

© О. А. Орловская<sup>1</sup>,  
И. Н. Леонова<sup>2</sup>, Е. А. Салина<sup>2</sup>,  
Л. В. Хотылева<sup>1</sup>

## ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ ХРОМОСОМ В МЕЙОЗЕ У ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИНТРОГРЕССИЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ТЕТРАПЛОИДНЫХ ВИДОВ РОДА *TRITICUM*

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии  
Национальной академии наук  
Беларуси, Минск;

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской  
академии наук, Новосибирск

**Изучение поведения хромосом в мейозе линий мягкой пшеницы *T. aestivum*, полученных с участием тетраплоидных видов, показало, что интрогрессия чужеродного генетического материала в геном пшеницы не оказала негативного влияния на его мейотическую стабильность. Количество клеток с нарушениями было невелико не только на стадии метафазы I, но и на заключительной стадии тетрад. Спектр изменчивости по уровню цитологической стабильности у изученных линий является следствием различий по числу и локализации фрагментов интрогрессии геномов тетраплоидных пшениц в гибридном геноме. Установлено влияние цитоплазмы на становление кариотипа у интрогрессивных линий пшеницы.**

✿ **Ключевые слова:** мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.); тетраплоидные виды пшеницы *T. durum*, *T. dicoccum*, и *T. dicoccoides*; интрогрессивные линии пшеницы; микроспорогенез; генотипирование.

### ВВЕДЕНИЕ

Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) является основной сельскохозяйственной культурой в странах СНГ. Растущий общемировой спрос на зерновые культуры диктует необходимость создания элитных сортов пшеницы, высоко адаптированных к ряду условий внешней среды без снижения такой важной агрономической характеристики, как качество зерна. Значительного усовершенствования пшеницы добиваются интрогрессией сегментов хромосом родственных видов злаковых с последующей передачей необходимых генов. Дикорастущие сороричи мягкой пшеницы *T. aestivum* L. регулярно вовлекаются в селекционный процесс для создания новых форм пшеницы с улучшенными свойствами, так как содержат генетические локусы, контролирующие устойчивость к биотическим и абиотическим факторам (Пшеницы мира, 1987; Тимонова с соавт., 2012; Najjar, Hodgkin, 2007). Методом отдаленной гибридизации нами получены гибриды от скрещивания сортов мягкой пшеницы с дикорастущими видами рода *Triticum* (Орловская с соавт., 2011). Образование рекомбинантного генома пшеницы путем гибридизации с дикорастущими и близкородственными видами сопровождается комплексом структурных и функциональных перестроек, большая часть которых приводит к формированию гибридов с нестабильным геномом и ослабленной фертильностью. Изучение фенотипа рекомбинантных форм растений, молекулярно-генетической организации их генома, а также прохождения процессов мейоза является ключевым моментом для понимания того, как происходит формирование признаков злаковых культур. Проведенное ранее изучение гибридных линий *T. aestivum*/*T. durum* и *T. aestivum*/*T. dicoccum* по геномному составу показало, что линии достаточно сильно отличаются по данным SSR-анализа и С-окрашивания от образцов мягкой пшеницы, использованных в скрещиваниях (Леонова с соавт., 2013). Вполне вероятно, что это связано с реорганизацией гибридных геномов, сопровождающей формирование стабильных форм в процессе гибридизации. Целью данного исследования было изучение особенностей поведения хромосом в мейозе 14 линий мягкой пшеницы, полученных от скрещивания сортов *T. aestivum* с *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*, и оценка влияния геномного состава данных линий на их цитогенетическую стабильность.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы сестринские линии поколения  $F_{6-7}$ , полученные от комбинаций скрещивания сортов мягкой пшеницы *T. aestivum* с образцами тетраплоидных видов *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*. Линии получены в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси и отобраны на основании изучения наследования морфологических признаков и продуктивности в поколениях  $F_1 - F_4$  (Корень с соавт., 2011; Орловская с соавт., 2011).

Изучение микроспорогенеза проводили на временных давленных препаратах. Колосья извлекали до выхода из листового влагалища, чтобы уловить все стадии мейоза, и фиксировали в этанол-уксусной смеси (3:1). Через сутки после фиксации материал переводили в 70%-й спирт, где

Поступила в редакцию 11.11.2014  
Принята к публикации 12.01.2015

он хранился до анализа при  $t = +2-4$  °С. В качестве красителя использовали 2%-й ацетоорсеин. Для каждой комбинации скрещивания и исходной формы изучали по 30 пластинок метафазы I и по 50 пластинок следующих стадий мейоза: анафазы I и II, метафазы II, тетрад. Исследование препаратов проводили на микроскопе Ампливал (Карл Цейс, Йена) с объективом Апохромат 100× апертура 1,32 МИ. Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel.

Выделение ДНК, микросателлитный анализ, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и электрофорез фрагментов ПЦР проводили согласно ранее описанной процедуре (Леонова с соавт., 2005). Для генотипирования было использовано 140 микросателлитных маркеров (WMC, GWM и GDM), специфичных для генома мягкой пшеницы (Ganal, Röder, 2007; Somers et al., 2004).

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ  
ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГИБРИДНЫХ  
ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ**

Проведенный анализ стадии метафазы I выявил высокий уровень бивалентного спаривания хромосом у всех гибридных линий (табл. 1). Количество хромосом, входящих в состав бивалентов, варьировало от 97,1 % у линии 206–2 комбинации Pitic S62 × *T. dicoccum* до 99,7 % у линии 190/6–1 *T. durum* × Chinese Spring. Количество материнских клеток пыльцы (МКП) со 100%-м бивалентным спариванием у исследуемых линий находилось

в пределах от 53,3 % (линия 190/6–1) до 93,3 % (линия 196–1) (данные в таблице не представлены). У всех проанализированных линий наблюдалось явное преобладание закрытых бивалентов над открытыми, что свидетельствует о высокой интенсивности процесса синапсиса гомологов (табл. 1). Наибольшим числом закрытых бивалентов характеризовалась линия 190/6–1, а наименьшим — линия 196–1.

