

## СПОРОГЕНЕЗ У ГІБРИДІВ ПЕРШОГО ПОКОЛІННЯ ВІД СХРЕЩУВАННЯ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ І ЛІНІЙ З ІНТРОГРЕСІЯМИ ВІД *Amblyopyrum muticum*

Гібридизація пшеничних ліній з фрагментами чужинного генетичного матеріалу (інтрогресивних) з сортами пшениці м'якої є ефективним засобом перенесення чужинних генів до геному сучасних сортів пшениці. Успіх такого перенесення залежить від перебігу процесів споро- та гаметогенезу гібридів  $F_1$ , тому цитологічна оцінка цих процесів є обов'язковою для розуміння перспективності роботи з конкретними інтрогресивними лініями. Стадії мейозу та мікрогаметогенез вивчали на цитологічних препаратах, виготовлених з МКП та МКМ реципрокних гібридів  $F_1$  від схрещування сортів пшениці м'якої та пшеничних ліній інтрогресивного походження, геном яких містить чужинний генетичний матеріал від дикорослого родича пшениці *Amblyopyrum muticum*. Встановлено, що спорогенез у гібридів відбувається з порушеннями як у чоловічій, так і в жіночій статевих сферах. Замість 21 закритого бівалента хромосомні конфігурації за максимальної асоціації хромосом у М1 МКП можуть містити до 8 відкритих бівалентів, до 12 унівалентів, включати три- та квадριваленти. У А1 спостерігаються хроматиди, що відстають, у тетрадах рееструється до 5 мікроядер на клітину. Кількісні характеристики асоціації хромосом у М1 МКП не відрізняються для гібридів від реципрокних схрещувань, хоча гібриди від схрещувань, де інтрогресивні лінії є материнським компонентом схрещування, мають меншу частку клітин, позбавлених мікроядер, у порівнянні з альтернативним напрямком схрещування.

**Ключові слова:** пшениця м'яка, інтрогресивні лінії *Triticum aestivum* / *Amblyopyrum muticum*, гібриди  $F_1$  від реципрокних схрещувань, мікроспорогенез, мікрогаметогенез, макроспорогенез.

Хромосомну інженерію використовують для зміни плоідності геному, структури хромосом і/або кількості хромосом рослин, збільшення видового генетичного різноманіття, привнесення генів інтересу від дикорослих видів, а також для видалення небажаних генів. Транслокацію хромосом вважають найефективнішим підходом для інтрогресії чужинного гена (цит. за: [1]). Транслокації зазвичай виникають через мейотичну рекомбінацію між хромосомами пшениці та гомеологічними хромосомами близькородичних дикорослих видів. У міжродових гібридів гомологи відсутні, а кон'югація між гомеологічними хромосомами дуже низька. Ген *Ph1*, розташований на довгому плечі хромосоми 5В [2], пригнічує гомеологічну кон'югацію, не впливаючи на кон'югацію гомологів. Кон'югації хромосом у профазі мейозу є критичною подією для утворення транслокацій, тому її оцінка важлива для прогнозу успішності перенесення чужинних генів до геному пшениці м'якої [3].

Інтрогресія чужинного хроматину не завжди є успішною, оскільки можлива його елімінація через різну швидкість клітинного поділу у батьківських видів, які є донором та реципієнтом

хроматину, відсутність чи зміну прикріплення до мікротрубочок веретена поділу до хромосом у гібридній зиготі. В ембріогенезі гібридів ячменю *Hordeum vulgare* × *Hordeum bulbosum* елімінацію пов'язують з утворенням мікроядер, аномально конденсованим хроматином та наявністю фрагментів хромосом. Мікроядра утворюються з розірваних мостів між анафазними хромосомами, коли ацентричні фрагменти в анафазі відстають і не відходять до полюсів клітини. Тобто усунення привнесеного хроматину не завжди відбувається через порушення зв'язування кінетохорів з мікротрубочками, а й через нездатність сестринських хроматид мігрувати в анафазі [4]. За даними Саней і співавторів [5], у зародках гібридних рослин *Hordeum vulgare* × *Hordeum bulbosum* елімінацію пояснюють інактивацією центромер одного з батьківських геномів. У нестабільних гібридів до дисфункції центромер призводить втрата центромерного білка *CENH3*, а не однобатьківське замовчування гена *CENH3* [5], хоча у стабільних гібридів зв'язування *CENH3* з ДНК центромерних послідовностей відбувається, незважаючи на відмінності в послідовностях, з якими білок взаємодіє. Якщо існує

декілька варіантів центромерного гістону НЗ у батьківських геномів, які утворили гібрид, то не завжди з центромерними послідовностями взаємодіють усі варіанти гістону CENH3 [5].

За сучасними уявленнями, поведінка хромосом у мейозі гібридних рослин є одним з аспектів стабільності/нестабільності гібридного геному, від чого залежить його подальша доля щодо продукування фертильних нащадків [6–8]. У контексті віддаленої гібридизації питання стабільності геному набуває особливо важливого значення, тому що втрата хроматину через особливості поведінки хромосом у мейозі часто стосується саме інтрогресивного генетичного матеріалу, заради залучення якого в генетичний фонд пшениці м'якої створювався гібрид [9–11]. Тому вивчення мейотичного поділу на різних етапах спорогенезу є обов'язковою умовою правильного прогнозування ефективності використання віддаленого гібрида пшениці з дикорослим родичем для інтрогресії чужинних генів, які поліпшуватимуть фенотип пшеничних рослин у потрібному напрямку.

