосом та визначення конфігурації хромосомної асоціації. Відбувається гомологічна кон'югація хромосом з утворенням на стадії метафазі першого поділу 21 закритого бівалента. У сорту Аврора

наявно 1–2 відкритих біваленти. Хроматин на стадії лептотени сконденсований, і хромосоми візуалізуються як нитки з хроматид у вигляді клубка. За даними І. Колас [9], конденсація хромосом має велике значення для успішної сегрегації хромосом в анафазі. Конденсація відбувається як під час мейозу, так і під час мітозу, тому гени, які контролюють її проходження, ймовірно, однакові. Для *Arabidopsis thaliana* ідентифіковано два гени, *AtCAP-E1* та *AtCAP-E2*, продуктами яких є білки з субодиницею E, які асоційовані з хромосоною *AtCAP-E1* та *AtCAP-E2* (*Arabidopsis thaliana* **C**hromosome **A**ssociated **P**rotein subunit E). За умов рецесивних мутацій за цими генами або їхньої делеції порушується процес наближення та злиття гомологічних хромосом. Гаметогенез у чоловічому та жіночому гаметофітах порушується у подвійних мутантів. Летальність ембріона в рослині *AtCAP-E1*^{-/-}, *AtCAP-E2*^{+/-} відбувається під час або перед стадією глобули, пов'язана зі зміною площини поділу клітин суспензора (підвіска) та зародка [10]. За даними Х. Ма [11], однієї копії гена *AtCAP-E1* достатньо для життєздатності пилку. Однак чоловічі мейоцити в мутантних за цим геном рослин демонструють утворення унівалентів та мультівалентів під час метафазі I та хромосомні містки під час анафазі I, що цілком може пояснюватися дефектами конденсації хроматину.

Для того щоб відбувся перехід до наступної стадії профазі I, зиготени, повинні активуватися гени. У рису (*Oryza sativa* L.) показано [12], що за такі зміни в хромосомній організації відповідає ген *Osam1*. Гомологом цього гена в арабідопсису є *SWITCH1* (*SWI1*) [13,14], у кукурудзи – *AMI* [15]. Продуктом гена є білок когезин, який потрібен для утримання разом сестринських хроматид під час мейозу та формування бівалентів. *SWI1* ініціює синапсис хромосом, потрібен для з'єднання пліч хромосом із центромерами під час чоловічого мейозу. Якщо рослина мутантна за геном *SWI1*, гомологічні хромосоми не утворюють синапси. На метафазній пластинці такі порушення виявляються у вигляді унівалентів, відповідно зменшується кількість бівалентів. Наявність білкового продукту реєструється перед мейозом та на стадії профазі. Роль цього гена яскраво проявляється в гібридів [13].

Утворення хромосомних асоціацій, відмінних від бівалентів, не є характерним для рослин, якщо їхній геном представлений парами повністю гомологічних хромосом, які до того ж не містять внутрішньогеномних транслокацій [16]. Порушення гомології хромосомних пар може спричинитися включенням до одного з членів пари фрагментів чужинного хроматину, і це однозначно призводить до порушення проходження мейозу, зокрема

до утворення унівалентів. Тоді в тетрадах (рис. 1*d*), які є продуктом другого поділу мейозу, спостерігається поява мікроядер. За нормального проходження відбувається рівномірний розподіл хромосом по дочірніх клітинах.

Продуктами двох поділів мейозу МКП є чотири гаплоїдні мікроспори, які тримаються разом за рахунок калози, однак зв'язок між клітинами втрачається через поступове її руйнування [17]. Кожна з гаплоїдних мікроспор дасть початок пилковому зерну (чоловічому гаметофіту) (рис. 1*e*). Спочатку пилкове зерно містить багато вакуоль,

які поступово зливаються та утворюють одну велику, яка в подальшому матиме вплив на формування веретена поділу. Така вакуоля впливає на розташування ядра. Коли ще не відбувався мітоз і ядро одне, то через наявність вакуолі воно розташовуватиметься на протилежному полюсі від пори [18], що й спостерігали (рис. 1*e, f*). Одноядерне пилкове зерно проходить нерівний мітотичний поділ з утворенням великого вегетативного ядра та малого генеративного, останнє проходить ще один мітоз. Розвиток пилкового зерна закінчується утворенням двох спермій [19].

