

*Л.П. Хлебова***Влияние температуры на частоту рекомбинаций у тетраплоидных пшениц***L.P. Khlebova***The Influence of Temperature on the Recombination Frequency of Tetraploid Wheat**

Изучена конъюгация хромосом в мейозе у тетраплоидных пшениц *Triticum durum* и *T. timopheevii* в различных температурных режимах выращивания. Влияние температуры на рекомбиногенез определяется генотипом и зависит от устойчивости растений к данному фактору. Установлено, что сорта твердой пшеницы характеризуются более плотным синапсисом по сравнению с *T. timopheevii*. Показатели конъюгации хромосом форм пшеницы Тимофеева обнаруживают большую вариабельность при изменении температуры, что свидетельствует о большей пластичности вида.

**Ключевые слова:** твердая пшеница, пшеница Тимофеева, генотипическое разнообразие, изменчивость, температурный фактор, конъюгация хромосом, рекомбиногенез, частота хиазм, биваленты, униваленты, адаптация.

В настоящее время считается, что совершенствование адаптации высших организмов, в том числе и растений, обеспечивается в филогенезе в подавляющей своей части за счет рекомбиногенеза. Поэтому улучшение приспособленности растений к конкретным условиям выращивания и управление процессом рекомбинаций тесно связаны [1].

Рекомбинацией называется перераспределение генетической информации родителей в потомстве. В основе рекомбинации несцепленных генов лежит механизм свободного комбинирования хромосом в мейозе. Рекомбинация сцепленных генов обычно происходит путем перекреста хромосом – кроссинговера [2].

Одно из главных направлений в современной прикладной генетике и селекции – разработка методов регуляции рекомбинационных процессов на уровне геномов, хромосом и генов. Широкая изменчивость частоты рекомбинаций в зависимости от ряда факторов была установлена еще исследователями школы Т. Моргана. Последующие исследования показали, что частота кроссинговера является одним из наиболее вариабельных биологических признаков и модифицируется под влиянием условий внешней среды и генетических факторов [3]. На частоту кроссинговера

The meiotic chromosomal pairing of tetraploid durum and timopheevii wheat was studied under different temperatures of vegetation. The temperature influence on the recombination process is determined by a genotype and depends on plant resistance to the considered factor. It was stated that durum wheat varieties have a denser synapsis as compared to *T. timopheevii* variety. The chromosomal pairing results of the timopheevii samples under temperature changes are more variable. This fact shows that *T. timopheevii* is a more adaptive species.

**Key words:** durum wheat, timopheevii wheat, genotypical diversity, variation, temperature factor, chromosomal pairing, recombination process, chiasma frequency, bivalents, univalents, adaptation.

могут влиять такие факторы, как генотип, возраст организма, температура, химические и физические агенты (антибиотики, концентрация ионов кальция, магния и др.), уровень питания (содержание в субстрате азота, фосфора, калия) и др. [4].

К настоящему времени имеются многочисленные данные, показывающие принципиальную возможность модификации частоты рекомбинаций между сцепленными локусами у пшеницы, гороха, ячменя, кукурузы, ржи, томатов, фасоли и многих других культур [5, 6].

Эффективным путем повышения адаптивного потенциала культурных растений считается отдаленная гибридизация, поскольку дикие виды обладают целым рядом ценных свойств и признаков, неиспользованных в селекции растений. Так, *Triticum timopheevii* Zhuk. – уникальный полиплоидный вид пшеницы, обладающий комплексной иммунностью к ряду вредоносных грибных болезней. В связи с этим его использование в селекции возделываемых культур, в частности твердой пшеницы, представляет большой интерес. Увеличение частоты рекомбинаций у межвидовых гибридов является важнейшей задачей, так как у них полностью отсутствуют либо редко происходят межгенные обмены, вследствие гомеологичности

хромосом, что препятствует их плотной конъюгации. Возникает необходимость искусственного индуцирования рекомбинаций [4]. Изучение частоты обменов у родительских видов позволит лучше понять и оценить перспективы управления рекомбинационным процессом у межвидовых гибридов.

Цель нашей работы – оценка возможности повышения частоты генетических рекомбинаций у тетраплоидных пшениц путем использования генотипического разнообразия видов и воздействия температурного фактора.