У статті наведено результати вивчення чоловічого та жіночого спорогенезу у гібридів  $F_1$  від схрещування інтрогресивних ліній *Triticum aestivum* / *Amblyopyrum muticum* з сортами пшениці м'якої для з'ясування питання, чи впливає напрям схрещування на перебіг мейозу у гібридів першого покоління.

### Матеріали та методи

Як рослинний матеріал використовували гібриди першого покоління, отримані від схрещування сортів пшениці м'якої (AABBDD,  $2n = 42$ ) селекції СГ НААН (Лелека, Селянка, Ніконія, Тіра, Панна, Одеська 267, Вдала) та інтрогресивних ліній, які є похідними амфідиплоїда Авротіка (AABVTT,  $2n = 42$ ), що має TT геном від дикорослого диплоїдного виду *Amblyopyrum muticum* (Boiss.) Eig [10]. Гібриди отримано з використанням інтрогресивних ліній як жіночого (7 гібридів) або чоловічого компонента схрещування (24 гібриди), тобто у реципроках. Рослини вирощували в польових умовах у рядках завдовжки 1 м, кількість рослин у рядку не перевищує 12. Добір колосів на стадії спорогенезу здійснювали, коли колос у трубці був між другим та третім листками. Фіксацію проводили в розчині Карнуа. За декілька годин до мікроскопічного дослідження колосся переносили у 2 % розчин ацетокарміну, після чого виготовляли чавлені препарати та розглядали під мікроскопом Leica DM LB2, використовуючи об'єктиви  $\times 40$  та  $\times 60$ .

Для вивчення цитологічної стабільності гібридів на стадії метафази першого поділу (M1) материнських клітин пилку (МКП) підраховували кількість бівалентів, тривалентів, квадринавалентів та унівалентів, на стадії анафази 1 (A1) – кількість хромосом, які відстали, на стадії тетради визначали кількість мікроядер у кожній з клітин тетради. Реєстрували наявність мостів між анафазними хромосомами, рівномірність розходження хроматид по полюсах під час анафази.

Розподіли варіантів показників перевіряли на відповідність нормальному розподілу за допомогою критерію Шапіро – Уїлка [12]. Для зіставлення двох емпіричних розподілів щодо їхньої одноманітності використовували критерії рангів R Вілкоксона – Уайта [12]. За методом Сфікаса [13] визначали ймовірність кон'югації у профазі мейозу.

### Результати та обговорення

Досліджувані рослини мали різні стадії мейотичного поділу – від профазі I до анафази II, часто спостерігали стадію тетради і зрілий пилкок. На стадії профазі порушень проходження мейозу не виявлено. Метафаза I є стадією, найбільш складною для характеристики і водночас найбільш інформативною. При виготовленні препарату потрібно отримати такий розкид спарених хромосом у метафазній пластинці, щоб однозначно можна було порахувати кількість різних хромосомних асоціацій, на можливість чого впливає накладання хромосом одна на одну. Водночас лише на цій стадії можна оцінити рівень гомологічності однойменних хромосом, що формують бівалент. Потенційно гомологічні хромосоми можуть дещо відрізнитися в тих компонентах схрещування, які утворили гібрид. Зокрема, одним із партнерів по схрещуванню є інтрогресивна лінія, яка за замовчуванням розглядається як така, що несе в геномі чужинний генетичний матеріал. Саме картина кон'югації хромосом у пахітені профазі I мейозу, результат якої візуалізується на метафазній пластинці M1 як наявність закритих/відкритих бівалентів, унівалентів та мультивалентів, дає інформацію про інтрогресивне навантаження лінії, яка взяла участь у створенні гібрида.

Під час M1 ідентифікували та підраховували кількість закритих бівалентів, відкритих бівалентів та мультивалентів, які були представлені переважно квадринавалентами та спостерігались рідко (рис. 1 a). Для характеристики проходження мейозу використовували лише клітини, для яких можна чітко порахувати хромосомні

асоціації під час МІ. У таблиці 1 наведено результати для 22 гібридів із 31, взятих на вивчення. Для решти стадії МІ отримано не було. З цих гібридів шість представляли схрещування в прямій комбінації, коли інтрогресивна лінія була материнською рослиною, 16 гібридів – схрещування у зворотній комбінації, коли інтрогресивні лінії слугували батьківськими рослинами.

Оцінку фактичної ймовірності кон'югації хромосом у гібридів проводили за методом Сфікаса [13]. При цьому розраховується ймовірність того, що *i*-та хромосома одного виду, який брав участь у створенні гібрида, кон'югуватиме з гомеологічною хромосомою іншого виду. Припускається, що для кожної хромосоми виду існує тільки одна можливість кон'югувати. Беручи

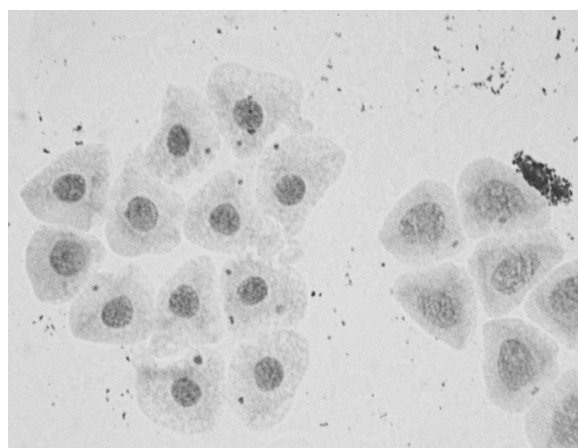
Таблиця 1. Модальні класи хромосомних конфігурацій за максимальної асоціації хромосом у гібридів F<sub>1</sub>