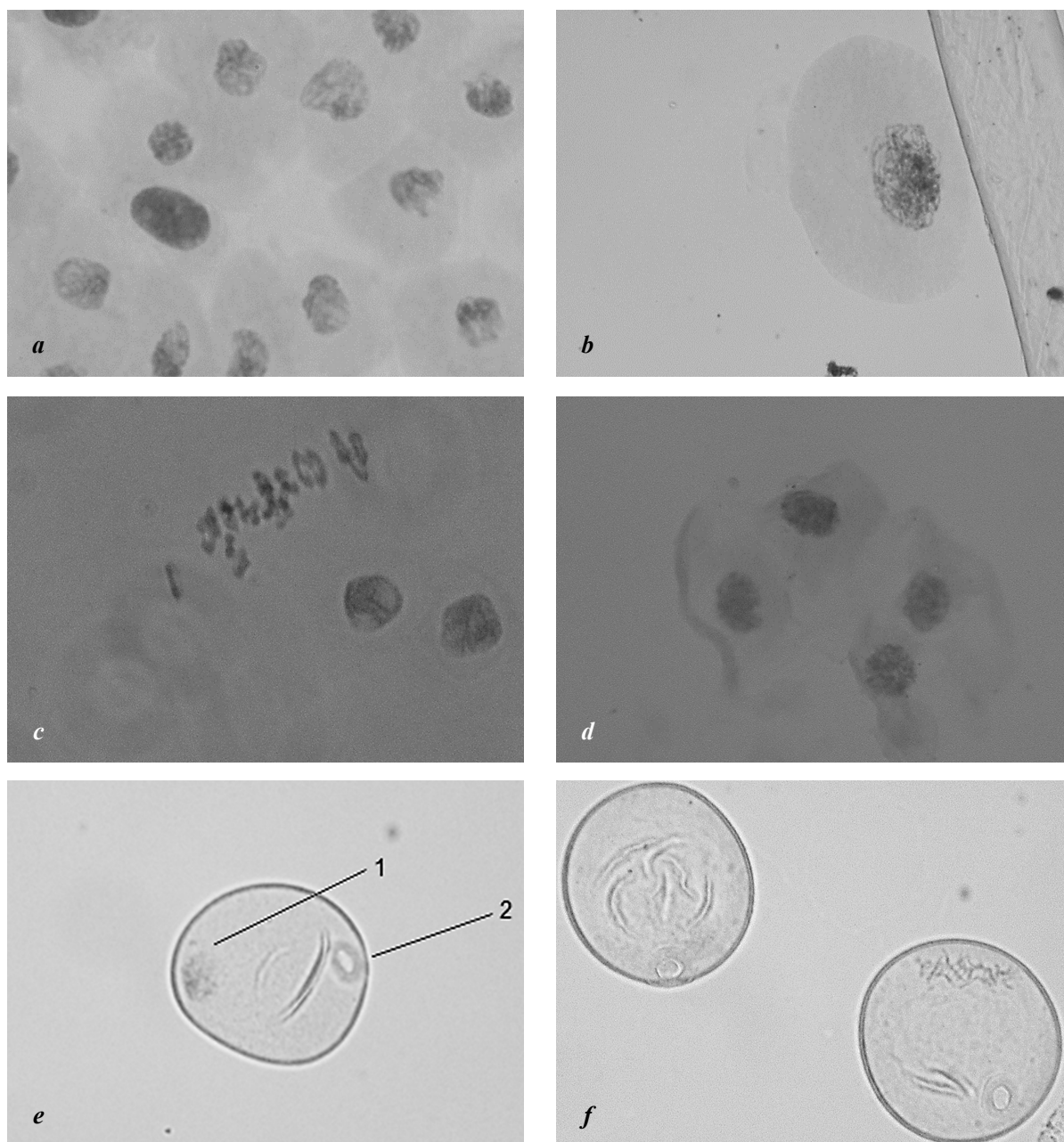


Рис. 1. Мікроспорогенез і гаметогенез сортів пшениці м'якої Аврора (*a, b*), Лелека (*c, d*) та Ніконія (*e, f*): *a* – інтерфаза мейозу I; *b* – лептотена профазі мейозу I; *c* – метафаза I (бівалентів – 21); *d* – тетради; *e* – пилкове зерно на стадії профазі першого поділу мітозу (1 – ядро; 2 – пора); *f* – метафаза першого поділу мітозу

Під час дослідження геномно-заміщених амфідиплоїдів спостерігали порушення на різних стадіях. Інтерфаза та профазі Авроале не відрізнялися від аналогічних стадій у сортів пшениці м'якої (рис. 2*a, b*). Після профазі I слідує діакінез (рис. 2*c*). На цій стадії біваленти набувають більш компактної форми, помітно зменшується їхній розмір та кількість хіазм. Компактизація хроматину відбувається через надспіралізацію хроматид. Розмір хромосом також залежить від кількості хіазм, які вони утворюють. На завершальних етапах цієї стадії визначається форма бівалента або іншого варіанта хромосомної асоціації та кількість хіазм стає постійною [9]. Коли закінчився діакінез, клітина переходить на стадію метафази. На цій стадії реєструється поява унівалентів та мультивалентів (рис. 2*d*).

Якщо немає кон'югації між хромосомами в паритені, це призводитиме до утворення унівалентів, такий процес називають асинапсисом. Також можливий і десинапсис, коли після кон'югації відбувається передчасне розходження хромосом з бівалента або мультивалента в пізній зиготені профазі I – ранньому діакінезі. Така ситуація характерна як для віддалених гібридів, так і для амфідиплоїдів, як у нашому дослідженні. Наявність

унівалентів і псевдоунівалентів у гібридів може свідчити про часткову гомологію геномів батьківських видів, які дали початок гібриду [9]. Для амфідиплоїдів, які за походженням мають мати пари гомологічних хромосом, що в нормі кон'югують, поява унівалентів і псевдоунівалентів свідчить про інші механізми порушення кон'югації хромосом, крім порушення гомології. Це може бути характерне для амфідиплоїдів порушення експресії генів [20], зокрема ортологічних генів арабідопсису *AtCAP-E1* і *AtCAP-E2* [10] та *SWI1* [13], які контролюють процес наближення та злиття гомологічних хромосом, і тоді утворюватимуться уніваленти. Псевдоуніваленти утворюються з одного бівалента, тому розташовуються симетрично один відносно одного і мають однакові розміри та форму, центромера буде орієнтована до полюса веретена. Утворені уніваленти, однак, не вбудовуються в екваторіальну пластинку, тому розташовуються по всій цитоплазмі і в дочірні ядра не потрапляють. Хромосоми, що відстали, візуалізуються на стадії тетради у вигляді мікроядер. Можливе формування мультивалентів у результаті кон'югації частково гомологічних хромосом. При цьому утворюються різні просторові фігури:

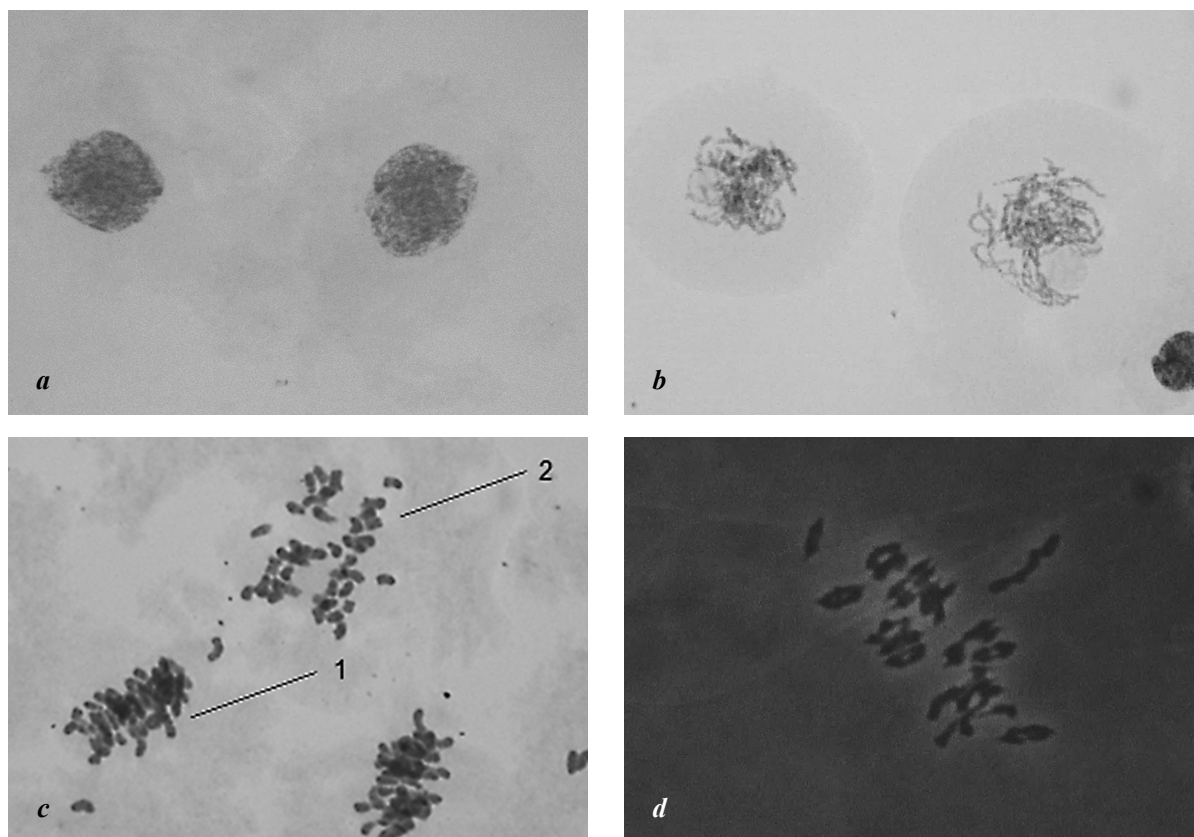


Рис. 2. Мікроспорогенез геномно-заміщених амфідиплоїдів Авроале (*a, b, c*) та Авротіки (*d*): *a* – інтерфаза мейозу I; *b* – лептотена профазі I; *c* – метафаза (1) та діакінез (2); *d* – метафаза

- тривалент – утворює ланцюжок (рис. 2d);
- квадрівалент – у вигляді або ланцюжка, або кільця (рис. 2d);
- гексавалент – відкритий або закритий ланцюжок.

На стадії метафази підраховували кількість хромосом і враховували наявність відмінних від бівалентів хромосомних асоціацій (табл. 1). Уніваленти, наявні у М1, відстають у анафазі та телофазі (рис. 3a, b) та елімінуються, що розглядають як димінуцію хроматину. Утворення мультівалентів може бути наслідком порушення контролю парної кон'югації хромосом. Остання контролюється локусом *Ph1* [20]. Локус

контролює диплоїдну поведінку хромосом під час мейозу, відбувається утворення синапсису тільки між гомологічними хромосомами. За відсутності *Ph1* відбувається кон'югація між гомеологічними хромосомами. Локус локалізований на довгому плечі 5В хромосоми тетраплоїдної та гексаплоїдної пшениць. Уперше його ідентифікували Р. Райлі та В. Чапмен у 1958 р. в результаті оцінки метафазного фенотипу в гексаплоїдних гібридів пшениці, позбавлених 5В хромосоми (цит. за: [21]).

На стадії тетрад мікроспорогенезу, крім тетрад (рис. 4a, b), спостерігали ще й тріади (рис. 4c). У клітинах МКП одного й того

Таблиця 1. Асоціації хромосом під час метафази I МКП у амфідиплоїдів

Конфігурація хромосомних асоціацій	Кількість МКП з цією хромосомною асоціацією	Конфігурація хромосомних асоціацій	Кількість МКП з цією хромосомною асоціацією
МКП Авротики			
14 ^{Пз+4^{Пв+2^Ш}}	1	12 ^{Пз+2^{Пв+2^{1+4^Ш}}}	9
16 ^{Пз+2^{Пв+4¹}}	2	10 ^{Пз+5^{Пв+4^Ш}}	14
17 ^{Пз+2^{1+2^Ш}}	3	16 ^{Пз+2^{Пв+2^Ш}}	15
11 ^{Пз+2^{1+4^{IV}}}	4	13 ^{Пз+6^{Пв+4¹}}	15
16 ^{Пз3^{Пв+4¹}}	5	15 ^{Пз+5^{Пв+2¹}}	17
10 ^{Пз+8^{Пв+6¹}}	6	12 ^{Пз+6^{Пв+2^Ш}}	18
15 ^{Пз+4^Ш}	7	15 ^{Пз+4^{Пв+4¹}}	19
14 ^{Пз+5^{Пв+4¹}}	8	16 ^{Пз+4^{Пв+2¹}}	21
14 ^{Пз+4^{Пв+3^{1+1^Ш}}}	9	–	–
МКП Авроале			
14 ^{Пз+3^{Пв+5^{1+1^Ш}}}	7	14 ^{Пз+4^{Пв+3^{1+1^Ш}}}	14
11 ^{Пз+8^{Пв+1^{1+1^Ш}}}	9	14 ^{Пз+4^{Пв+6¹}}	15
15 ^{Пз+3^{1+3^Ш}}	11	14 ^{Пз+4^{Пв+2^Ш}}	15
11 ^{Пз+5^{Пв+4^{1+2^Ш}}}	12	14 ^{Пз+4^{Пв+2^Ш}}	21
14 ^{Пз+4^{Пв+3^{1+3^Ш}}}	14	–	–

Примітка. Пз – закритий бівалент; Пв – відкритий бівалент; 1 – унівалент; Ш – тривалент; IV – квадрівалент.

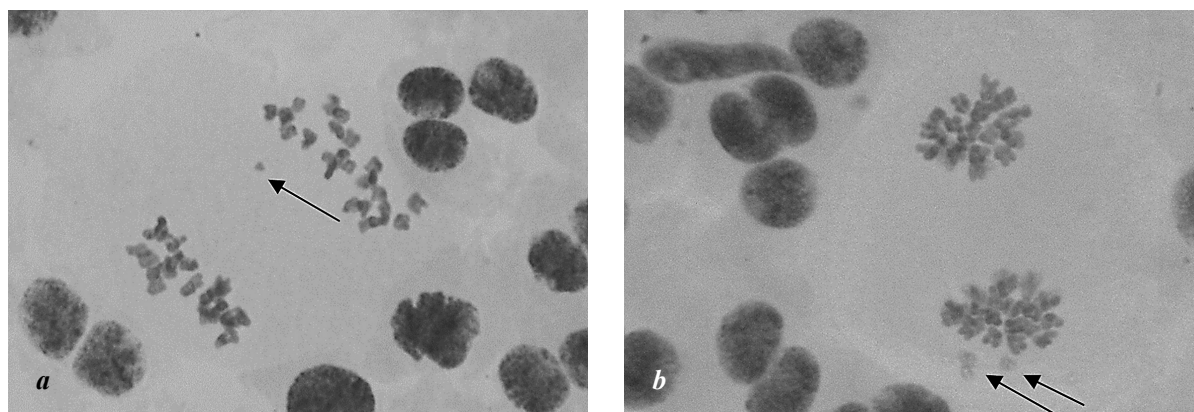


Рис. 3. Мікроспорогенез геномно-заміщеного амфідиплоїда Авроале: a – анафаза; b – телофаза (стрілки вказують на хромосоми, що відстали)