Метафаза I мейоза в норме характеризуется строгой ориентацией центромерных районов объединенных в биваленты хромосом к полюсам веретена деления. Строго ориентированные и расположенные в экваториальной области микроспороцита биваленты составляют метафазную пластинку. Основным типом нарушений на этой стадии мейоза является наличие унивалентных хромосом. Среди МКП с унивалентами у подавляющего большинства гибридных линий пшеницы модальным классом являлось сочетание 20II + 2I. Максимальное число унивалентов, обнаруженное для исследованного материала, равно четырем, чаще всего такие клетки встречались у линий комбинации *T. durum* × Chinese Spring.

Если исходить из положения, что образующиеся в метафазе I униваленты являются основной причиной аномалий на последующих стадиях мейоза, то на стадии анафазы I у данных гибридных линий пшеницы следует ожидать незначительное количество нарушений. Одним из основных нарушений мейоза у исследованных линий в анафазе I являлось отставание одной или нескольких хромосом (преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии) от основных

Таблица 1

**Конъюгация хромосом в метафазе I гибридных линий мягкой пшеницы**

Гибридная комбинация	Линия	Биваленты, шт				Униваленты, шт.
		Закрытые	Открытые	Всего	Количество хромосом, входящих в биваленты	
Рассвет × <i>T. dicoccoides</i> к 5199	29	18,7 ± 0,3	1,9 ± 0,2	20,6 ± 0,1	98,3	0,7 ± 0,2
<i>T. dicoccoides</i> × Фестивальная	15–7	19,6 ± 0,2	1,2 ± 0,2	20,7 ± 0,1	98,7	0,5 ± 0,2
	16–5	19,0 ± 0,4	1,9 ± 0,4	20,9 ± 0,1	99,5	0,2 ± 0,2
Chinese Spring × <i>T. durum</i>	183/2–2	18,8 ± 0,3	1,9 ± 0,3	20,8 ± 0,1	99,0	0,4 ± 0,1
	184/1–6	18,9 ± 0,2	1,8 ± 0,2	20,8 ± 0,1	98,9	0,5 ± 0,2
<i>T. durum</i> × Chinese Spring	190/5–3	18,9 ± 0,2	1,9 ± 0,2	20,8 ± 0,1	98,9	0,5 ± 0,2
	190/6–1	19,9 ± 0,2	1,0 ± 0,2	20,9 ± 0,04	99,7	0,1 ± 0,1
	196–1	16,8 ± 0,3	3,6 ± 0,3	20,4 ± 0,1	97,3	1,1 ± 0,2
	200-3	19,3 ± 0,3	1,4 ± 0,2	20,7 ± 0,1	98,7	0,6 ± 0,2
<i>T. durum</i> × Белорусская 80	221–1	19,2 ± 0,3	1,6 ± 0,3	20,8 ± 0,1	98,9	0,5 ± 0,2
	226–7	18,1 ± 0,3	2,4 ± 0,3	20,5 ± 0,1	97,6	1,0 ± 0,2
Pitic S 62 × <i>T. dicoccum</i>	206–2	16,5 ± 0,3	3,9 ± 0,3	20,4 ± 0,1	97,1	1,1 ± 0,3
	208–3	18,6 ± 0,2	2,1 ± 0,2	20,7 ± 0,1	98,7	0,5 ± 0,2
	213–1	18,1 ± 0,3	2,6 ± 0,3	20,8 ± 0,1	98,9	0,5 ± 0,2

Таблица 2

## Характеристика стадий мейоза гибридных линий мягкой пшеницы

Гибридная комбинация	Линия	Количество МКП без нарушений, %			Мейотический индекс, %
		анафаза I	метафаза II	анафаза II	
Рассвет × <i>T. dicoccoides</i> к 5199	29	81,7	77,4	87,8	95,0
<i>T. dicoccoides</i> × Фестивальная	15–7	78,3	80,0	84,0	90,0
	16–5	80,0	72,0	91,6	91,0
Chinese Spring × <i>T. durum</i>	183/2–2	58,0	60,0	76,0	92,4
	184/1–6	70,0	67,2	69,1	87,5
<i>T. durum</i> × Chinese Spring	190/5–3	80,0	56,9	90,0	91,2
	190/6–1	76,0	68,8	84,0	93,3
	196–1	52,5	69,6	80,0	75,0
	200–3	74,0	62,5	78,3	88,7
<i>T. durum</i> × Белоруская 80	221–1	85,7	56,9	84,3	86,3
	226–7	70,6	55,6	77,3	98,7
Pitic S 62 × <i>T. dicoccum</i>	206–2	57,5	38,9	56,8	60,0
	208–3	64,0	67,6	70,0	95,0
	213–1	72,0	65,5	58,0	87,5

анафазных групп деления (табл. 2). Униваленты, разбросанные вокруг метафазной пластинки, в анафазе I оказываются в экваториальной области микроспорочита. Большинство отставших унивалентов не достигают полярных групп и остаются в цитоплазме, образуя на стадии телофазы микроядра в клетках диад. В МКП с нарушениями количество отставших хромосом варьировало от 1 до 5, причем максимальное количество унивалентов отмечено только у одной линии 196–1 комбинации *T. durum* × Chinese Spring. Кроме этого основного нарушения поведения хромосом на исследуемой стадии у всех линий отмечены МКП с хромосомными мостами, количество которых варьировало от 5,0 до 22,0 %. Количество МКП без нарушений на стадии анафазы I находилось в интервале от 52,5 % (линия 196–1) до 85,7 % (линия 221–1).

Если сравнить количество нарушений на стадии анафазы I с таковым на стадии метафазы II, то у гибридных линий пшеницы, как правило, наблюдалась тенденция к увеличению этого показателя. Основным нарушением на этой стадии мейоза, как и в метафазе I, являлось

наличие хромосом, не включенных в метафазные пластинки (рис. 1 А). У исследованных линий количество таких хромосом варьировало от 1 до 4. У десяти линий модальным классом являлись МКП с одной хромосомой, не включенной в метафазную пластинку, у четырех — с двумя. Для всех линий выявлены МКП с асинхронным делением, процент которых варьировал в широких пределах от 1,3 (линия 190/6–1) до 33,3 (линия 206–2). Количество МКП без нарушений на стадии метафазы II составило 55,6–80,0 % (табл. 2).

Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза (анафаза II) сопровождалось отставанием отдельных хромосом, нарушением синхронности (рис. 1 Б), образованием мостов (рис. 1 В). У восьми линий чаще всего встречались группы клеток с одной отставшей хромосомой, у четырех — с двумя, у линии 184/1–6 наблюдалось равное количество МКП с одной и двумя отставшими хромосомами. В целом число отставших хромосом в анафазе II осталось на уровне предыдущей стадии и варьировало от 1 до 4. Количество МКП с хромосомными мостами изменялось от 1,7 до 12,0 %, причем у четырех

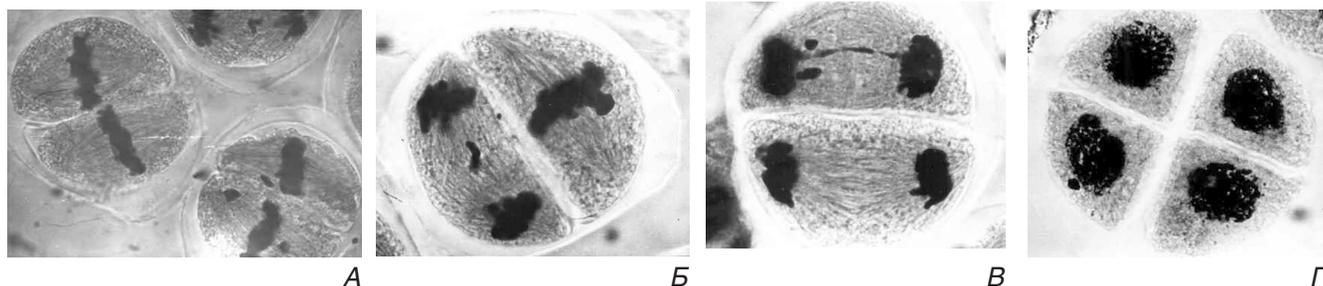


Рис. 1. Поведение хромосом в мейозе у линий мягкой пшеницы с интрогрессией генетического материала тетраплоидных видов рода *Triticum*: А — метафаза II (без нарушений и с отставшими хромосомами), Б — анафаза II с нарушением синхронности, В — анафаза II с мостом, Г — тетрада с микроядром

линий данный тип нарушений не был выявлен. Как следствие этого, частота встречаемости МКП с мостами во втором делении значительно меньше по сравнению с первым. У всего исследованного материала обнаружены клетки с асинхронным делением. Максимальное число таких МКП характерно для линии 184/1–6 (20,7%), минимальное — для линий 16–5 и 200–3 (1,7%). Количество МКП без нарушений на стадии анафазы II было достаточно велико и варьировало от 55,0 до 80,0% (табл. 2).

Стадия тетрад является заключительной, и количество МКП без нарушений на этой стадии (так называемый мейотический индекс) — важный показатель нормального течения всего мейоза. Максимальный мейотический индекс (95%) отмечен у линии 29 комбинации Рассвет × *T. dicoccoides* и линии 208–3 Pitic S62 × *T. dicoccum*, в то время как самый низкий показатель принадлежит линии 206–2 комбинации Pitic S62 × *T. dicoccum* (60,0%) (табл. 2). Основным нарушением на данной стадии мейоза является наличие в тетрадах микроядер, количество которых варьировало в исследованном материале от 1 до 7, однако чаще всего образовывались тетрады с одним и двумя микроядрами (рис. 1 Г). Три линии 15–7, 196–1, 206–2 имели МКП, содержащие от 5 до 7 микроядер, однако частота встречаемости таковых была очень низкой и находилась на уровне 1,2–1,3% от общего числа проанализированных клеток. Другим нарушением на стадии тетрад было наличие триад (1,2%), которые наблюдались только у одной линии 184/1–6. Следует отметить, что линии, имеющие высокий показатель хромосомных ассоциаций на ранних стадиях мейоза, как правило, имели более высокое значение мейотического индекса.

Изучение особенностей поведения хромосом в мейозе гибридных линий, полученных от скрещивания сортов *T. aestivum* с тетраплоидными видами пшениц, выявило небольшое количество аномальных клеток не только на стадии метафазы I, но и на заключительной стадии тетрад, которая является отражением нарушений в поведении хромосом на всех предшествующих стадиях. Таким образом, выявленная мейотическая стабильность у большинства гибридных линий пшеницы F<sub>6–7</sub> обеспечивает формирование у них полноценных гамет и тем самым создает предпосылки для сохранения чужеродных интрогрессий в ряду последующих поколений.

#### ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГЕНОМНОГО СОСТАВА ГИБРИДНЫХ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ НА ИХ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ

Анализ поведения хромосом в микроспорогенезе обнаружил различия по уровню цитологической стабильности как между различными комбинациями скрещивания, так и между линиями внутри одной и той же комбинации. Ранее генетическое разнообразие линии