№ з/п	Гібрид	Кількість МКП	Хромосомні асоціації <sup>1)</sup>	Кількість хромосом
1	f18 804/1 x Лелека	13	15 <sup>III3</sup> +4 <sup>IIIB</sup> +4 <sup>I</sup>	42
2	f18 804/4 x Панна	19	17 <sup>III3</sup> +7 <sup>I</sup>	41
3	f18 806/4 x Лелека	43	14 <sup>III3</sup> +5 <sup>IIIB</sup> +4 <sup>I</sup>	42
4	f18 810/1 x Тіра	25	11 <sup>III3</sup> +7 <sup>IIIB</sup> +6 <sup>I</sup> 7 <sup>III3</sup> +8 <sup>IIIB</sup> +10 <sup>I</sup> +1 <sup>IV</sup>	42 44
5	f18 831/2 x Лелека	12	13 <sup>III3</sup> +4 <sup>IIIB</sup> +8 <sup>I</sup>	42
6	f18 806/1 x Панна	64	9 <sup>III3</sup> +6 <sup>IIIB</sup> +12 <sup>I</sup>	42
7	Лелека x f18 1111	6	15 <sup>III3</sup> +2 <sup>IIIB</sup> +4 <sup>I</sup> +1 <sup>IV</sup>	42
8	Лелека x f18 806	19	11 <sup>III3</sup> +7 <sup>IIIB</sup> +5 <sup>I</sup>	41
9	Лелека x f18 914	25	12 <sup>III3</sup> +5 <sup>IIIB</sup> +3 <sup>I</sup>	37
10	Селянка x f18 804	46	16 <sup>III3</sup> +2 <sup>IIIB</sup> +6 <sup>I</sup>	42
11	Селянка x f18 738	14	16 <sup>III3</sup> +4 <sup>IIIB</sup> +2 <sup>I</sup>	42
12	Селянка x f18 806	32	12 <sup>III3</sup> +3 <sup>IIIB</sup> +12 <sup>I</sup>	42
13	Ніконія x f18 747	12	14 <sup>III3</sup> +3 <sup>IIIB</sup> +8 <sup>I</sup> 10 <sup>III3</sup> +5 <sup>IIIB</sup> +7 <sup>I</sup> +1 <sup>IV</sup>	42 41
14	Вдала x f18 1066	4	16 <sup>III3</sup> +3 <sup>IIIB</sup> +4 <sup>I</sup> 15 <sup>III3</sup> +2 <sup>IIIB</sup> +8 <sup>I</sup>	42 42
15	Вдала x f18 1078	4	16 <sup>III3</sup> +4 <sup>IIIB</sup> +2 <sup>I</sup>	42
16	Панна x f18 804	19	15 <sup>III3</sup> +4 <sup>IIIB</sup> +4 <sup>I</sup>	42
17	Панна x f18 747	8	12 <sup>III3</sup> +6 <sup>IIIB</sup> +5 <sup>I</sup>	41
18	Панна x f18 806	16	14 <sup>III3</sup> +3 <sup>IIIB</sup> +8 <sup>I</sup>	42
19	Панна x f18 872	5	14 <sup>III3</sup> +5 <sup>IIIB</sup> +4 <sup>I</sup>	42
20	Панна x f18 999	23	12 <sup>III3</sup> +6 <sup>IIIB</sup> +2 <sup>I</sup> +1 <sup>IV</sup>	42
21	Одеська 267 x f18 856	26	14 <sup>III3</sup> +6 <sup>IIIB</sup> +2 <sup>I</sup> 17 <sup>III3</sup> +1 <sup>IIIB</sup> +2 <sup>I</sup> +1 <sup>IV</sup>	42 42
22	Одеська 267 x f18 876	3	16 <sup>III3</sup> +4 <sup>IIIB</sup> +2 <sup>I</sup>	42

<sup>1)</sup> III<sup>3</sup> – закритий бівалент; II<sup>B</sup> – відкритий бівалент; <sup>I</sup> – унівалент; <sup>IV</sup> – квадριвалент



a



b

Рис. 1. Хромосомні асоціації на стадії МІ (a) та мікроядра на стадії тетради (b) у гібрида f18 810/1 x Тіра