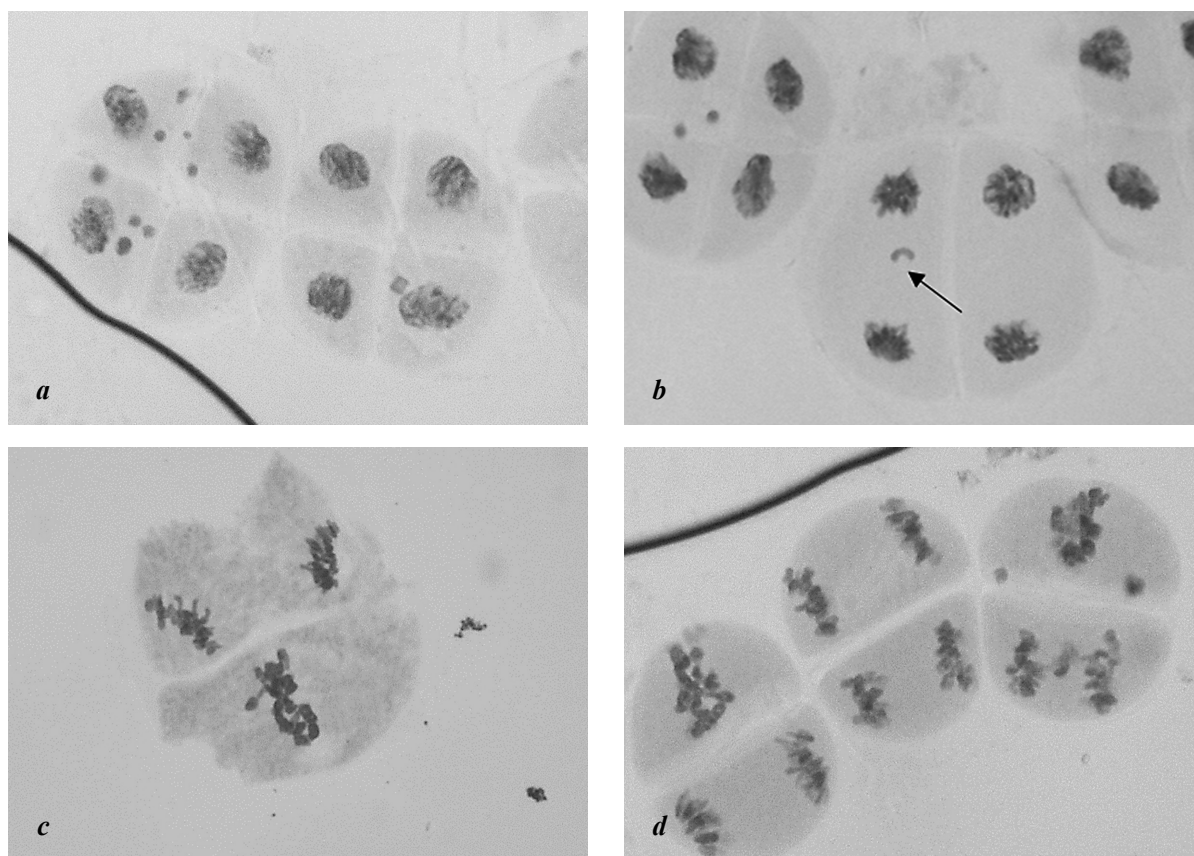


Рис. 4. Мікроспорогенез геномно-заміщених амфідиплоїдів Авроале (*a, b, d*) та Авротіки (*c*):
a – тетради з мікроядрами; *b* – тетради з хромосоною, що відстала; *c* – триада мікроспор;
d – діада мікроспор на різних етапах поділу, з хромосомним мостом

самого пиляку пшениці поділи здебільшого відбуваються синхронно. На пиляках амфідиплоїдів спостерігали відхилення від цієї тенденції. Наприклад, одна з клітин перебуває на стадії метафази, а інша – на стадії телофази, одна клітина перебувала на стадії метафази, а інша – анафази (рис. 4*d*). Одна з двох клітин діади – на стадії телофази, інша відстає (рис. 4*d*), при цьому є міст. Асинхронність клітинного циклу, як і поява мостів у анафазі, може бути наслідком у посттрансляційній модифікації гістонів, від якої залежить прикріплення кінетохорів до веретена поділу та сегрегація сестринських хроматид у анафазі [1,2]. Порушення в посттрансляційній модифікації гістонів, як і інші епігенетичні явища, є характерними для амфідиплоїдів [23]. Міст утворюється між анафазними хромосомами (рис. 4*d*). Коли він руйнується, то з фрагментів у результаті конденсації хроматину утворюються мікроядра [24]. Отже, наявність мікроядер пов'язана не лише з появою унівалентів у метафазі М1, а й з формуванням та розривом мостів у анафазі I чи анафазі II.

За результатом аналізу мейозу на стадії тетрад можна обчислити мейотичний індекс, який

розраховується як відношення кількості тетрад без порушень до загальної кількості досліджених тетрад [25]:

$$\frac{T_n}{(T_n + T_{мя} + T_p + T_n)}$$

де T_n – тетради без порушень; $T_{мя}$ – тетради, які мають мікроядра; T_p – триади; T_n – поліади.

Вирахування такого показника є доцільним, коли утворювалися тетради з мікроядрами, триади чи поліади. Він дає змогу кількісного порівняння мейотичної стабільності різних зразків, зокрема амфідиплоїдів (рис. 5).

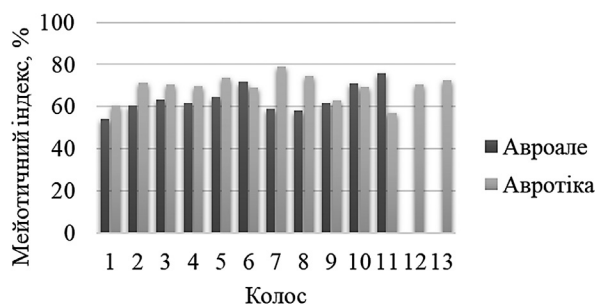


Рис. 5. Мейотичний індекс у геномно-заміщених амфідиплоїдів Авротіка та Авроале

У табл. 2 наведено дані до розрахунку мейотичного індексу для Авротіки та Авроале. Порівняння кількісних характеристик двох амфідиплоїдів за критерієм рангів Вілкоксона – Уайта показало відсутність різниці між ними за мейотичним індексом ($U=108$), кількістю тетрад без порушень ($U=133,5$), кількістю тетрад з порушеннями ($U=135,5$ за одних і тих самих критичних значень $U_{0,01}=93$, $U_{0,05}=103,7$). Однак у тетрадах Авроале не знайдено жодної тріади, тоді як для Авротіки їхня поява виявилась звичайним явищем (табл. 2). Отже, мейотичний індекс сам

по собі не є показником, що характеризує стабільність чи нестабільність мейотичних подій у рослинному зразку. Повнішу інформацію можна отримати при структуризації цього показника за елементами оцінки, які входять до його розрахунку. Отримані нами результати дають змогу припустити, що порушення мейозу в Авротіці може серед іншого спричинюватися порушенням синхронності процесів другого мейотичного поділу, а для Авроале це не є характерним.