В работе использовано три сорта твердой пшеницы различного эколого-географического происхождения: Алтайка (Алтайский край), Ангара (Красноярский край) и образец I 310100 (США). Генотипическое разнообразие пшеницы Тимофеева представлено также тремя формами из коллекции ВИР: к-47793 (Т.т.47793), к-18105 (Т.т.18105) и к-38555 (Т.т.38555). Изучение влияния температуры на процесс, предшествующий формированию гамет, – конъюгацию хромосом в мейозе, проводили с использованием камер искусственного климата КВ-1 при разных температурных режимах. Высевалось по 100 зерен на образец. За пять дней до начала мейоза в камерах устанавливались разные температурные режимы (I, II, III). Режим I, контрольный, разработан в АНИИСХозе как оптимальный для выращивания зерновых культур с целью обеспечения их максимальной зерновой продуктивности (+21 °С в дневное время суток). В режимах II и III дневные температуры повышались на 5 и 10° соответственно. Действие высокой температуры сохранялось в течение девяти часов. Температура в темновой период суток равнялась +15 °С. Длина дня во всех вариантах составляла 17 часов. Колосья фиксировали по Ньюкомеру. Цитологический анализ проводили при помощи микроскопа МБИ-6 на временных давленных препаратах, окрашенных ацетокармином. В М<sub>1</sub> мейоза устанавливали тип и число различных ассоциаций хромосом: бивалентов, т.е. парных ассоциаций (открытых и закрытых), и унивалентов – хромосом, не вступивших в конъюгацию. По этим характеристикам можно подсчитать число хиазм, которое является интегральной характеристикой рекомбинационного процесса для ядра в целом, поскольку хиазмы служат точками контакта и разрыва хромосом, а следовательно, обеспечивают обмен их участками. Проанализировано по 100 клеток на образец.

Тетраплоидные пшеницы имеют 28 хромосом с максимальным числом бивалентов, равным 14, что обеспечивает формирование 28 хиазм. В таблице представлена характеристика конъюгации хромосом у шести изученных образцов в различных температурных режимах. Сорта твердой пшеницы характеризовались высоким уровнем рекомбиногенеза. В большинстве случаев формировалось максимально возможное число бивалентов – 14 и минимум откры-

тых (при первых двух режимах частота открытых пар хромосом не превышала 3,6 шт. на клетку), что обеспечило им высокую частоту обменов. Вероятно, что столь высокая интенсивность рекомбинаций твердой пшеницы связана с характером размножения данной культуры. Она является самоопылителем. Имеются данные, показывающие, что низкая частота хиазм коррелирует с перекрестным опылением, а высокая – с самоопылением.

Так, у перекрестноопыляемых видов пырея *Agropyron spicatum* и *A. parishii* наблюдалась более низкая частота хиазм, чем у их самоопыляющихся сородичей *Elymus glaucus* и *Sitanion jubatum*. Аналогичные результаты получены у видов родов *Collinsia* и *Allium* [7]. Этим самоопылителями как бы компенсируются ограничения variability, накладываемые системой размножения. В результате у самоопыляемых видов происходят существенные рекомбинации после редких перекрестных опылений, а у перекрестников высвобождается лишь незначительная часть изменчивости, но регулярно из поколения в поколение. Высокая частота рекомбинаций у самоопыляемых форм указывает на возможность более эффективного использования в этой системе редких гетерозигот.

Изученные сорта *T. durum* обнаруживают сходную реакцию на повышение температуры, постепенно снижая плотность конъюгации при переходе от 21 до 31°: в среднем по всем сортам 25,9; 24,7 и 20,6 хиазм на клетку. При этом снижение частоты перекрестов происходило за счет увеличения количества открытых бивалентов (десинапсиса), а при температуре 31° – также и за счет уменьшения общего числа бивалентов – до 13,1–13,7 штук на клетку (асинапсис). Поскольку все рассматриваемые сорта являются в разной степени засухоустойчивыми, можно предположить, что оптимальна для них более высокая температура: в районе 26°, а переход к 21° вызывает стрессовую ситуацию, что приводит к повышению интенсивности кроссинговера, а следовательно, и генетического разнообразия. Температура 31° во время прохождения мейоза уже достаточно критическая, так как приводит к резкому снижению обменов. Разница частоты хиазм между 21 и 26° составляет в среднем по сортам 1,2 на клетку, а между 26 и 31° – 4,1 на клетку.