*T. aestivum*/*T. durum* и *T. aestivum*/*T. dicoccum* было изучено цитологическими и молекулярными методами с использованием 42 SSR-маркеров, картированных в геноме мягкой пшеницы (Леорова и др., 2013). Микросателлитные маркеры, входящие в этот набор и выбранные на основании анализа 998 образцов из мировой коллекции сортов мягкой пшеницы, характеризуются наиболее высоким уровнем полиморфизма (Huang et al., 2002). Этот набор маркеров эффективно используют в настоящее время для оценки биоразнообразия современных и стародавних сортов пшеницы и ее сородичей в различных регионах мира, в работах по паспортизации сортов, оценки чистоты и идентичности сортового материала, а также для генотипирования внутривидовых и межвидовых гибридов мягкой пшеницы (Huang et al., 2003; Хлесткина и др., 2004; Landjeva et al., 2006; Абугалиева и др., 2012). Результаты комплексного молекулярно-цитологического анализа гибридных линий пшеницы позволили предположить, что спектр изменчивости по уровню цитологической стабильности между изученными линиями является следствием различий по числу и локализации фрагментов геномов тетраплоидных пшениц в гибридном геноме. Для оценки генетического разнообразия обычно используют 1–2 полиморфных маркера на хромосому, что часто бывает недостаточно, особенно для оценки длин фрагментов интрогрессии при изучении гибридов, полученных в результате межвидовых скрещиваний. В работах авторов, анализирующих случайным образом отобранные селекционные линии пшеницы, показано, что для достоверной оценки параметров генетического разнообразия и установления филогенетических связей в группах образцов необходимо не менее 70 маркеров (Zhang et al., 2002; You et al., 2004). Поэтому ряд исследователей для большего покрытия хромосом маркерами и более высокой информативности увеличивают число используемых маркеров (Peng et al., 2009; Akrifat, Unsuoglu, 2013). Для более точной оценки протяженности фрагментов чужеродного генома в исследуемых линиях число SSR-маркеров было увеличено до 140, так, что на каждую хромосому геномов А и В приходилось от 7 до 12 маркеров. Число и хромосомная локализация фрагментов тетраплоидных видов пшеницы представлены в таблице 3.

Сравнительный анализ гибридного материала показал, что линии, имеющие максимальное количество унивалентов, содержали в своем геноме наибольшее число чужеродных фрагментов. Так, у линии 196–1 *T. durum* × Chinese Spring, для которой выявлен самый низкий уровень бивалентного спаривания хромосом, отмечено наибольшее число интрогрессированных фрагментов среди исследованного материала — 12. У данной линии фрагменты чужеродного генома не обнаружены только в 4-й гомеологической группе хромосом (табл. 3).

Таблица 3

Число интрогрессированных фрагментов *T. durum*, *T. dicocum* и *T. dicoccoides* и их хромосомная локализация в геноме гибридных линий мягкой пшеницы

Комбинация скрещивания	Линия	Хромосома/геном													
		1		2		3		4		5		6		7	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Рассвет × <i>T. dicoccoides</i> к 5199	29	–	–	S	S	–	S	–	–	–	L	L	L	–	–
<i>T. dicoccoides</i> × Фестивальная	15–7	+	–	L	+	L	+	–	–	L	–	L	L	–	–
	16–5	L	S	–	+	L	–	L	–	–	L	L	–	L	–
Chinese Spring × <i>T. durum</i>	183/2–2	L	–	+	–	L	S	–	–	–	L	–	–	–	L
	184/1–6	L	–	+	–	L	S	–	–	–	L	–	–	–	L
<i>T. durum</i> × Chinese Spring	190/5–3	L	+	+	L	–	S	–	–	L	L	–	+	L	L
	190/6–1	+	–	+	L	S	S	–	–	L	L	–	+	L	L
	196–1	L	+	+	+	L	+	–	–	L	+	L	+	+	L
	200–3	L	+	S	–	L	L	–	–	L	L	–	–	–	L
<i>T. durum</i> × Белорусская 80	221–1	+	–	–	+	L	+	L	S	L	–	L	+	S	L
	226–7	S	S	L	–	+	+	L	–	–	L	+	+	–	–
Pitic S62 × <i>T. dicocum</i>	206–2	+	+	–	+	L	S	–	S	L	L	L	+	+	–
	208–3	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	L	L
	213–1	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	L	L

L/S — наличие фрагментов генома *T. durum*, *T. dicocum* или *T. dicoccoides* в длинном/коротком плечах хромосомы; «+» — наличие фрагментов в обоих плечах хромосом; «–» — отсутствие фрагментов в обоих плечах хромосом

Линии 208–3 и 213–1 комбинации Pitic S 62 × *T. dicocum* характеризовались высоким уровнем цитологической стабильности (табл. 2), что согласуется с результатами оценки их геномного состава с помощью SSR анализа. Данные линии имеют высокое сходство как по хромосомной локализации фрагментов чужеродного генома, так и по их протяженности (табл. 3, рис. 2). Кроме того, число интрогрессированных фрагментов *T. dicocum* в геноме данных линий было незначительно, что объясняет высокое значение их мейотического индекса (табл. 2). Проведенное ранее кариотипирование гибридов методом С-окрашивания хромосом подтверждает почти полное генетическое сходство линий 208–3 и 213–1 (Леонова с соавт., 2013). В отличие от линий 208–3 и 213–1, линия 206–2 комбинации Pitic S 62 × *T. dicocum* обладала значительным количеством МКП с нарушениями на всех стадиях мейоза. Результаты молекулярного анализа также выявили значительные отличия по числу интрогрессированных фрагментов у данного материала. Линия 206–1 содержит 11 фрагментов генома *T. dicocum*, в то время как линии 208–3 и 213–1 — только по 4 (табл. 3, рис. 2).

Корреляции между числом чужеродных фрагментов и степенью нарушения процесса мейоза (или мейотической стабильностью) показаны и в публикациях других исследователей, выполненных на межвидовых гибридах (Гордеева и др., 2009; Zeng et al., 2013). Однако авторы утверждают, что число интрогрессий не всегда является критерием мейотической стабильности, особенно в случае отдаленных скрещиваний. Отдельные хромосомы

могут оказывать значительное влияние на рекомбинационную способность. Это убедительно продемонстрировано результатами, полученными при изучении пшенично-ржаных замещенных и добавочных линий (Apolinarska, 2003; Chrzastek, 2003; Силкова и др., 2006).

Литературные данные свидетельствуют, что микросателлитные праймеры, разработанные для *T. aestivum*, можно эффективно использовать для анализа геномов близкородственных видов и злаков из отдаленных таксономических групп (Sun et al., 1997; Korzun et al., 1999). Высокий уровень переносимости маркеров гексаплоидной пшеницы установлен для тетраплоидных видов пшеницы с геномами А и В, при изучении которых было показано что почти 90 % SSR-маркеров *T. aestivum* не только амплифицируют фрагменты в геномах *T. durum*, *T. dicocum* и *T. dicoccoides*, но и являются полиморфными (Fahima et al., 2002; Teklu et al., 2006). В связи с высокой гомеологией хромосом А и В геномов тетраплоидных видов *T. durum* и *T. dicocum* и мягкой пшеницы *T. aestivum* можно предполагать, что цитологическая стабильность линий, полученных от скрещивания этих видов, в большей степени зависит от числа и протяженности интрогрессированных фрагментов.