Процеси гаметогенезу спостерігали при формуванні пилкових зерен (рис. 6). Наші результати

Таблиця 2. Дані до структуризації показника мейотичного індексу в геномно-заміщених амфідиплоїдів

Номер колоса	Тетради без порушень		Тетради з мікроядрами		Тріади		Мейотичний індекс, %	
	Авротіка	Авроале	Авротіка	Авроале	Авротіка	Авроале	Авротіка	Авроале
1	27	29	19	14	4	-	54	60
2	32	35	21	13	0	-	60	71
3	45	29	26	12	0	-	63	70
4	29	39	18	17	0	-	62	69
5	31	53	17	19	0	-	64	74
6	23	29	9	13	0	-	72	69
7	43	38	21	10	9	-	59	79
8	39	47	17	16	11	-	58	75
9	56	32	29	16	6	-	61	63
10	32	27	13	12	0	-	71	69
11	28	41	9	27		-	76	57
12		31		12		-		70
13		29		11		-		72

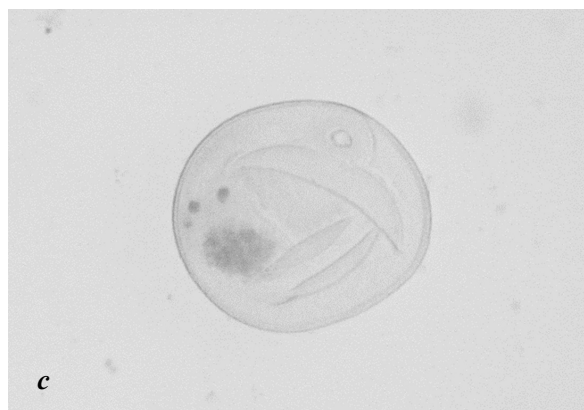
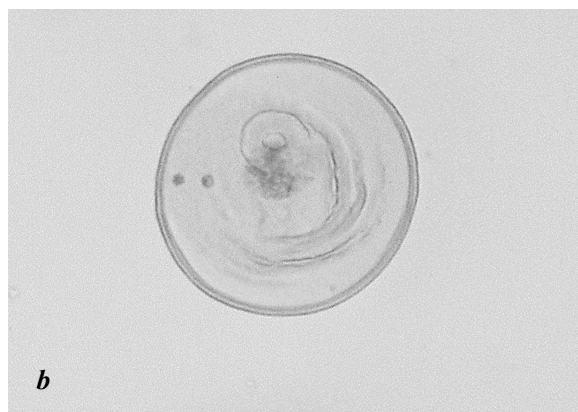
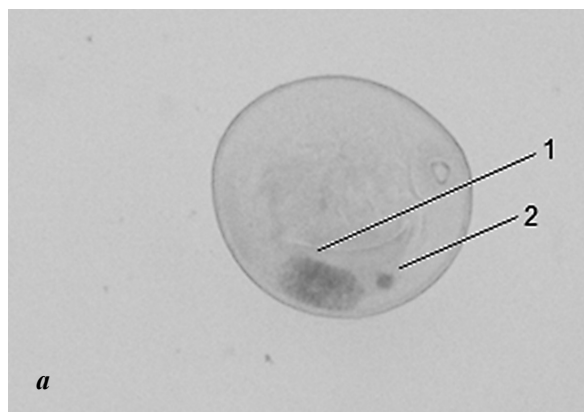


Рис. 6. Мікрогаметогенез геномно-заміщеного амфідиплоїда Авроале:

- a* – пилкове зерно з вегетативним (1) та генеративним (2) ядрами;
- b* – пилкове зерно з вегетативним ядром великого розміру та двома сперміями;
- c* – пилкове зерно з вегетативним ядром та трьома сперміями

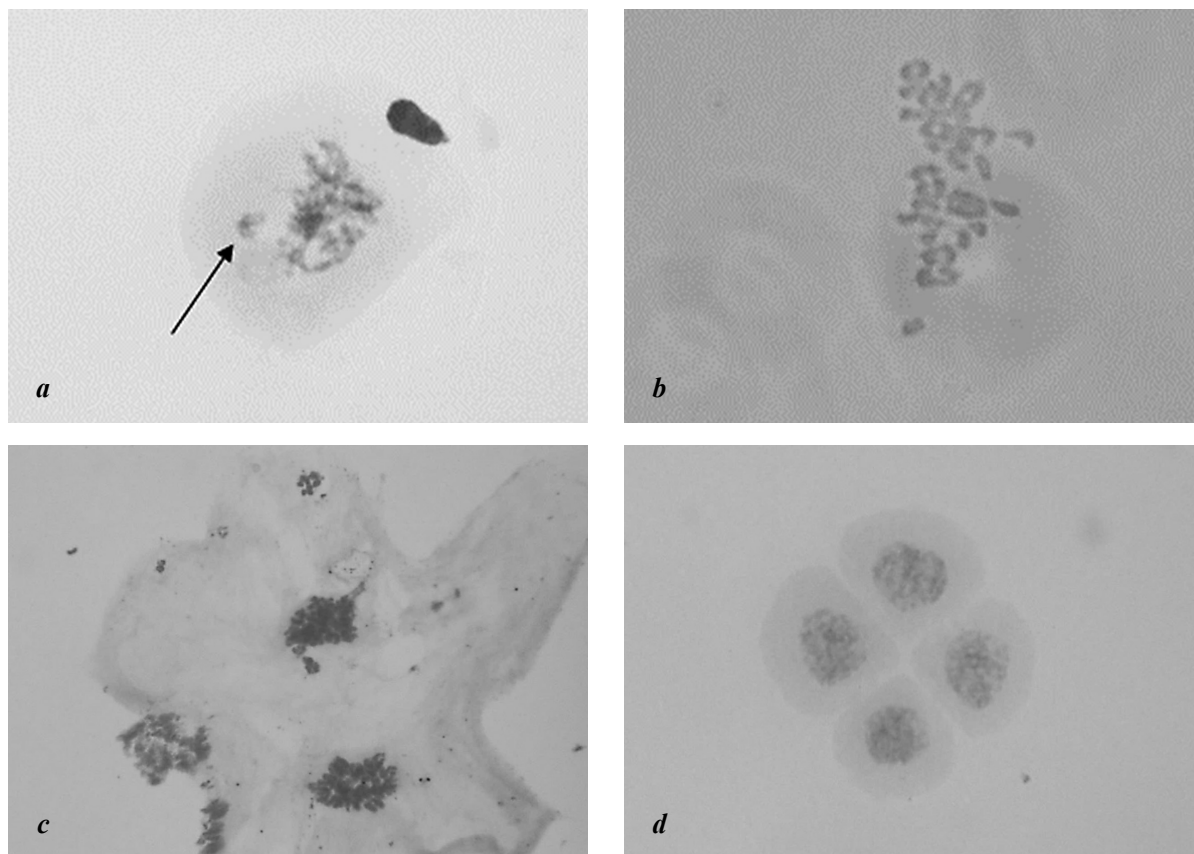


Рис. 7. Макроспорогенез геномно-заміщеного амфідиплоїда Авроале: *a* – зиготена профазу I; *b* – метафаза I; *c* – телофаза I; *d* – тетрада після телофази II