до розгляду весь масив даних, а не лише кількість бівалентів за максимальної асоціації хромосом, наведену в таблиці 1, спостерігали від 9 до 21 бівалента (разом закритих та відкритих). Розраховували ймовірність того, що  $i$ -та хромосома одного з батьків кон'югуватиме з гомеологічною хромосомою у гібридів ( $p_i$ ), та ймовірність того, що кон'югація не відбуватиметься ( $q_i$ ). За отриманими даними,  $\sum p_i < \sum q_i$ , що свідчить про невисоку ймовірність кон'югації між хромосомами батьківських геномів у гібридах. Якби всі хромосоми одного з батьків могли кон'югувати з гомеологічними хромосомами іншого з батьків, то тоді б частота кон'югації для всіх хромосом була б однаковою. Ймовірність успіху  $\hat{p}$  знайти хромосому, яка кон'югує з гомеологічною, та кількість випробувань  $\hat{n}$ , для якої встановлюється  $\hat{p}$ , розраховували за формулами:

$$\hat{p} = \frac{\mu - v}{\mu}, \quad \hat{n} = \frac{\mu^2}{\mu - v},$$

де  $\mu$  – середнє значення,  $v$  – варіанса для частоти кон'югації хромосом. Частота кон'югації хромосом батьківських геномів  $p$  у гібридів визначається як кількість бівалентів  $m$ , яка реєструється на препаратах, поділена на кількість потенційних бівалентів  $n$ , які можуть утворитися, виходячи з кількості хромосом у пшениці 42:

$$p = \frac{m}{n}.$$

У досліджуваному випадку ймовірність спостерігати  $i$ -ту хромосому, яка кон'югуватиме з гомеологічною, становить 0,22, якщо провести 75,22 випробувань (табл. 2), тобто частота кон'югації має бути оцінена як низька.

З іншого боку, клітинні поділи при спорогенезі гібридів  $F_1$ , отриманих із залученням інтрогресивних ліній, мають бути певною мірою урегульованими, адже альтернативою є суттєві

порушення перебігу мейозу та стерильність гібридів. Рівень фертильності гібридів  $F_1$  визначає кількість нащадків, що ними утворюються, і певним чином впливає на перспективність роботи з віддаленими гібридами. Але є інший аспект успіху інтрогресивної гібридизації: збереження чужинних фрагментів хромосом у складі гібридного геному. Досі залишається відкритим питання про те, чи є процес втрати чужинного генетичного матеріалу в процесі поділів клітин з гібридним геномом специфічним щодо цього матеріалу, чи втрата хромосом є процесом випадковим і визначається лише особливостями перебігу споро- та гаметогенезу [14–16]. Насамперед ми вивчили питання, чи залежить картина асоціації хромосом, а отже їхньої подальшої передачі продуктам мейозу, від типу (напрямку) схрещування. Напрямок залежить від того, яким компонентом схрещування є інтрогресивна лінія (потенційний промотор порушень у гібриді  $F_1$ ) – материнським (тип схрещування прямий) чи батьківським (тип схрещування зворотний). Для вирішення цього питання порівняли кількість бівалентів загалом (1), закритих бівалентів (2), відкритих бівалентів (3) та унівалентів (4) у гібридів  $F_1$  від обох типів схрещування і встановили, що різниці між показниками немає в жодному з чотирьох порівнянь (табл. 3). Отже, напрямок схрещування, в якому бере участь інтрогресивна лінія, не впливає на можливість утворення бівалентів, а тому може бути будь-яким. Під час вибору напрямку схрещування слід лише пам'ятати, що від нього залежить цитоплазма, яку матиме гібрид. Гібриди від прямих схрещувань матимуть цитоплазму сорту Аврора, який був реципієнтом чужинного генетичного матеріалу при створенні інтрогресивних ліній. При зворотному типі схрещування цитоплазма буде отримана від того сорту

Таблиця 2. Розподіл бівалентів у МКП гібридів  $F_1$

	Кількість бівалентів											
	9	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Кількість МКП з такою кількістю бівалентів	1	1	1	3	6	15	7	16	25	14	8	1

$$\mu = 16,94, v = 13,12; \hat{n} = 75,22; \hat{p} = 0,22$$

Таблиця 3. Результат порівняння гібридів  $F_1$  прямого ( $n_1=6$ ) та зворотного ( $n_2=16$ ) типів схрещування за показниками асоціації хромосом у М1 МКП

Показники, що порівнюються	Емпіричне значення $R$	Табличне значення $R$ для $p = 0,05$	Висновок <sup>1)</sup>
(1) Всі біваленти	58	42,4	$p > 0,05$
(2) Закриті біваленти	59,5	42,4	$p > 0,05$
(3) Відкриті біваленти	77	42,4	$p > 0,05$
(4) Уніваленти	83	42,4	$p > 0,05$

<sup>1)</sup> Використано критерій рангів  $R$  Вілкоксона – Уайта, для якого емпіричне значення не має перевищувати табличне за наявності розбіжності між показниками, що порівнюються [12].

пшениці (в нашому випадку це сорти, перелічені в розділі «Матеріали та методи»), на генетичне тло якого планується перенесення чужинного генетичного матеріалу.

Отримання та аналіз даних з оцінки кон'югації хромосом є дуже важливими під час роботи з інтрогресивними схрещуваннями. Ернст Сирс [9], піонер геномної інженерії, підкреслював, що знання особливостей поведінки хромосом під час мейозу необхідні для прогнозування успіху отримання рослин, які мають інтрогресії чужинного хроматину. Передовсім мають утворюватися уніваленти (хромосоми, які не кон'югують), оскільки уніваленти можуть неправильно сегрегувати до полюсів, утворюватися з фрагментів хромосом [9]. Неправильний поділ унівалентної хромосоми в центральній області в анафазі I (AI) (misdivision) і утворення робрертсонівських транслокацій вважається найбільш ефективним способом потрапляння чужинного хромосомного плеча в мікроспору, порівняно з поділом хромосоми на хроматиди [9,17]. Кожен унівалент може реалізувати лише одну з двох можливостей: відійти до полюса в анафазі і увійти таким чином до складу дочірньої клітини та відстати від руху хромосом, які входили до складу бівалента, формуючи надалі мікроядро. Кількість мікроядер легко реєструється на стадії тетрад і є важливим показником спорогенезу (рис. 1 б).

