

УДК: 631.523:575

Особливості кросинговеру у гібридів F₁ кавуна (*Citrullus lanatus*) з різною онтогенетичною пристосованістю
П.Ю.Монтвід

Інститут овочівництва і баштанництва УААН (Харківська обл., Україна)
montvid@mail.ru

Проведено дослідження цитологічних критеріїв, які характеризують процес кросинговеру, у гібридів F₁ кавуна з різною онтогенетичною пристосованістю. У рослин низькопристосованих гетерозигот виявлено зростання частоти нетипових бівалентів в ранньому діакінезі, мостів в анафазі I в екстремальних умовах. Зроблено висновок про зниження точності кросинговеру та інтерференції обмінів у гібридів з низькою онтогенетичною пристосованістю, що може бути механізмом формування додаткового спектру генотипової мінливості в наступних поколіннях.

Ключові слова: *кавун, хіазма, бівалент, міст, фрагмент, кросинговер.*

Вступ

Актуальною проблемою сучасної екологічної генетики є зв'язок онтогенетичної пристосованості гібридів F₁ й спектру генотипної мінливості в їх потомствах (Жученко, 1980). Вказана проблема, незважаючи на певні успіхи в її розв'язанні, залишається дискусійною. Не менш важливим є дослідження генетичних механізмів, які призводять до формування істотних відмінностей мінливості кількісних ознак в потомствах даних гетерозигот. Так, раніше було встановлено, що у томата й перцю солодкого в потомствах низькопристосованих гібридів F₁ спостерігається істотне зростання різноманітності за кількісними, у тому числі господарсько-цінними ознаками (Жученко и др., 1984; Самовол и др., 1999). Можливий механізм цього явища – підвищення частоти рекомбінації, що підтверджено при аналізі кросинговеру як в маркірованих локусах, так і на рівні хіазм (Левчук, Тоцький, 1998; Смирнов, 1991). Виявлено також, що у низькопристосованих гібридів F₁ томата і баклажана, на відміну від високопристосованих, частота порушень мейозу залишається високою на стадіях II поділу, що свідчить про знижену ефективність роботи системи репарації пошкоджень (Самовол и др., 1987; Монтвід и др., 2002). З іншого боку, гібриди F₁ баклажана з низькою онтогенетичною пристосованістю відрізнялися зростанням частоти обмінних порушень (мостів і фрагментів), а також бівалентів з трьома хіазмами в несприятливих умовах вологозабезпечення на рівні 45% від повної вологоємності та конкуренції без змін сумарної частоти хіазм (Монтвід, 2006). На основі одержаних результатів зроблено висновок про знижену точність кросинговеру та інтерференцію обмінів у рослин низькопристосованих гетерозигот баклажана.

Таким чином, не виключено, що у низькопристосованих гібридів F₁ інших видів рослин в несприятливих умовах можна очікувати істотне підвищення частоти порушень обмінного типу внаслідок зростання частоти кросинговеру та зниження його точності.

Метою роботи було дослідження цитологічних критеріїв, які характеризують кросинговер (частоти обмінних порушень мейозу, хіазм і нетипових бівалентів), у гібридів F₁ кавуна з різною онтогенетичною пристосованістю.

Методика

Дослідження проводили в 2006–2007 рр. Гібриди F₁ кавуна (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. et Nakai., 2n=22), люб'язно надані селекціонером О.В.Сергієнко, були одержані за загальноприйнятою методикою гібридизації з кастрацією нерозкритих жіночих квіток (Боос и др., 1990). Набір з 7 гібридів F₁ (з них 6 одержаних на основі однієї материнської форми й 1 – Обрій F₁ – стандарт, внесений до реєстру сортів і гібридів України) щорічно оцінювали за ступенем онтогенетичної пристосованості за методикою (Самовол, 1992), модифікованою нами для кавуна. Згідно з цією методикою, гетерозиготні рослини вирощували в посудинах Вагнера (об'єм ґрунту 5 л) в умовах зниженої вологозабезпеченості (на рівні 45% від повної вологоємності ґрунту) і підвищеної густоти (3 × 3 см) за схемою бджолиних сот, яка забезпечувала однакове оточення рослин однієї комбінації схрещування іншими гібридами. Кожна посудина містила до 40 рослин, по 5–7 рослин окремої гібридної комбінації. Повторність вегетаційного досліду – шестикратна. При досягненні рослин усіх гібридних комбінацій стадії мейозу визначали ступінь онтогенетичної пристосованості гібридів F₁ на основі оцінки за морфостатистичними параметрами (висота рослини, маса рослини, кількість листків, кількість пуп'янків). Оцінка на даному етапі обумовлена тим, що конкурентоздатність на ранніх стадіях розвитку тісно й позитивно корелює з продуктивністю, плодючістю, життєздатністю, стійкістю щодо окремих