Линии 15–7 и 16–5 (*T. dicoccoides* × Фестивальная) имели высокое значение мейотического индекса (90 и 91 % соответственно), одинаковое число хромосомных перестроек — 8, но отличались по хромосомной локализации интрогрессированных фрагментов. Из таблицы 3 видно, что данные линии различались по хромо-

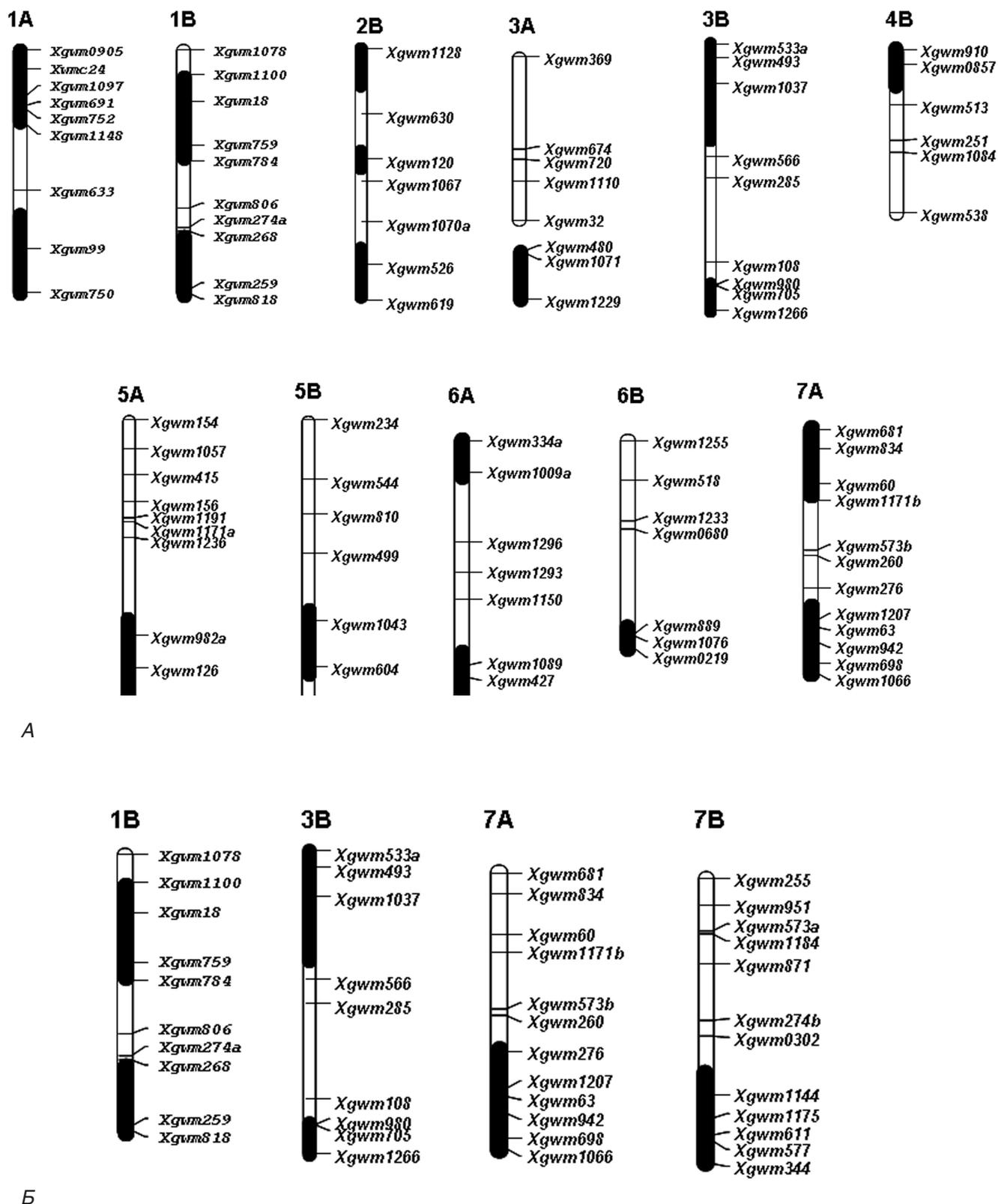


Рис. 2. Схематическое изображение рекомбинантных хромосом у гибридных линий пшеницы: А — линия 206–2, Б — линия 208–3. Фрагменты генома *T. dicoccoides* обозначены темными блоками. С правой стороны от хромосом указаны микросателлитные маркеры, использованные в анализе. Расстояние между маркерами соответствует молекулярно-генетическим картам хромосом популяции ITMI (Ganal, Röder, 2007)

сомам 1 В, 2 А, 3 В, 4 А, 5 А, 5 В, 6 В и 7 А, что однако не вызвало существенных отличий по уровню цитологической стабильности между ними.

Известно, что направление скрещивания оказывает влияние на успех межвидовой гибридизации. Так, в экспериментах по гибридизации в роде *Triticum* было показано, что, если мягкую пшеницу использовать как материнскую форму, то при скрещивании с диплоидными пшеницами завязываемость зерен ниже, чем в обратных комбинациях. Однако всхожесть полученных гибридных зерновок в данном случае выше (Таврин, 1989). Анализ результатов по скрещиванию гексаплоидных ( $2n = 42$ ) и тетраплоидных ( $2n = 28$ ) пшениц, полученных нами, подтвердил литературные данные о том, что оплодотворение протекает более успешно, когда опылителем является многохромосомный вид. Например, в комбинации, где в качестве материнского компонента скрещивания мы использовали *T. persicum* К11899, а в качестве отцовского — сорт пшеницы Тома, завязываемость составила 21,11 %, тогда как в обратной комбинации — 9,5 % (Khotyleva et al., 2010).