Тетради було вивчено для 13 гібридів від прямих схрещувань та 25 гібридів від зворотних схрещувань. Кількість мікроядер, які реєструвалися окремо для кожної клітини тетради, варіювала від 0 до 5 для обох типів схрещування. Великий обсяг вивчених тетрад дав змогу розрахувати частки клітин з різною кількістю мікроядер та порівняти частки для гібридів двох типів схрещування (табл. 4).

Наведені в таблиці 4 результати показують, що для двох напрямків схрещування різниця

є статистично достовірною на рівні значущості 0,01 для кожної кількості мікроядер на клітину, крім кількості мікроядер 4. Кількість клітин без мікроядер у тетрадах більша для гібридів від зворотного типу схрещування, кількість клітин з мікроядрами завжди, за одним винятком, більша для прямого типу схрещування у порівнянні зі зворотним. Отже, незважаючи на відсутність різниці у формуванні бівалентів та появу унівалентів у M1 для гібридів двох типів схрещування, різниця між ними виникає на рівні формування мікроядер. Ця різниця вказує на те, що використання інтрогресивних ліній як материнських рослин призводить до зростання елімінації хромосом чи хромосомних фрагментів на стадії утворення тетрад через формування більшої кількості мікроядер у порівнянні з гібридами від зворотного типу схрещування.

Вивчення картини поведінки хромосом у анафазі мейозу також показує наявність порушень. У деяких випадках в анафазі хроматиди розподілялися рівномірно по полюсах, однак є хроматиди, що відстають, наприклад, для гібрида f18 804/4 x Панна (рис. 2 а). Для гібридів, де сорти Лелека, Селянка, Панна є батьківськими компонентами схрещування, на одному з полюсів реєстрували більшу кількість хроматид порівняно з іншим полюсом (рис. 2 б).

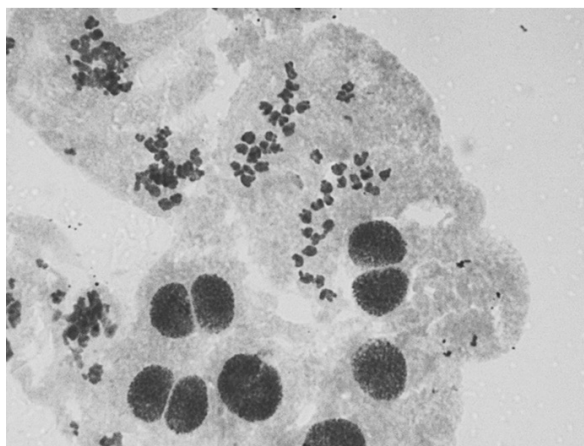
Суттєвим порушенням мейотичного поділу, наслідком якого буде втрата хромосом чи їхніх фрагментів, є поява деконденсованого хроматину на периферії ядра паралельно з метафазною пластинкою (рис. 3). Процес конденсації хроматину важливий для впізнання та кон'югації хромосом, якщо ж частина хроматину деконденсована, то, ймовірно, вона не бере участі в кон'югації. За літературними даними, затримує конденсацію хроматину локус *Ph1* [11,18].

Реєстрували порушення і під час мікрогаметогенезу, наприклад, формування 3–7 генеративних ядер замість двох (рис. 4 а). Утворення такої

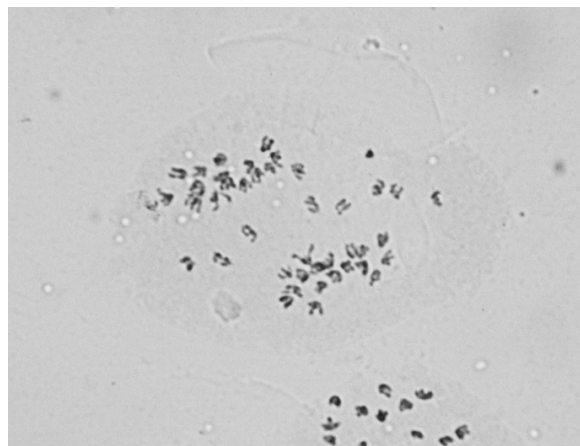
Таблиця 4. Порівняння часток клітин тетрад з різною кількістю мікроядер для F<sub>1</sub> від двох типів схрещування

Тип схрещування	Показники <sup>1)</sup>	Кількість мікроядер						Сума
		0	1	2	3	4	5	
Прямий	<i>n</i>	224	250	145	64	20	15	703
	<i>p</i>	0,32	0,35	0,21	0,09	0,03	0,02	–
	<i>s<sub>p</sub></i>	0,019	0,019	0,017	0,012	0,007	0,011	–
Зворотний	<i>n</i>	950	730	404	136	40	16	2261
	<i>p</i>	0,42	0,32	0,18	0,06	0,02	0,01	–
	<i>s<sub>p</sub></i>	0,010	0,010	0,008	0,005	0,003	0,002	–
<i>z</i>		-3,15	3,23	2,67	3,13	1,84	6,7	–