несприятливих чинників та іншими показниками, які визначають пристосованість генотипів в онтогенезі (Tuscan, 1986). Серед набору з 7 F₁ ідентифікували гібридні комбінації з найбільшими та найменшими значеннями досліджуваних ознак як високо- й низькопристосовані. Контрольні рослини вирощували в оптимальних умовах скляної теплиці. Нерозкриті чоловічі квітки на стадії мейозу (розміром 1 мм) фіксували в фіксаторі Кларка (суміш абсолютного етанолу та льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1), зберігали в 70% етанолі. Частоту хіазм на мейоцит визначали на тимчасових оцтокармінних препаратах пиляків, які перед фарбуванням витримували протягом 1 години в 4% залізоамонійному галуні (Жученко и др., 1980). Досліджували 5 рослин кожної гібридної комбінації. Цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики. Достовірність різниці між варіантами контролю та досліду визначали з урахуванням t-критерію Стьюдента та кутового перетворення Фішера (для порівняння часток варіант або відсотків) (Лакин, 1990).

Результати

Протягом 2006–2007 рр. ідентифіковано як високопристосовані гібриди F₁ Фотон × Восход, Фотон × T.s/2 (2006 р.), Чорногорець × Sugar baby, Чорногорець × Ubenica ns44 (2007 р.), F₁ (Чорногорець × F₁ лінія ms), Гарний × Чорногорець та як низькопристосовані Фотон × Північне сяйво, Фотон × Огоньок (2006 р.), Чорногорець × Огоньок, Гарний × Орфей, Гарний × лінія ms (2007 р.) (табл. 1). За більшістю досліджених кількісних ознак між гібридом-стандартом й дослідженими гібридами виявлено достовірні відмінності, наприклад за кількістю листків і, що дуже важливо, кількістю пуп'янків.

Для низькопристосованих гібридів F₁ закономірним було зростання частки мостів в несприятливих умовах конкуренції та зниженого вологозабезпечення від 1,33 до 3% (табл. 2). Винятком був гібрид F₁ Фотон × Огоньок, у якого мости були відсутні взагалі (див. табл. 2). У рослин високопристосованих гетерозигот Фотон × Восход і Фотон × T.s/2 мости були відсутні взагалі, у F₁ Чорногорець × F₁ лінія ms і Чорногорець × Sugar baby їх частка достовірно зростала, а у Гарний × Чорногорець – не змінювалась (див. табл. 2).

Таблиця 1.

Результати оцінки гібридів F₁ кавуна за ступенем онтогенетичної пристосованості

№	Комбінація	Маса рослини, г	Висота рослини, см	Кількість листків, шт.	Кількість пуп'янків, шт.	Онтогенетична пристосованість
1	2	3	4	5	6	7
2006 р.						
1/06	Обрій (стандарт)	1,9 ± 0,5	14,8 ± 2,0	7,5 ± 0,5	3,5 ± 0,4	-
2/06	Фотон × Північне сяйво	1,3 ± 0,3	13,5 ± 1,5	5,0 ± 0,7*	0,5 ± 0,1*	Низька
3/06	Фотон × Огоньок	1,3 ± 0,3	13,5 ± 1,2	5,0 ± 0,3*	0,5 ± 0,1*	Низька
4/06	Фотон × Борчанський	2,3 ± 0,2	13,3 ± 1,0	4,8 ± 0,8*	1,0 ± 0,2*	-
5/06	Фотон × The sun	1,5 ± 0,4	12,3 ± 1,0	5,3 ± 1,0	1,3 ± 0,2*	-
6/06	Фотон × Восход	2,0 ± 0,3	19,8 ± 1,6*	9,3 ± 1,0*	6,8 ± 0,2*	Висока
7/06	Фотон × T.s/2	2,7 ± 0,4*	19,8 ± 1,3*	9,3 ± 0,8*	6,8 ± 0,2*	Висока
2007 р.						
1/07	Обрій (стандарт)	3,5 ± 0,2	14,5 ± 1,0	2,18 ± 0,17	0,83 ± 0,11	-
2/07	Чорногорець × Chocoline WR-65	4,0 ± 0,5	15,2 ± 1,7	2,86 ± 0,31	3,40 ± 0,26*	-
3/07	Чорногорець × F ₁ лінія ms	4,5 ± 0,3*	17,5 ± 1,3	3,70 ± 0,26*	4,0 ± 0,27*	Висока
4/07	Чорногорець × Огоньок	3,8 ± 0,2	11,8 ± 1,6	1,21 ± 0,11*	0,25 ± 0,05*	Низька
5/07	Чорногорець × Місцевий (Хакасія)	3,5 ± 0,1	15,0 ± 2,1	2,58 ± 0,16	3,0 ± 0,15*	-
6/07	Чорногорець × Sugar baby	4,0 ± 0,4	19,0 ± 0,9*	5,21 ± 0,34*	4,0 ± 0,24*	Висока
7/07	Чорногорець × Ubenica ns44	4,0 ± 0,3	20,0 ± 1,4*	4,29 ± 0,42*	3,80 ± 0,14*	Висока
1a/07	Обрій F ₁	3,5 ± 0,2	14,5 ± 2,0	2,19 ± 0,14	0,83 ± 0,14	-
2a/07	Гарний × Worten delight	3,5 ± 0,3	14,3 ± 1,8	1,39 ± 0,10	0,83 ± 0,10	-
3a/07	Гарний × Орфей	3,0 ± 0,3	14,2 ± 1,4	1,05 ± 0,08	0,40 ± 0,05*	Низька