підтверджують спостереження Ф. Сайферта [26], що на ранніх стадіях розвитку пилкового зерна продукти першого мітозу, вегетативне та генеративне ядра, мало відрізняються. Перед другим поділом одне ядро, вегетативне, стає помітно більшим за друге (рис. 6*a*), яке проходить другий поділ з утворенням двох спермій (рис. 6*b*). Другий поділ гаметогенезу у злаків відбувається, коли майбутнє пилкове зерно міститься в пиляку. У тютюну, цибулі, лілії мітозу II проходить на приймочці маточки, коли пилкове зерно проростає в пилкову трубку. Морфологічні та функціональні відмінності вегетативного та генеративного ядер, що формуються після першого поділу гаметогенезу, пояснюють через закладення асиметричного веретена поділу і формування вигнутого фрагмобласту [27]. Спостерігали утворення трьох спермій (рис. 6*c*). Раніше було показано, що такі спермії можуть не закінчити свій розвиток, що завершується стерильністю рослини [28,29].

Вивчення макроспорогенезу є набагато складнішим дослідженням. У розвитку пиляку бере участь велика кількість материнських клітин пилку (МКП), і в кожній квітці пиляків три. Материнська клітина макроспори (МКМ) одна на квітку, тому отримати цитологічний препарат

МКМ складно. У геномно-заміщених амфідиплоїдів спостерігали декілька стадій мегаспорогенезу: профазу I, діакінез, метафазу, телофазу I та стадію тетрад (рис. 7). На стадії профазу I було наявне скупчення хроматину, яке менше від загальної хромосомної маси (рис. 7*a*). Діакінез проходив без візуальних порушень. Під час метафази іноді реєстрували уніваленти (рис. 7*b*). На стадіях телофази та тетрад порушень не спостерігали (рис. 7 *c, d*).

У перебігу мейозу всередині квітки Авроале існує асинхронність подій у жіночій та чоловічій статевих сферах: коли в материнській клітині мегаспори відбувається метафаза I, материнська клітина пилку до мейозу ще не переходить.

Висновки

Вивчені сорти пшениці м'якої мали нормальний перебіг мейозу МКП з утворенням у метафазі I 21 бівалента, переважно закритих. Амфідиплоїди характеризувались відхиленнями від бівалентної кон'югації хромосом із появою мультівалентних хромосомних асоціацій і унівалентів у метафазі I. У анафазі II амфідиплоїдів спостерігали мости. Розрив мостів з утворенням

великих фрагментів, які візуалізуються на стадії тетрад мікроспорогенезу як мікроядра, а також локалізація унівалентів поза межами метафазної пластинки, що супроводжується їхньою елімінацією, є причиною втрати частини хромосом геному, формування гамет зі зниженою життєздатністю і, як наслідок – зниження фертильності амфідиплоїдів. Мейотичний індекс, розрахований на підставі кількісної характеристики зразків амфідиплоїдів за появою мікроядер і поліад, однаковий для обох амфідиплоїдів, вказує

на їхню знижену мейотичну стабільність у порівнянні з сортами пшениці. Порівняння мейотичного індексу Авротіки та Авроале за структурними елементами показує різницю між вивченими амфідиплоїдами: мікроспороцити Авротіки не формують поліад, для Авроале їхня наявність є звичайним явищем і дає внесок до мейотичного індексу. Отримані характеристики мейозу пояснюють зниження насінневої фертильності Авротіки та особливо Авроале в порівнянні з сортами пшениці м'якої.