<sup>1)</sup> *n* – кількість клітин з даною кількістю мікроядер; *p* – частка клітин з даною кількістю мікроядер; *s<sub>p</sub>* – біноміальна похибка частки; *z* – показник критерію для порівняння часток; табличні значення критерію  $z_{0,05}=1,96$ ,  $z_{0,01}=2,58$



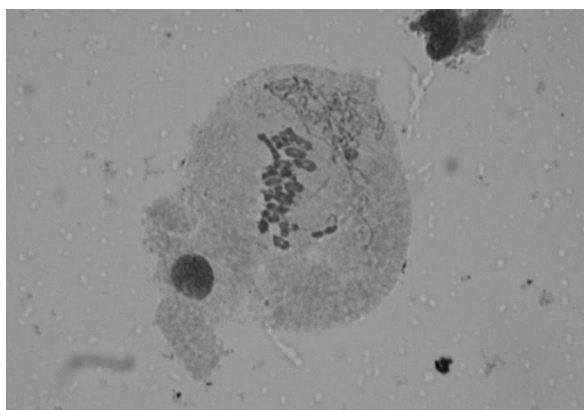
a



b

**Рис. 2.** Анафаза I у гібридів  $F_1$ :  
a – f18 804/4 x Панна; b – Панна x f18 806 (16 + 8 + 18 хромосом)

кількості генеративних ядер може відбуватися через порушення формування вигнутого фрагмобласту або неправильне закладання асиметричного веретена поділу [19,20]. Спостерігали пилки з двома великими ядрами однакового розміру замість одного великого вегетативного та двох

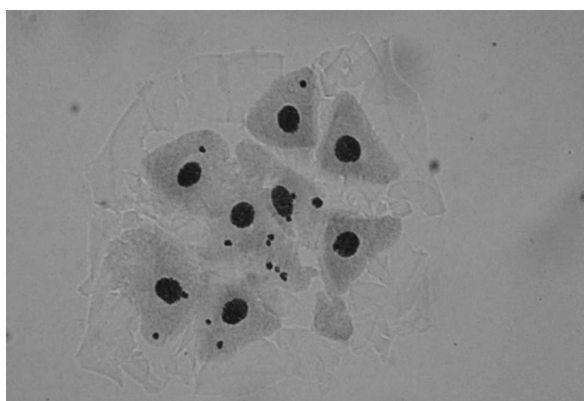


**Рис. 3.** Деконденсований хроматин у M1 МКП гібрида  $F_1$  між сортом Лелека та лінією з інтрогресіями f18 876

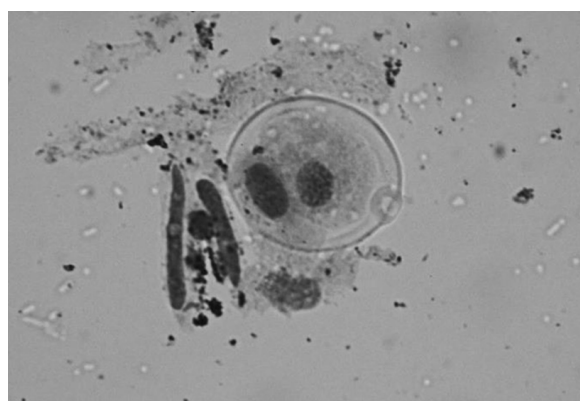
маленьких генеративних (рис. 4 b). Такі клітини можуть не завершити свій розвиток, і це призведе до зниження фертильності гібридів [15].

У жіночому спорогенезі також реєстрували порушення, хоча він здається більш стабільним, ніж чоловічий. На стадії метафази у гібриду Ніконія x f18 747 були уніваленти та відкриті біваленти (рис. 5 a). Як і в мікроспорогенезі, спостерігали нерівномірне розходження хромосом по полюсах, коли на одному з полюсів було на 2 хромосоми більше, ніж на протилежному (рис. 5 b). На стадії телофази спостерігали конденсовані хромосоми. У тетрадах гібрида Селянка x f18 821 та f18 804 дві клітини мали по одному мікроядру, хоча на стадії анафази порушень не зареєстровано.

Стверджувати, що порушення під час мейозу в жіночому гаметофіті є значними і призводять до втрати чужинного генетичного матеріалу, складно, оскільки отримано невелику кількість результатів через особливість жіночого