Индивидуальная реакция каждого генотипа на изменение температуры имеет свои особенности. Так, сорт Ангара характеризуется более широкой амплитудой изменчивости рассматриваемых показателей при переходе от температуры 26 к 21°: частота хиазм изменяется от 25,1 до 27,1, а число открытых бивалентов – от 2,9 до 0,9. Напротив, повышение температуры до 31° сказывается в меньшей степени на плотности конъюгации по сравнению с J 310100 и Алтайкой: число хиазм снижется, а открытых бивалентов увеличивается на 2,2 штук. В то же время у J 310100 этот показатель уменьшается на 4,8, а у Алтайки – на

Конъюгация хромосом в метафазе I мейоза у сортов *T. durum* и форм *T. timopheevii*.

Сорт, образец	Режим I (+21°C)			Режим II (+26°C)			Режим III (+31°C)		
	Среднее число на клетку								
	хиазм	бивалентов	открытых бивалентов	хиазм	бивалентов	открытых бивалентов	хиазм	бивалентов	открытых бивалентов
Алтайка	25,3 ± 0,11	14,0 ± 0,00	2,7 ± 0,01	24,7 ± 0,11	14,0 ± 0,00	3,3 ± 0,03	19,3 ± 0,11	13,1 ± 0,20	6,9 ± 0,30
Ангара	27,1 ± 0,08	14,0 ± 0,00	0,9 ± 0,01	25,1 ± 0,13	14,0 ± 0,00	2,9 ± 0,02	22,9 ± 0,13	14,0 ± 0,00	5,1 ± 0,31
J 310100	25,2 ± 0,09	14,0 ± 0,00	2,8 ± 0,02	24,4 ± 0,08	14,0 ± 0,00	3,6 ± 0,01	19,6 ± 0,08	13,7 ± 0,18	7,8 ± 0,29
Среднее	25,9 ± 0,09	14,0 ± 0,00	2,1 ± 0,01	24,7 ± 0,10	14,0 ± 0,00	3,3 ± 0,02	20,6 ± 0,10	13,6 ± 0,01	6,6 ± 0,30
T.t.38555	22,8 ± 0,07	14,0 ± 0,00	5,2 ± 0,03	22,5 ± 0,12	14,0 ± 0,00	5,5 ± 0,04	18,9 ± 0,11	13,6 ± 0,04	7,3 ± 0,04
T.t.47793	20,2 ± 0,05	14,0 ± 0,00	7,8 ± 0,03	23,1 ± 0,09	14,0 ± 0,00	4,9 ± 0,06	19,6 ± 0,11	13,0 ± 0,12	6,4 ± 0,03
T.t.18105	21,8 ± 0,05	14,0 ± 0,00	6,2 ± 0,04	19,3 ± 0,11	14,0 ± 0,00	8,7 ± 0,08	17,2 ± 0,14	12,5 ± 0,11	7,8 ± 0,06
Среднее	21,6 ± 0,05	14,0 ± 0,00	6,4 ± 0,03	21,6 ± 0,11	14,0 ± 0,00	6,4 ± 0,06	18,6 ± 0,12	12,9 ± 0,05	7,2 ± 0,04

5,4 штук. Кроме того, важно отметить, что, несмотря на столь высокую температуру во время формирования гамет, в материнских клетках пыльцы сорта Ангара не обнаружено унивалентов. Все хромосомы вступают в регулярный синапсис, демонстрируя попарную конъюгацию, что обеспечивает в дальнейшем правильное расхождение хромосом в анафазе I мейоза, а следовательно, формирование сбалансированных по числу хромосом 14-хромосомных гамет. Это повышает вероятность образования фертильной пыльцы.

У сортов Алтайка и J 310100 при 31° обнаружено нарушение попарной конъюгации хромосом, что приводит к появлению в клетках 2–4 унивалентов. Одиночные хромосомы, как правило, либо элиминируют на последующих этапах мейоза, либо, случайно распределяясь к полюсам клетки, приводят к образованию анеуплоидных гамет, что снижает фертильность пыльцы.

Таким образом, можно предположить, что среди изученных сортов твердой пшеницы Ангара более адаптивна к температурному фактору. Снижение температуры вызывает у нее повышение частоты обменов, что расширяет возможности генотипической изменчивости. Ангара – сорт селекции Красноярского НИИСХа. Условия этого региона характеризуются более низкими температурами по сравнению с Алтайским краем, где выведена Алтайка. Вероятно, что Ангара более пластична и лучше приспособлена к пониженным температурам. В то же время менее выраженные десинаптические процессы мейотической конъюгации хромосом при температуре 31° свидетельствуют о более выраженной жаростойкости этого сорта.