Продовження таблиці 1.

4a/07	Гарний × лінія ms	3,2 ± 0,3	13,0 ± 1,9	1,46 ± 1,1	0,33 ± 0,04*	Низька
5a/07	Гарний × I ₁ Jatun	3,3 ± 0,4	15,7 ± 2,0	1,84 ± 1,0	1,0 ± 0,10	-
6a/07	Гарний × Чорногорець	4,0 ± 0,3	16,3 ± 1,3	2,62 ± 2,0	2,50 ± 0,17*	Висока
7a/07	Гарний × Sugar baby	4,0 ± 0,2	13,5 ± 1,0	2,03 ± 1,5	1,05 ± 0,10	-

Примітка: * – відмінності від стандарту (контролю) достовірні при $p < 0,05$.

Таких закономірностей нами не виявлено для прояву фрагментів в анафазі I. Слід лише зазначити, що у низькоприсосованих гібридів вони були присутні в умовах як контролю, так і досліду, за винятком рослин F₁ Гарний × Орфей (див. табл. 2).

Таблиця 2.

Сегрегація хромосом в мейозі гібридів F₁ кавуна з різною онтогенетичною пристосованістю (2006–2007 рр.)

Гібрид F ₁	Варіант	Онтогенетична пристосованість	Досліджено клітин	Частота порушень в анафазі I				Сумарна частота хіазм на мейоцит	Кількість нетипових бівалентів на мейоцит
				мостів		фрагментів			
				клітин з порушеннями	%	клітин з порушеннями	%		
2/06	К	-	250	1	0,40	1	0,40	13,21 ± 0,29	0,19 ± 0,02
	Д	Низька	150	2	1,33*	1	0,66	11,90 ± 0,25*	0
3/06	К	-	200	0	0	1	0,50	12,47 ± 0,23	0
	Д	Низька	150	0	0	1	0,66	13,20 ± 0,20*	0
6/06	К	-	220	0	0	0	0	11,73 ± 0,21	0
	Д	Висока	150	0	0	1	0,66*	11,10 ± 0,27	0
7/06	К	-	200	0	0	1	0,50*	12,55 ± 0,33	0
	Д	Висока	150	0	0	0	0	11,79 ± 0,20	0
4/07	К	-	100	0	0	1	1,0	12,68 ± 0,19	0
	Д	Низька	200	3	1,50*	2	1,0	15,27 ± 0,26*	0
3a/07	К	-	100	1	1,0	0	0	12,59 ± 0,14	0
	Д	Низька	300	9	3,0*	1	0,33*	14,35 ± 0,18*	0,17 ± 0,02
3/07	К	-	100	0	0	2	2,0	13,0 ± 0,21	0
	Д	Висока	100	1	1,0*	1	1,0	12,82 ± 0,24	0
6/07	К	-	100	0	0	1	1,0	11,97 ± 0,15	0
	Д	Висока	200	1	0,50*	1	0,50	11,56 ± 0,21	0
6a/07	К	-	100	1	1,0	0	0	12,94 ± 0,24	0
	Д	Висока	100	1	1,0	1	1,0*	13,66 ± 0,30	0

Примітки: 1. К, Д – варіанти контролю та досліду; 2. * – відмінності між контролем та дослідом достовірні при $p < 0,05$.