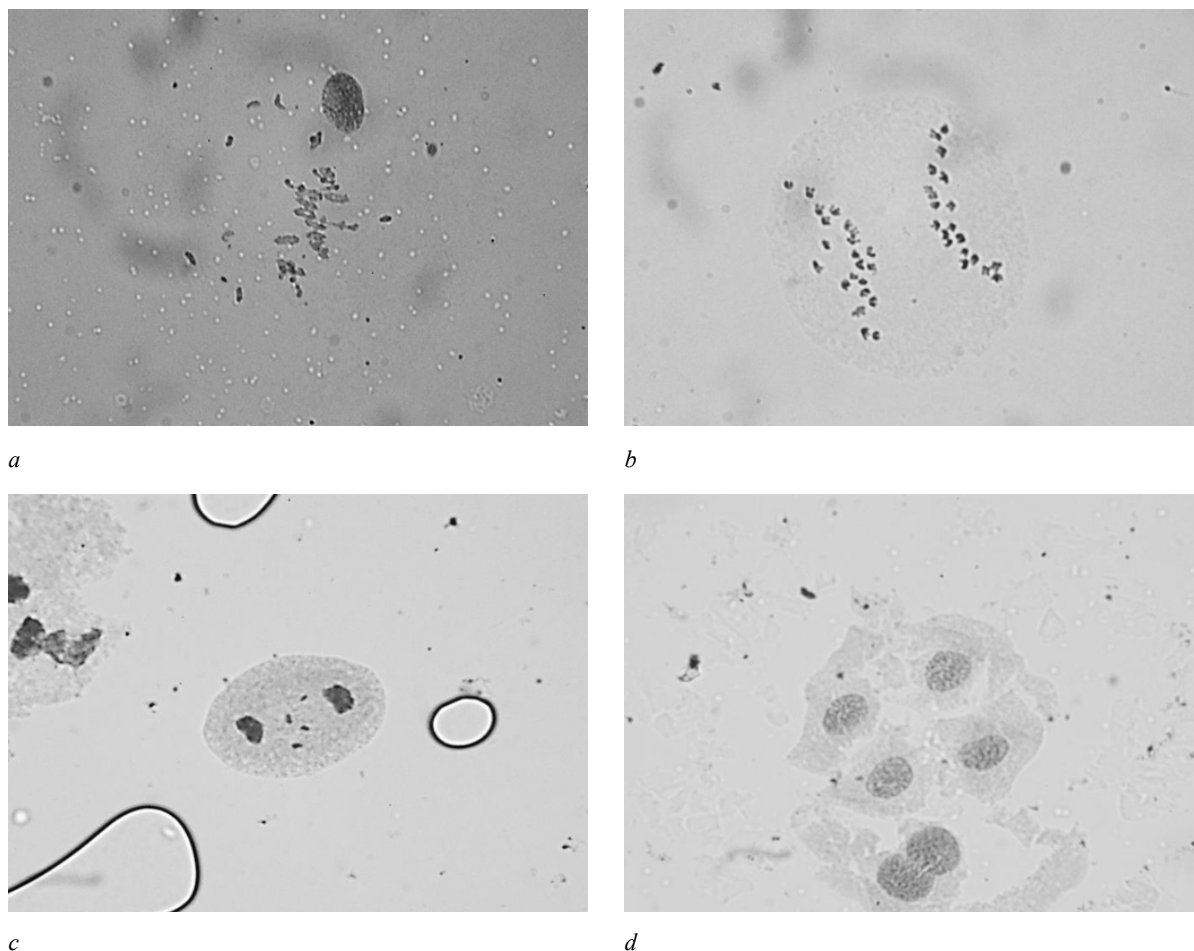


a



b

**Рис. 4.** Мікрогаметогенез у гібриді  $F_1$  між сортом Вдала та лінією з інтрогресіями f18 1078



**Рис. 5.** Макроспорогенез гібридів  $F_1$  Ніконія x f18 747 (a), між сортом Селянка та лінією з інтрогресіями f18 738 (b), Панна x f18 804 (c) та гібрида між сортом Селянка та лінією з інтрогресіями f18 821 (d)

спорогенезу – наявність одної материнської клітини мегаспори на квітку та збереження лише одного продукту мейозу з чотирьох для проходження подальшого гаметогенезу.

### Висновки

Спорогенез у гібридів  $F_1$  від схрещування сортів пшениці м'якої та пшеничних ліній інтрогресивного походження, геном яких містить чужинний генетичний матеріал від дикорослого родича пшениці *Amblyopyrum muticum*, відбувається з порушеннями як у чоловічій, так і в жіночій статевих сферах. Відхилення від нормального перебігу мейозу полягають в утворенні відкритих бівалентів, мультивалентів та наявності унівалентних хромосом у  $M_1$ ,

наявності хромосом, що відстають, в анафазі I та мікроядер у клітинах тетрад при мікроспорогенезі. Кількісні характеристики асоціації хромосом у  $M_1$  МКП не відрізняються для гібридів, отриманих з використанням інтрогресивних ліній як жіночого (прямий тип схрещування) чи чоловічого (зворотний тип схрещування) компонентів схрещування. Тому щодо успіху в утворенні бівалентів напрям схрещування може бути будь-яким. Різниця для реципрокних схрещувань реєструється лише для кількості клітин у тетрадах, які містять різну кількість мікроядер. Гібриди  $F_1$  від прямих схрещувань мають меншу частку клітин, позбавлених мікроядер, що можна розглядати на користь меншої втрати генетичного матеріалу при зворотних схрещуваннях у порівнянні з прямими.

### References

- Li H, Zheng Q, Pretorius ZA, Li B, Tang D, Li Z. Establishment and characterization of new wheat-*Thinopyrum ponticum* addition and translocation lines with resistance to Ug99 races. *J Genet Genomics*. 2016 Sep 20;43(9):573–5. DOI: 10.1016/j.jgg.2016.07.004(2016)
- Riley R, Chapman V. Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. *Nature*. 1985;182:713–5.
- He F, Xing P, Bao Y, Ren M, Liu S, Wang Y, Wang H. Chromosome pairing in hybrid progeny between *Triticum aestivum* and *Elytrigia elongata*. *Front. Plant Sci*. 2017. DOI: 10.3389/fpls.2017.02161