Образцы пшеницы Тимофеева в целом при выращивании на разных режимах, хотя и формировали в основном 14 бивалентов, обнаружили менее плотную мейотическую конъюгацию хромосом по сравнению с сортами *T. durum*. Частота рекомбинаций варьировала в зависимости от температуры в среднем от 21,6 до 18,6 обменов на клетку, возросло количество

открытых бивалентов, а при температуре 31° и число унивалентов. При этом изученные формы проявили более дифференцированную реакцию на изменение температуры. Так, образец T.t. 38555 характеризовался максимальной частотой хиазм при I и II режимах и существенно снижал данный показатель при 31°. T.t. 47793 показал максимальную плотность конъюгации (23,1) при 26° и снижение к 21° (20,2) и 31° (19,6). Образец T.t. 18105, напротив, формировал большее количество закрытых бивалентов, а следовательно, и хиазм при режиме 21°, а затем – при повышении температуры – частота обменов снижалась. Следует отметить, что изменение этого параметра при режимах I и II, так же как и у сортов твердой пшеницы, происходило за счет частичного десинапсиса, т.е. формирования открытых бивалентов, а режим III приводил к асинапсису и появлению унивалентов. А это, как указывалось выше, является дополнительным фактором снижения фертильности пыльцы, что может выразиться в более низкой озерненности растений. Вероятно, что температура в районе 31° во время прохождения мейоза является критической в целом для пшеницы. Этот фактор мы будем в дальнейшем учитывать при обсуждении вероятных температурных оптимумов для каждого образца.

На основе изложенных данных можно предположить, что для формы T.t. 47793 температурный оптимум периода формирования гамет находится в районе 21°, для T.t. 38555 – ниже 21°, а для T.t. 18105 – в интервале от 21 до 26°. Изменение оптимума приводит к индукции частоты рекомбиногенеза. Обращает на себя внимание также тот факт, что показатели плотности конъюгации хромосом *T. timopheevii* обнаружили большую вариабельность при изменении температуры. У твердой пшеницы шаг максимального повышения частоты хиазм был равен 2, а у *T. timopheevii* достигал 2,9. В то же время снижение рекомбиногенеза при критической температуре 31° происходило более плавно – максимум на 4,6 (у T.t.18105), а у твердой

пшеницы – на 6 хиазм (у Алтайки). Следовательно, *T. timopheevii* является более пластичным видом по реакции на температурный фактор. Вероятно, она более приспособлена к перепадам дневных и ночных температур, так как произрастает в горах. Кроме того, пшеница Тимофеева, являясь по сути диким видом, сохраняет большее разнообразие, несмотря на то, что она является эндемиком. Таким образом, изученные образцы *T. timopheevii* характеризуются большим полиморфизмом частоты рекомбиногенеза и большей толерантностью к критическим температурам, что обеспечивает им лучшую приспособленность и долговременное сохранение потенциала генотипической изменчивости по сравнению с твердой пшеницей. Аналогичные результаты были получены и при использовании данного вида в гибридизации с твердой пшеницей. Успех скрещиваемости и результативность

беккрасса в большей степени определялись разнообразием форм *T. timopheevii* [8].

Таким образом, выполненное исследование позволяет заключить, что влияние температуры на рекомбиногенез у тетраплоидных форм пшеницы определяется генотипом и зависит от устойчивости растений к данному фактору. Связь между устойчивостью и частотой обменов отрицательная, что обеспечивает минимум рассеивания генетической изменчивости в оптимальной среде и увеличение в неблагоприятных условиях. Температурный фактор при отклонении от оптимума повышает интенсивность рекомбиногенеза. Пшеница Тимофеева обнаружила большую вариабельность результатов при изменении температуры, что указывает на большую пластичность данного вида по сравнению с твердой пшеницей. Этот факт следует учитывать в работах по межвидовой гибридизации.

### Библиографический список

1. Жученко А.А. Адаптивный потенциал культурных растений (эколого-генетические основы). – Кишинев, 1988.
2. Кушев В. В. Механизмы генетической рекомбинации. – Л., 1971.
3. Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. – М., 1985.
4. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы (теория и практика). – М., 2004.
5. Король А.Б. Изменчивость кроссинговера у высших растений. – Кишинев, 1990.
6. Смирнов В.Г. Цитогенетика. – М., 1991.
7. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. – Самара, 2003.
8. Хлебцова Л.П. Результативность возвратного скрещивания межвидовых гибридов пшеницы *Triticum durum* Desf. x *Triticum timopheevii* Zhuk. // Известия АлтГУ. – 2010. – №3.