Следует отметить, что проведенный анализ поведения хромосом в мейозе также выявил отличия по уровню цитологической стабильности для линий прямой и обратной комбинации скрещивания с участием сорта Chinese Spring и *T. durum*. Уровень цитологической стабильности для линий, при получении которых материнским растением выступала мягкая пшеница, был высоким и отличия между линиями по данному показателю были незначительны. В обратных комбинациях скрещивания, когда стабилизация ядерного генома гибридных линий происходила на фоне цитоплазмы тетраплоидных пшениц, наблюдаются более существенные различия между линиями по количеству МКП с нарушениями на разных стадиях мейоза. Такая же зависимость обнаружена нами ранее при изучении генетического разнообразия гибридных линий мягкой пшеницы *T. aestivum*/*T. durum* и *T. aestivum*/*T. dicoccum* с помощью хромосом-специфичных микросателлитных (SSR) маркеров и С-окрашивания хромосом. Так, было установлено значительное генетическое сходство между линиями, при получении которых мягкая пшеница была использована в качестве материнского растения. В обратных комбинациях скрещивания, напротив, наблюдался высокий уровень дивергенции между сестринскими линиями, превышающий в ряде случаев 50 % (Leonova et al., 2013). Например, линии 183/2–2 и 183/1–6 комбинации Chinese Spring × *T. durum* очень близки как по уровню цитологической стабильности, так и по геномному составу (табл. 2, 3), в то время как линии 195–3 и 196–1 обратной комбинации скрещивания *T. durum* × Chinese Spring отличаются по поведению хромосом в мейозе (табл. 1 и 2). Картирование данных линий также выявило их генетическое различие. Показано, что линии 195–3 и 196–1 сходны по хромо-

сомам 1 А, 2 А, 3 А, 4 А, но значительно различаются по хромосомам 1 В, 5 А, 5 В, 6 В и 7 В, причем у линии 195–3 хромосома 5 В имеет характер распределения бэндов, сходный с хромосомой 5 В образцов *T. durum* (Леонова с соавт., 2013).

Проведенные исследования показали, что осуществленная нами интрогрессия чужеродного генетического материала в геном *T. aestivum* не оказала негативного влияния на его мейотическую стабильность, так как количество аномальных клеток было невелико не только на стадии метафазы I, но и на заключительной стадии тетрад. Спектр изменчивости по уровню цитологической стабильности у изученных линий является следствием различий по числу и локализации фрагментов интрогрессии геномов тетраплоидных пшениц в гибридном геноме. Установлено влияние цитоплазмы на становление карิโอ-типа у интрогрессивных линий пшеницы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант №Б14 Р-013; Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 14-04-90000; бюджетного проекта VI.53.1.5. Авторы благодарят др. М. Родер (IPK, Германия) за возможность использования SSR маркеров.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аbugалиева С. И., Волкова Л. А., Ерембаев К. А., Турусбеков Е. К. (2012) Генотипирование коммерческих сортов яровой мягкой пшеницы Казахстана с использованием микросателлитных ДНК-маркеров. Биотехнология. Теория и практика. № 2: С. 35–45.
2. Гордеева Е. И., Леонова И. Н., Калинина Н. П. с соавт. (2009) Сравнительный цитологический и молекулярный анализ интрогрессивных линий мягкой пшеницы, содержащих генетический материал *Triticum timopheevii* Zhuk. Генетика. Т. 45 (12): С. 1616–1626.
3. Корень Л. В., Орловская О. А., Хотылева Л. В. (2011) Генетический анализ формирования хозяйственно-ценных признаков у отдаленных гибридов пшеницы. Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. № 4: С. 35–40.
4. Леонова И. Н., Бадаева Е. Д., Орловская О. А. с соавт. (2013) Сравнительная характеристика гибридных линий *Triticum aestivum*/*Triticum durum* и *Triticum aestivum*/*Triticum dicoccum* по геномному составу и устойчивости к грибным болезням в различных экологических условиях. Генетика. Т. 49(11): С. 1276–1283.
5. Леонова И. Н., Добровольская О. Б., Каминская Л. Н. с соавт. (2005) Молекулярный анализ линий тритикале, содержащих различные систе-

- мы *Vrn* генов, с помощью микросателлиных маркеров и гибридизации *in situ*. Генетика. Т. 41 (9): С. 1236–1243.
6. Орловская О.А., Корень Л.В., Хотылева Л.В. (2011) Морфологический анализ гибридов пшеницы, созданных посредством отдаленной гибридизации в трибе Triticeae. Вестн НАН Беларуси. Сер. биол. наук. № 3: С. 29–33.
  7. Пшеницы мира (1987) Под ред. В. Ф. Дорофеева. Л.: Агропромиздат.
  8. Таврин Э.В. (1989) Аллополиплоидия и формообразование пшеницы. Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции. Т. 128: С. 45–52.
  9. Тимонова Е.М., Леонова И.Н., Белан И.А. с соавт. (2012) Влияние отдельных участков хромосом *Triticum timopheevii* на формирование устойчивости к болезням и количественные признаки мягкой пшеницы. Вавиловский журнал генетики и селекции. Т. 16 (1): С. 142–159.
  10. Хлесткина Е.К., Салина Е.А., Шумный В.К. (2004) Генотипирование отечественных сортов мягкой пшеницы с использованием микросателлитных (SSR) маркеров. Сельскохозяйственная биология. № 5: С. 44–51.
  11. Akfirat F.S., Uncuoglu A.A. (2013) Genetic diversity of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) revealed by SSR markers. Biochem. Genet. V. 51: P. 223–229.
  12. Ganal M. W., Röder M. S. (2007) Microsatellite and SNP markers in wheat breeding. In: Varshney R. K. and Tuberosa R., editor. Genomics assisted Crop Improvement: Springer; p. 1–24.
  13. Hajar R., Hodgkin T. (2007) The use of wild relatives in crop improvement: a survey of development over the last 20 years. Euphytica. V. 156: P. 1–13.
  14. Huang X. Q., Börner A., Röder M. S., Ganal M. W. (2002) Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. Theor. Appl. Genet. V. 105: P. 699–707.
  15. Huang X. Q., Cöster H., Ganal M. W., Röder M. S. (2003) Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. V. 106: P. 1379–1389.
  16. Khotyleva L., Koren L., Orlovskaya O. (2010) Use of *Triticeae* tribe species for expanding and enriching genetic resources of *Triticum aestivum* // 8th International Wheat Conference, Saint Petersburg, P. 101–102.
  17. Landjeva S., Korzun V., Ganeva G. (2006) Evaluation of genetic diversity among Bulgarian winter wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties during the period 1925–2003 using microsatellites. Genet. Resour. Crop Evol. V. 53: P. 1605–1614.
  18. Leonova I., Badaeva E., Orlovskaya O. et al. (2013) Evaluation of genetic diversity of common wheat hybrid lines containing *T. durum* and *T. dicoccum* genetic material // The 12th International wheat genetics Symposium, Oasifico Yokohama, Japan, P. 99.
  19. Peng J. H., Bai Y., Haley S. D., Lapitan N. L. V. (2009) Microsatellite-based molecular diversity of bread wheat germplasm and association mapping of wheat resistance to the Russian wheat aphid. Genetica. V. 135: P. 95–122.
  20. Somers D. J., Isaac P., Edwards K. (2004) A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. V. 109: P. 1105–1114.
  21. You G. X., Zhang X. Y., Wang L. F. (2004) An estimation of the minimum number of SSR loci needed to reveal genetic relationships in wheat varieties: information from 96 random samples with maximized genetic diversity. Mol. Breed. V. 14. — P. 397–406.
  22. Zeng J., Cao W., Hucl P. et al. (2013) Molecular cytogenetic analysis of wheat –*Elymus repens* introgression lines with resistance to Fusarium head blight. *Genome*. V. 56 (1): 75–82.
  23. Zhang X. Y., Li C. W., Wang L. F. et al. (2002) An estimation of the minimum number of SSR alleles needed to reveal genetic relationships in wheat varieties I: information from large-scale planted varieties and cornerstone breeding parents in Chinese wheat improvement and production. Theor. Appl. Genet. Vol. 106: P. 112–117.