4. Polgári D, Mihók E, Sági L. Composition and random elimination of paternal chromosomes in a large population of wheat × barley (*Triticum aestivum* L. × *Hordeum vulgare* L.) hybrids. *Plant Cell Reports*. 2019;38:767–75. DOI: 10.1007/s00299-019-02405-1
5. Sanei M, Pickering R, Kumke K, Nasuda S, Houben A. Loss of centromeric histone H3 (CENH3) from centromeres precedes uniparental chromosome elimination in interspecific barley hybrids. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108(33):E498–E505. DOI: 10.1073/pnas.1103190108
6. Akera T, Trimm E, Lampson MA. Molecular strategies of meiotic cheating by selfish centromeres. *Cell*. 2019;178(5):1132–44. DOI: 10.1016/j.cell.2019.07.001
7. McLaughlin RN, Malik HS. Genetic conflicts: the usual suspects and beyond. *Journal of Experimental Biology*. 2017;220:6–17.
8. Xu X, Li L, Dong X, Jin W, Melchinger AE, Chen S. Gametophytic and zygotic selection leads to segregation distortion through *in vivo* induction of a maternal haploid in maize. *Journal of Experimental Botany*. 2013;64(4):1083–96.
9. Sears ER. Misdivision of univalents in common wheat. *Chromosoma*. 1952;4(6):535–50.
10. Zhirov EG. Wheat genomes: investigation and rearrangement [dissertation]. Krasnodar, Russia; Lukianenko Krasnodar Research Institute for Agriculture; 1989.
11. Naranjo T. Variable Patterning of chromatin remodeling, telomere positioning, synapsis, and chiasma formation of individual rye chromosomes in meiosis of wheat-rye additions. *Front. Plant Sci*. 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.00880
12. Glantz SA. *Primer of Biostatistics*. 7th ed. The McGraw-Hill Companies; 2012.
13. Sficas AG. Statistical analysis of chromosome pairing in interspecific hybrids. I. The probability distributions. *Genetics*. 1962;47(9):1163–70.
14. Rahmatov M, Rouse MN, Steffenson B, Andersson S, Wanyera R, Pretorius ZA, et al. Sources of stem rust resistance in wheat-alien introgression lines. *Plant Dis*. 2016;100(6):1101–9.
15. Zhang P, Dundas IS, McIntosh RA, Xu SS, Park RF, Gill BS, et al. Wheat–Aegilops Introgressions. In: Molnár-Láng M, Ceoloni C, Doležel J, editors. *Alien introgression in wheat. Cytogenetics, molecular biology, and genomics*. New York (NY): Springer; 2015, p. 221–43.
16. Cifuentes M, Grandont L, Moore G, Chèvre AM, Jenczewski E. Genetic regulation of meiosis in polyploid species: new insights into an old question. *New Phytologist*. 2010;186:29–36.
17. Friebe B, Zhang P, Linc G, Gill BS. Robertsonian translocations in wheat arise by centric misdivision of univalents at anaphase I and rejoining of broken centromeres during interkinesis of meiosis II. *Cytogen Genome Res*. 2005;109:293–7.
18. Rey M-D, Martin AC, Higgins J, Swarbreck D, Uauy C, Shaw P, et al. Exploiting the *ZIP4* homologue within the wheat *Ph1* locus has identified two lines exhibiting homoeologous crossover in wheat-wild relative hybrids. *Mol Breed*. 2017;37:95. DOI: 10.1007/s11032-017-0700-2
19. Tanaka I. Differentiation of generative and vegetative cells in angiosperm pollen. *Sex Plant Reprod*. 1997;10:1–7.
20. 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.

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

## SPOROGENESIS IN F<sub>1</sub> HYBRIDS FROM THE CROSSES BETWEEN COMMON WHEAT AND LINES WITH INTROGRESSIONS FROM *Amblyopyrum muticum*

Hybridization of wheat lines comprising fragments of alien genetic material (introgression) with common wheat cultivars is effective and widespread means of transferring alien genes into genomes of modern wheat cultivars, and remains the main method of expanding genetic pool of common wheat using genes of wild relatives. Success of such transfer depends on the processes of sporo- and gametogenesis in F<sub>1</sub> hybrids, therefore cytological assessment of this processes is obligatory. Stages of meiosis and microgametogenesis were studied on cytological preparations of spikes of F<sub>1</sub> hybrids from reciprocal crosses of common wheat cultivars and wheat lines of introgression origin with alien genetic material from wheat wild relative *Amblyopyrum muticum*. Sporogenesis in F<sub>1</sub> hybrids occurs with disorders in both male and female sexual areas. Instead of 21 closed bivalents chromosome configurations in maximal association of chromosomes in M1 PMC could contain up to 8 open bivalents, up to 12 univalents, including three- and quadrivalents. In A1 lagging chromatids were observed, and up to 5 micronuclei per cell were registered in tetrads. Quantitative characteristics of chromosome associations in M1 PMC did not differ for hybrids obtained using introgression lines as female (direct crossing) and male (reverse crossing) cross components. The difference between reciprocal crosses was detected only for the quantity of cells in tetrads with different quantity of micronuclei. F<sub>1</sub> hybrids from direct crosses had smaller portion of cells without micronuclei, and more cells with 1-3 micronuclei compared to hybrids of reverse crosses.

**Keywords:** common wheat, introgression lines *Triticum aestivum* / *Amblyopyrum muticum*, F<sub>1</sub> hybrids from reciprocal crosses, microsporogenesis, microgametogenesis, megasporogenesis.

Матеріал надійшов 15.04.2021