Список літератури

- Mochida K, Tsujimoto H, Sasakuma T. Confocal analysis of chromosome behavior in wheat×maize zygotes. *Genome*. 2004;47:199–205.
- Tonosaki K, Osabe K, Kawanabe T, Fujimoto R. The importance of reproductive barriers and the effect of allopolyploidization on crop breeding. *Breed Sci*. 2016;66(3):333–49.
- Zhang J, Feng C, Su H, Liu Y, Liu Y, Han F. The cohesin complex subunit ZmSMC participates in meiotic centromere pairing in maize. *The plant cell*. 2020. DOI: 10.1105/tpc.19.00834
- Lambing C, Tock JA, Topp DS, Choi K, Kuo CP, Zhao X, et al. Interacting genomic landscapes of REC8-cohesin, chromatin and meiotic recombination in *Arabidopsis thaliana*. *The plant cell*. 2020. DOI: 10.1105/tpc.19.00866
- Ishiguro K, Watanabe Y. Chromosome cohesion in mitosis and meiosis. *Journal of cell science*. 2007;120:367–9. DOI: 10.1242/jcs.03324
- Kwiatk TM, Majka J, Majka M, Belter J. Adaptation of the pivotal-differential genome pattern for the induction of intergenomic chromosome recombination in hybrids of synthetic amphidiploids within Triticeae Tribe. *Front. Plant Sci*. 2017. DOI: 10.3389/fpls.2017.01300
- Tiwari KV, Rawat N, Neelam K, Kumar S, Randhawa SG, and Dhaliwal SH. Random chromosome elimination in synthetic *Triticum-Aegilops* amphiploids leads to development of a stable partial amphiploid with high grain micro- and macronutrient content and powdery mildew resistance. *Genome*. 2010. DOI: 10.1139/G10-083
- Жиров Е. Г. Геномы пшеницы: исследование и перестройка [диссертация]. Краснодар, Росія; Краснодарський науково-дослідний інститут сільського господарства ім. П. П. Лук'яненка; 1989. 389 с.
- Colas I. A study of the mechanisms of meiosis in wheat [dissertation]. University of East Anglia Norwich Research Park, Colney Lane, Norwich NR4 7UH; 2008. 189 p.
- Siddiqui NU, Stronghill PE, Dengler RE, Hasenkampf CA, Riggs CD. Mutations in *Arabidopsis* condensin genes disrupt embryogenesis, meristem organization and segregation of homologous chromosomes during meiosis. *Development*. 2003;130(1):3283–95.
- Ma H. A Molecular Portrait of Arabidopsis Meiosis. *Arabidopsis Book*. 2006 Jun 6;4:e0095.
- Che L, Tang D, Wang K, Wang M, Zhu K, Yu H, et al. OsAM1 is required for leptotene-zygotene transition in rice. *Cell Res*. 2011 Jan 11;21(4):654–65.
- Mercier R, Vezon D, Bullier E, Juan C, Motamayor, Aurélie Sellier, et al. SWITCH1 (SWI1): a novel protein required for the establishment of sister chromatid cohesion and for bivalent formation at meiosis. *Genes Dev*. 2001 Jul 15;15(14):1859–71.
- Mercier R, Armstrong SJ, Horlow C, Jackson NP, Makaroff CA, Vezon D, et al. The meiotic protein SWI1 is required for axial element formation and recombination initiation in Arabidopsis. *Development*. 2003 Jul;130(14):3309–18.
- Pawlowski WP, Chung-Ju RW, Golubovskaya IN, Szymaniak JM, Liang S, Hamant O, et al. Maize AME1OTIC1 is essential for multiple early meiotic processes and likely required for the initiation of meiosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009 Feb 9;106(9):3603–8.
- Kihara H. Wheat studies. Retrospect and prospects. Tokyo: Kodansha LTD, Amsterdam-Oxford-New York; 1982. 308 p
- Seifert F, Bössow S, Kümlehn J, Gnad H, Scholten S. Analysis of wheat microspore embryogenesis induction by transcriptome and small RNA sequencing using the highly responsive cultivar “Svilena”. *BMC Plant Biol*. 2016 Apr 21;16:97.
- Cai X and Xu SS. Meiosis-Driven Genome Variation in Plants. *Curr Genomics*. 2007 May;8(3):151–161.
- Grando MF, Moraes-Fernandes MI. Two point deterministic model for acquisition of *in vitro* pollen grain androgenetic capacity based on wheat studies. *Brazilian Journal of Genetics*. 1997 Sept.;1678–4502.
- Feldman M, Levy AA, Fahima T, Korol A. Genomic asymmetry in allopolyploid plants: wheat as a model. *J Exp Bot*. 2012;14:5045–59.
- Xie Q, Kang H, Sparkes DL, Tao S, Fan XM, Xu L, et al. Mitotic and meiotic behavior of rye chromosomes in wheat – *Psathyrostachys huashanica* amphiploid x triticale progeny. *Genetics and molecular research*. 2013;12(3):2537–48.
- Greer E, Martin AC, Pendle A, Colas I, Jones AME, Moore G, et al. The *Ph1* Locus Suppresses Cdk2-Type Activity during Premeiosis and Meiosis in Wheat. *The Plant Cell*. 2012 Jan. DOI: 10.1105/tpc.111.094771.
- Zhao N, Zhu B, Li MJ, Wang L, Xu LY, Zhang H, et al. Extensive and heritable epigenetic remodeling and genetic stability accompany allohexaploidization of wheat. *Genetics*. 2011;188:499–509.
- An H, Hu M, Li P, Geng G, Zhang Q, Zhang S. Chromosomal behavior during meiosis in the progeny of *Triticum timopheevii* × hexaploid wild oat. *PLoS ONE*. 2015 May;10(5):e0126398. DOI: 10.1371/journal.pone.0126398
- Love RM. Varietal differences in meiotic chromosome behavior of Brazilian wheats. *Agron. J*. 1951;43:72–6.
- Seifert F, Bössow S, Kümlehn J, Gnad H, Scholten S. Analysis of wheat microspore embryogenesis induction by transcriptome and small RNA sequencing using the highly responsive cultivar “Svilena”. *BMC Plant Biology*. 2016. DOI: 10.1186/s12870-016-0782-8
- Tanaka I. Differentiation of generative and vegetative cells in angiosperm pollen. *Sex Plant Reprod*. 1997;10:1–7.
- Win KT, Kubo T, Miyazaki Y, Doi K, Yamagata Y, Yoshimura A. Identification of two loci causing F1 pollen sterility in inter- and intraspecific crosses of rice. *Breeding Science*. 2009;59:411–8.
- Wang C-J, Dai S-F, Zhang L-Q, Zheng Y-L. Formation of unreduced gametes is impeded by homologous chromosome pairing in tetraploid *Triticum turgidum* × *Aegilops tauschii* hybrids. *Euphytica*. 2010 Oct;175(3):323–9.