#### FEATURES OF CHROMOSOME BEHAVIOR IN MEIOSIS IN THE COMMON WHEAT LINES CONTAINING GENETIC MATERIAL OF TETRAPLOID WHEAT SPECIES

Orlovskaya O. A., Leonova I. N., Salina E. A., Khotyleva L. V.

✪ **SUMMARY:** The study of the chromosome behavior in meiosis of hybrid lines obtained on the base of crossing of common wheat with tetraploid wheat species showed that introgression of alien genetic material into common wheat genome had no negative effect on its meiotic stability. The Number of defective cells was small, not only at the metaphase I stage, but also on the final stage of tetrads. Variation relative to the level of cytological stability between the studied lines is the consequence of differences in the number and localization of the introgression fragments of the genomes of tetraploid wheat in the hybrid genome. The influence of the cytoplasm on the formation of the karyotype of introgression lines of wheat was found.

✪ **KEY WORDS:** common wheat *Triticum aestivum*; tetraploid wheat species *T. durum*, *T. dicoccum*, and *T. dicoccoides*; introgression wheat lines; microsporogenesis, genotyping.

#### ✪ REFERENCES (TRANSLITERATED)

1. Abugalieva S. I., Volkova L. A., Ermekbaev K. A. Turuspekov E. K. (2012) Genotipirovanie kommercheskikh sortov yarovoy myagkoy pshenitsy Kazakhstana