У високоприсосованих F₁ їх частка в порівнянні з контролем або зростала, або знижувалась, часто на рівні тенденції (див. табл. 2). Зростання сумарної частоти хіазм в несприятливих умовах відбувалося у низькоприсосованих гетерозигот (див. табл. 2). Нетипові біваленти були присутні в мейозі також у даній категорії гібридів, проте лише в двох випадках (див. табл. 2). Таким чином, в цілому відмінності між низько- і високоприсосованими гетерозиготами полягали в істотному зростанні частоти мостів, хіазм в умовах конкуренції та зниженого вологозабезпечення і наявності в мейозі нетипових бівалентів (табл. 3).

Таблиця 3.

Середні значення частоти обмінних порушень, хіазм та кількості нетипових бівалентів на мейоцит у F₁ кавуна з різною онтогенетичною пристосованістю (2006–2007 рр.)

Онтогенетична пристосованість F ₁	Варіант	Досліджено клітин	Частота порушень в анафазі I				Сумарна частота хіазм на мейоцит	Кількість нетипових бівалентів на мейоцит
			мостів		фрагментів			
			клітин з порушеннями	%	клітин з порушеннями	%		
Низька	К	650	1	0,15	3	0,46	12,74 ± 0,11	0,047 ± 0,003#
	Д	800	14	1,75*#	5	0,63	13,68 ± 0,11*#	0,042 ± 0,003#
Висока	К	720	1	0,14	5	0,69	12,44 ± 0,10	0
	Д	700	3	0,43	4	0,57	12,19 ± 0,11	0

Примітки: 1. К, Д – варіанти контролю та досліджу; 2.* – відмінності між контролем та дослідом достовірні при $p < 0,05$; 3. # – відмінності між високо- та низькопристосованими гібридами достовірні при $p < 0,05$.

Обговорення

Таким чином, результати наших досліджень вказують на те, що кросинговер у гібридів з низькою онтогенетичною пристосованістю характеризується меншою точністю в несприятливих умовах середовища, про що свідчить зростання частоти мостів в анафазі I. Згідно із загальноприйнятою гіпотезою «розрив – з'єднання», яка пояснює перебіг кросинговеру, не виключено, що в даному випадку зростає частота розривів ДНК, які, в свою чергу, не репаруються, а також порушується процес розриву та з'єднання хроматид (Смирнов, 1991). З іншого боку, не виключено, що низька частота аберацій пов'язана з менш консервативною взаємодією гомологічних хромосом у гібридів з високою пристосованістю в онтогенезі. Це підтверджено нами раніше на рівні показників електрокінетичних властивостей ядерного геному, які залишались високими у рослин високопристосованих гетерозигот незалежно від умов вирощування (Монтвід і др., 2002). Як наслідок, зберігається цілісність хромосом, відсоток аберацій не збільшується, а частота й точність кросинговеру у гібридів з високою онтогенетичною пристосованістю не змінюється, що підтверджується на рівні сумарної частоти хіазм. Виявлені нами закономірності підтверджують і поглиблюють гіпотезу про менш ефективну роботу системи репарації пошкоджень у низькопристосованих гетерозигот, що відображується на процесі кросинговеру (Самовол і др., 1987).

Слід зазначити, що встановлена нами наявність нетипових бівалентів (які мають три хіазми) у гібридів з низькою онтогенетичною пристосованістю, яка не спостерігається у високопристосованих гетерозигот, свідчить про зниження інтерференції хіазм (більш випадковий їх розподіл) (Лисовская, 1994). В результаті не виключено проходження кросоверних обмінів в «заборонених» зонах хромосом, де вони в нормі не відбуваються (в даному випадку в прицентромірних зонах). Це може призводити до формування нетрадиційних рекомбінантів в наступних поколіннях (Лисовская, 1994).

Одержані результати в цілому узгоджуються з даними, отриманими нами раніше для баклажана, проте у кавуна в несприятливих умовах, на відміну від баклажана, частота фрагментів не змінюється (Монтвід, 2006). Можливо, це пов'язано з видовими особливостями мейозу й перехресним запиленням.

Таким чином, не виключено, що умовою для формування нового спектру рекомбінантів, який може спостерігатися в потомствах гетерозигот з низькою онтогенетичною пристосованістю, є зростання сумарної частоти обмінів, їх перерозподіл в межах бівалента, у тому числі в «заборонені зони», та більш випадковий їх розподіл в межах окремого мейоциту, а також зниження точності кросинговеру.