References

- Mochida K, Tsujimoto H, Sasakuma T. Confocal analysis of chromosome behavior in wheat×maize zygotes. *Genome*. 2004;47:199–205.
- Tonosaki K, Osabe K, Kawanabe T, Fujimoto R. The importance of reproductive barriers and the effect of allopolyploidization on crop breeding. *Breed Sci*. 2016;66(3):333–349.
- Zhang J, Feng C, Su H, Liu Y, Liu Y, Han F. The cohesin complex subunit ZmSMC participates in meiotic centromere pairing in maize. *The plant cell*. 2020. DOI: 10.1105/tpc.19.00834
- Lambing C, Tock JA, Topp DS, Choi K, Kuo CP, Zhao X, et al. Interacting genomic landscapes of REC8-cohesin, chromatin and meiotic recombination in *Arabidopsis thaliana*. *The plant cell*. 2020. DOI: 10.1105/tpc.19.00866
- Ishiguro K, Watanabe Y. Chromosome cohesion in mitosis and meiosis. *Journal of cell science*. 2007;120:367–9. DOI: 10.1242/jcs.03324
- Kwiatk TM, Majka J, Majka M, Belter J. Adaptation of the pivotal-differential genome pattern for the induction of intergenomic chromosome recombination in hybrids of synthetic amphidiploids within Triticeae Tribe. *Front. Plant Sci*. 2017. DOI: 10.3389/fpls.2017.01300
- Tiwari KV, Rawat N, Neelam K, Kumar S, Randhawa SG, and Dhaliwal SH. Random chromosome elimination in synthetic *Triticum–Aegilops* amphiploids leads to development of a stable partial amphiploid with high grain micro- and macronutrient content and powdery mildew resistance. *Genome*. 2010. DOI: 10.1139/G10-083
- Zhirov EG. Wheat genomes: research and rearrangement [dissertation]. Krasnodar, Russia; Lukianenko Krasnodar Research Institute of Agriculture; 1989. 389 p. Russian.
- Colas I. A study of the mechanisms of meiosis in wheat [dissertation]. University of East Anglia Norwich Research Park, Colney Lane, Norwich NR4 7UH; 2008. 189 p.
- Siddiqui NU, Stronghill PE, Dengler RE, Hasenkampf CA, Riggs CD. Mutations in *Arabidopsis* condensin genes disrupt embryogenesis, meristem organization and segregation of homologous chromosomes during meiosis. *Development*. 2003;130(4):3283–95.
- Ma H. A Molecular Portrait of Arabidopsis Meiosis. *Arabidopsis Book*. 2006 Jun 6;4:e0095.
- Che L, Tang D, Wang K, Wang M, Zhu K, Yu H, et al. OsAM1 is required for leptotene-zygotene transition in rice. *Cell Res*. 2011 Jan 11;21(4):654–65.
- Mercier R, Vezon D, Bullier E, Juan C. Motamayor, Aurélie Sellier, et al. SWITCH1 (SWI1): a novel protein required for the establishment of sister chromatid cohesion and for bivalent formation at meiosis. *Genes Dev*. 2001 Jul 15;15(14):1859–71.
- Mercier R, Armstrong SJ, Horlow C, Jackson NP, Makaroff CA, Vezon D, et al. The meiotic protein SWI1 is required for axial element formation and recombination initiation in Arabidopsis. *Development*. 2003 Jul;130(14):3309–18.
- Pawlowski WP, Chung-Ju RW, Golubovskaya IN, Szymaniak JM, Liang S, Hamant O, et al. Maize AME10TIC1 is essential for multiple early meiotic processes and likely required for the initiation of meiosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009 Feb 9;106(9):3603–8.
- Kihara H. Wheat studies. Retrospect and prospects. Tokyo: Kodansha LTD, Amsterdam-Oxford-New York; 1982. 308 p
- Seifert F, Bössow S, Kumlehn J, Gnad H, Scholten S. Analysis of wheat microspore embryogenesis induction by transcriptome and small RNA sequencing using the highly responsive cultivar “Svilena”. *BMC Plant Biol*. 2016 Apr 21;16:97.
- Cai X and Xu SS. Meiosis-Driven Genome Variation in Plants. *Curr Genomics*. 2007 May;8(3):151–161.
- Grando MF, Moraes-Fernandes MI. Two point deterministic model for acquisition of *in vitro* pollen grain androgenetic capacity based on wheat studies. *Brazilian Journal of Genetics*. 1997 Sept.;1678–4502.
- Feldman M, Levy AA, Fahima T, Korol A. Genomic asymmetry in allopolyploid plants: wheat as a model. *J Exp Bot*. 2012;14:5045–59.
- Xie Q, Kang H, Sparkes DL, Tao S, Fan XM, Xu L, et al. Mitotic and meiotic behavior of rye chromosomes in wheat – *Psathyrostachys huashanica* amphiploid × triticale progeny. *Genetics and molecular research*. 2013;12(3):2537–48.
- Greer E, Martin AC, Pendle A, Colas I, Jones AME, Moore G, et al. The *Ph1* Locus Suppresses Cdk2-Type Activity during Premeiosis and Meiosis in Wheat. *The Plant Cell*. 2012 Jan. DOI: 10.1105/tpc.111.094771
- Zhao N, Zhu B, Li MJ, Wang L, Xu LY, Zhang H, et al. Extensive and heritable epigenetic remodeling and genetic stability accompany allohexaploidization of wheat. *Genetics*. 2011;188:499–509.
- An H, Hu M, Li P, Geng G, Zhang Q, Zhang S. Chromosomal behavior during meiosis in the progeny of *Triticum timopheevii* × hexaploid wild oat. *PLoS ONE*. 2015 May;10(5):e0126398. DOI: 10.1371/journal.pone.0126398
- Love RM. Varietal differences in meiotic chromosome behavior of Brazilian wheats. *Agron. J*. 1951;43:72–6.
- Seifert F, Bössow S, Kumlehn J, Gnad H, Scholten S. Analysis of wheat microspore embryogenesis induction by transcriptome and small RNA sequencing using the highly responsive cultivar “Svilena”. *BMC Plant Biology*. 2016. DOI: 10.1186/s12870-016-0782-8
- Tanaka I. Differentiation of generative and vegetative cells in angiosperm pollen. *Sex Plant Reprod*. 1997;10:1–7.
- Win KT, Kubo T, Miyazaki Y, Doi K, Yamagata Y, Yoshimura A. Identification of two loci causing F1 pollen sterility in inter- and intraspecific crosses of rice. *Breeding Science*. 2009;59:411–8.
- Wang C-J, Dai S-F, Zhang L-Q, Zheng Y-L. Formation of unreduced gametes is impeded by homologous chromosome pairing in tetraploid *Triticum turgidum* × *Aegilops tauschii* hybrids. *Euphytica*. 2010 Oct;175(3):323–9.

V. Plyhun, T. Iefimenko, M. Antonyuk, T. Ternovska

CYTOLOGICAL STABILITY OF WHEAT AMPHIDIPOIDS AND CULTIVARS IN MEIOSIS I

Introgression of genes controlling useful traits into a common wheat gene pool is still a highly actual task. Amphidiploids usually serve as a bridge for transferring alien genes into the wheat genome. One of the conditions of successful use of amphidiploids as sources of alien genes is their cytological stability and fertility. Cytological stability of the genome substitution amphidiploids Aurotica and Auroale was determined through characterization of different meiosis stages by studying cytological preparations. Amphidiploids were characterized by deviations from the bivalent chromosome conjugation, appearance of multivalent

chromosome associations, and univalent chromosomes in metaphase I. In the anaphase, bridges were observed. Univalents and chromosome fragments resulted from the bridges breakage caused appearance of micronuclei in tetrads. Conjugation of chromosomes in common wheat cultivars, studied for comparison, was bivalent, with the absolute preference of closed bivalents in metaphase plates. The meiotic index calculated on quantitative characteristics of amphidiploids with micronuclei and polyads was similar for Aurotica and Auroale and varied between 64–69 %. In tetrads of Auroale no triads were found, whereas in Aurotica triads were usual. So, the meiotic index in itself is not an indicator for the meiotic stability of a plant sample. More exhaustive information can be received through structuring of the meiotic index for assessment of components which are used for its calculation. The received results enable to assume that meiotic abnormalities in Aurotica may be caused by disorder of synchrony in meiosis II processes, whereas for Auroale this disorder is not typical. Gametogenesis in amphidiploids sometimes demonstrated appearance of the third generative nucleus in the male gametophyte. Determined meiosis characteristics explain the decline in seed fertility of Aurotica, and in particular Auroale, compared to common wheat cultivars.

Keywords: common wheat, genome substitution amphidiploids, microsporogenesis, microgametogenesis, macrosporogenesis.

Матеріал надійшов 13.04.2020