- s ispol'zovaniem mikrosatellitnykh DNK-markerov. [Genotyping of spring wheat commercial varieties of Kazakhstan using microsatellite DNA markers]. Biotekhnologiya. Teoriya i praktika. N 2: P. 35–45.
2. Akfirat F.S., Uncuoglu A.A. (2013) Genetic diversity of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) revealed by SSR markers. Biochem. Genet. V. 51: P. 223–229.
  3. Ganal M.W., Röder M.S. (2007) Microsatellite and SNP markers in wheat breeding. In: Varshney R.K. and Tuberosa R., editor. Genomics assisted Crop Improvement: Springer; p. 1–24.
  4. Gordeeva E.I., Leonova I.N., Kalinina N.P. s soavt. (2009) Sravnitel'nyy tsitologicheskij i molekulyarnyj analiz introgressivnykh linij myagkoy pshenitsy, sodержashchikh geneticheskij material *Triticum timopheevii* Zhuk. [Comparative cytological and molecular analysis of introgressive common wheat lines containing genetic material of *Triticum timopheevii* Zhuk.]. Genetika. V. 45 (12): P. 1616–1626.
  5. Hajar R., Hodgkin T. (2007) The use of wild relatives in crop improvement: a survey of development over the last 20 years. Euphytica. V. 156: P. 1–13.
  6. Huang X.Q., Börner A., Röder M.S., Ganal M.W. (2002) Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. Theor. Appl. Genet. Vol. 105: P. 699–707.
  7. Huang X.Q., Cöster H., Ganal M.W., Röder M.S. (2003) Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. V. 106: P. 1379–1389.
  8. Khlestkina E.K., Salina E.A., Shumnyy V.K. (2004) Genotipirovanie otechestvennykh sortov myagkoy pshenitsy s ispol'zovaniem mikrosatellitnykh (SSR) markerov. [Genotyping of domestic wheat varieties using microsatellite (SSR) markers]. Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. N 5: P. 44–51.
  9. Khotyleva L., Koren L., Orlovskaya O. (2010) Use of *Triticeae* tribe species for expanding and enriching genetic resources of *Triticum aestivum*//8th International Wheat Conference St. Petersburg, P. 101–102.
  10. Koren' L.V., Orlovskaya O.A., Hotyleva L.V. (2011) Geneticheskij analiz formirovaniya hozhajstvenno-cennykh priznakov u otdalennykh gibridov pshenicy. [Cytological characteristic of wheat hybrids produced by remote hybridization in the *Triticeae* tribe]. Vesci NAN Belarusi. Ser. bijal. navuk. N 4: P. 35–40.
  11. Landjeva S., Korzun V., Ganeva G. (2006) Evaluation of genetic diversity among Bulgarian winter wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties during the period 1925–2003 using microsatellites. Genet. Resour. Crop Evol. V. 53: P. 1605–1614.
  12. Leonova I., Badaeva E., Orlovskaya O. et al. (2013) Evaluation of genetic diversity of common wheat hybrid lines containing *T. durum* and *T. dicoccum* genetic material // The 12th International wheat genetics Symposium, Oasifico Yokohama, Japan, P. 99.
  13. Leonova I.N., Badaeva E.D., Orlovskaya O.A. s soavt. (2013) Sravnitel'naja harakteristika gibridnykh linij *Triticum aestivum*/*Triticum durum* i *Triticum aestivum*/*Triticum dicoccum* po genomnomu sostavu i ustojchivosti k gribnym boleznjam v razlichnykh jekologicheskikh uslovijah. [Comparative Characteristic of *Triticum aestivum*/*Triticum durum* and *Triticum aestivum*/*Triticum dicoccum* Hybrid Lines by Genomic Composition and Resistance to Fungal Diseases under Different Environmental Conditions]. Rus. J. Genet. V. 49 (11): P. 1276–1283.
  14. Leonova I.N., Dobrovol'skaja O.B., Kaminskaja L.N. s soavt. (2005) Molekuljarnyj analiz linij tritikale, sodержashchih razlichnye sistemy *Vrn* genov, s pomoshh'ju mikrosatellitnykh markerov i gibridizacii in situ. [Molecular analysis of triticale lines with different *Vrn* gene systems using microsatellite markers and hybridization in situ]. Rus. J. Genet. V. 41 (9): P. 1236–1243.
  15. Orlovskaya O.A., Koren' L.V., Hotyleva L.V. (2011) Morfologicheskij analiz gibridov pshenicy, sozdannykh posredstvom otdalenoj gibridizacii v tribe Triticeae. [Morphological analysis of wheat hybrids developed by remote hybridization in Triticeae tribe]. Vesci NAN Belarusi. Ser. bijal. navuk. N 3: P. 29–33.
  16. Pshenicy mira (1987). [Wheat of world]. V.F. Dorofeev, editor. L.: Agropromizdat.
  17. Peng J.H., Bai Y., Haley S.D., Lapitan N.L.V. (2009) Microsatellite-based molecular diversity of bread wheat germplasm and association mapping of wheat resistance to the Russian wheat aphid. Genetica. V. 135: P. 95–122.
  18. Somers D.J., Isaac P., Edwards K. (2004) A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. V. 109: P. 1105–1114.
  19. Tavrín Je.V. (1989) Allopoliploidija i formoobrazovanie pshenicy. [Allopolyploidy and formation of wheat]. Tr. po prikl. botanike, genetike i selekcii. V. 128: P. 45–52.
  20. Timonova E.M., Leonova I.N., Belan I.A. s soavt. (2012) Vlijanie otdel'nykh uchastkov hromosom *Triticum timopheevii* na formirovanie ustojchivosti k boleznjam i kolichestvennye priznaki mjagkoj pshenicy. [Effect of certain chromosome regions of *Triticum timopheevii* on the formation of pest resistance and quantitative traits in common wheat]. Vavilov Journal of Genetics and Breeding. V. 16 (1): P. 142–159.
  21. You G.X., Zhang X.Y., Wang L.F. (2004) An estimation of the minimum number of SSR loci needed to reveal genetic relationships in wheat varieties: in-

- formation from 96 random samples with maximized genetic diversity. *Molecular Breeding* V. 14. — P. 397–406.
22. Zeng J., Cao W., Hucl P. et al. (2013) Molecular cytogenetic analysis of wheat —*Elymus repens* introgression lines with resistance to *Fusarium* head blight. *Genome*. V. 56 (1): 75–82.
23. Zhang X.Y., Li C.W., Wang L.F. et al. (2002) An estimation of the minimum number of SSR alleles needed to reveal genetic relationships in wheat varieties I: information from large-scale planted varieties and cornerstone breeding parents in Chinese wheat improvement and production. *Theor. Appl. Genet.* V. 106: P. 112–117.

## ✿ Информация об авторах

**Орловская Ольга Александровна** — к. б. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория экологической генетики и биотехнологии. Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси. 220072, Минск, ул. Академическая, д. 27.  
E-mail: O.Orlovskaya@igc.bas-net.by.

**Леонова Ирина Николаевна** — к. б. н., старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и цитогенетики растений. Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. 630090, Новосибирск, пр-т акад. Лаврентьева, д. 10.  
E-mail: leonova@bionet.nsc.ru.

**Салина Елена Артемовна** — д. б. н., профессор, заведующая лабораторией молекулярной генетики и цитогенетики растений. Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. 630090, Новосибирск, пр-т акад. Лаврентьева, д. 10.  
E-mail: salina@bionet.nsc.ru.

**Хотылева Любовь Владимировна** — академик, главный научный сотрудник, лаборатория экологической генетики и биотехнологии. Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси. 220072, Минск, ул. Академическая, д. 27.  
E-mail: L.Khotyleva@igc.bas-net.by.

**Orlovskaya Ol'ga Aleksandrovna** — leading scientist, Ph.D., laboratory of ecological genetics and biotechnology. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus. 220072, Minsk, Academycheskaya St., 27. Republic of Belarus.  
E-mail: O.Orlovskaya@igc.bas-net.by.

**Leonova Irina Nikolaevna** — senior scientist, Ph.D., laboratory of plant molecular genetics and cytogenetics. Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. 630090, Novosibirsk, Prospekt Lavrentyeva, 10. Russia.  
E-mail: leonova@bionet.nsc.ru.

**Salina Elena Artemovna** — head of laboratory, Doctor in Biological Science, professor. Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. 630090, Novosibirsk, Prospekt Lavrentyeva, 10. Russia.  
E-mail: salina@bionet.nsc.ru.

**Khotyleva Lyubov' Vladimirovna** — head scientist, academician, laboratory of ecological genetics and biotechnology. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus. 220072, Minsk, Academycheskaya St., 27. Republic of Belarus.  
E-mail: L.Khotyleva@igc.bas-net.by.