Список літератури

- Боос Г.В., Бади́на Г.В., Буренин В.М. Гетерозис овощных культур. – Москва: Агропромиздат, 1990. – 223с.
- Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. – Кишинев: Штиинца, 1980. – 586с.
- Жученко А.А., Грати В.Г., Андрищенко В.К., Грати М.И. Индуцирование хромосомных перестроек и локализация генов, контролирующих некоторые хозяйственно-ценные признаки в геноме томатов // Изв. АН Молдавской ССР. Сер. Биол. и хим. наук. – 1980. – №4. – С. 24–30.
- Жученко А.А., Тярина В.С., Самовол А.П., Пассат Л.Е. Конкурентоспособность гибридов F₁ в экстремальных условиях среды и выход рекомбинантных форм в F₂ // Труды II Всесоюз. конф. «Экологическая генетика животных и растений». – Кишинев: Штиинца, 1984. – С. 116–117.

Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352с.

Левчук Л.В., Тоцький В.М. Заміщення хромосом і пристосованість *Drosophila melanogaster* // Цитологія і генетика. – 1998. – Т.32, №2. – С. 42–48.

Лисовская Т.П. Влияние почвенной засухи на рекомбинацию и селективную элиминацию у томата. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Санкт-Петербург, 1994. – 19с.

Монтвід П.Ю. Особливості кросинговеру у гібридів F_1 баклажана з різною онтогенетичною пристосованістю // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер. Біологія. – 2006. – Вип.1. – С. 96–103.

Монтвід П.Ю., Самовол А.П., Шахбазов В.Г., Чепель Л.М. Связь приспособленности гибридов F_1 баклажана с электрокинетическими свойствами клеточных ядер / Матеріали міжнародної конференції «Селекція рослин на основі генетичних методів» // Овочівництво і баштанництво. – 2002. – Вип.47. – С. 7–8.

Самовол А.П. Прогноз уровня и спектра генотипической изменчивости в F_2 на основе оценки гетерозигот F_1 по степени онтогенетической приспособленности: Методические указания. – Кишинев, 1992. – 31с.

Самовол А.П., Тяриня В.С., Гарбуз Л.И. Влияние конкурентоспособности гибридов F_1 на воспроизводящую и преобразующую функцию мейоза // Тез. докл. конф. «Экологическая генетика животных и растений». – Кишинев: Штиинца, 1987. – С. 45–46.

Самовол А.П., Юрченко А.П., Куракса Н.П. Взаимосвязь между онтогенетической приспособленностью гибридов F_1 и спектром изменчивости генотипической структуры расщепляющихся популяций разных по приспособленности гетерозигот под действием экстремальных факторов среды (перец сладкий) // Овочівництво і баштанництво. – Харків, 1999. – Вип.43. – С. 32–42.

Смирнов В.Г. Цитогенетика. – М.: Наука, 1991. – 247с.

Tuscan G.A. Inherent differences in family response to inter-family competition in loblolly pine // *Silvae genet.* – 1986. – Vol.35, № 2–3. – P. 112–118.

Особенности кроссинговера у гибридов F_1 арбуза (*Citrullus lanatus*) с разной онтогенетической приспособленностью П.Ю.Монтвід

Проведены исследования цитологических критериев, которые характеризуют процесс кроссинговера, у гибридов F_1 арбуза с разной онтогенетической приспособленностью. У растений низкоприспособленных гетерозигот выявлено повышение частоты нетипичных бивалентов в раннем диакинезе, мостов в анафазе I в экстремальных условиях. Сделан вывод о снижении точности кроссинговера и интерференции обменов у гибридов с низкой онтогенетической приспособленностью, что может быть механизмом формирования дополнительного спектра генотипической изменчивости в последующих поколениях.

Ключевые слова: *арбуз, хиазма, бивалент, мост, фрагмент, кроссинговер.*

Regularities of crossing-over in watermelon (*Citrullus lanatus*) F_1 hybrids with different ontogenetical fitness P.Yu.Montvid

Investigations of cytological criteria, which characterize the process of crossing-over, in watermelon F_1 hybrids with different ontogenetical fitness were conducted. In plants of low-fitted heterozygotes the frequency of untypical bivalents in early diakinesis, bridges in the anaphase I under extreme conditions were revealed. The conclusion is drawn about reduction of exchanges of crossing-over and interference of chiasmata in hybrids with low ontogenetical fitness, which may be a mechanism of formation of the additional spectrum of genotypic variability in the next generations.

Key words: *watermelon, chiasma, bivalent, bridge, fragment, crossing-over.*

Представлено: С.Ю.Діденко
Рекомендовано до друку: А.В.Некрасовою