

УДК 633.854.78:631.527.5

**ОСОБЕННОСТИ ПРОХОЖДЕНИЯ МЕЙОЗА  
У МЕЖВИДОВОГО ГИБРИДА  
*HELIANTHUS NEGLECTUS* × *HELIANTHUS ANNUUS***

© 2009 г. Т. А. Долгова

*Национальный фармацевтический университет  
(Харьков, Украина)*

Изучали поведение хромосом в мейозе у межвидового гибрида F<sub>1</sub>, полученного при скрещивании однолетнего диплоидного вида *H. neglectus* Heiser с культурным подсолнечником *H. annuus* X 1006-Б. В диакинезе гибрида F<sub>1</sub> наблюдали 97,3 % клеток с 17 бивалентами. Дальнейший мейоз проходил с большим количеством нарушений, максимальная частота которых приходилась на анафазы мейоза I и II (78, 6 и 94,5 % соответственно). В результате 23,9 % тетрад имели нарушения. Проведено сравнение нарушений мейоза с полученными ранее гибридами F<sub>1</sub> *H. praecox* × *H. annuus* X 1006-Б и *H. annuus* ANN 1064 (дикий) × *H. annuus* X 1006-Б.

**Ключевые слова:** *Helianthus L.*, межвидовая гибридизация, мейоз

Род *Helianthus L.* по общепризнанной классификации Шиллинга и Хейзера (1981) включает 49 дикорастущих североамериканских видов, разделенных на 4 секции (*Helianthi* и *Agrestes* – однолетние виды, *Ciliares* и *Divaricati* – многолетние). Этот род представлен четко выраженным полиплоидным рядом. Он включает диплоидные (2n=34), тетраплоидные (2n=68) и гексаплоидные (2n=102) виды. К диплоидам относятся культурный подсолнечник (*H. annuus*), все однолетние дикорастущие формы и большинство многолетних видов.

Дикие виды рода *Helianthus* являются потенциальными источниками генов устойчивости к болезням и вредителям, неблагоприятным условиям произрастания, а также генов, контролирующих качество семян, ЦМС и Rf-генов, что позволяет использовать дикие виды с целью интрогрессии чужеродного генетического материала в геном культурного подсолнечника (Гаврилова и др., 2003). Исследованиями ряда авторов (Георгиева-Тодорова, 1990; Попов и др., 2005б; Heiser et al., 1962; Heiser et al., 1964) показано, что культурный подсолнечник легко скрещивается с однолетними диплоидными видами, трудно или почти не скрещивается с мно-

голетними видами. Жизнеспособность пыльцы полученных межвидовых гибридов (МВГ) зависит от нарушений поведения хромосом в мейозе. Поэтому анализ мейоза у гибридов является необходимым условием при межвидовой гибридизации. Кроме того, анализ микроспорогенеза и пыльцевой жизнеспособности у МВГ важен для определения филогенетических взаимоотношений в роде *Helianthus*. Так, анализ мейоза и жизнеспособности пыльцы МВГ подсолнечника показал, что однолетние диплоидные виды различаются 0-6 транслокациями и 0-8 парацентрическими инверсиями. Это свидетельствует о том, что основное хромосомное число подсолнечника (n=17) произошло от разных геномов (Chandler et al., 1986).

К настоящему времени изучено нарушение мейоза и снижение жизнеспособности пыльцы гибридов F<sub>1</sub> между культурным подсолнечником и *H. argophyllus* (Georgieva-Todorova, 1993; Quillet et al., 1995), *H. petiolaris* (Georgieva-Todorova, 1993), *H. bolanderi* (Hristova, 2004), *H. praecox* (Юшкина и др., 2009; Vassilevska-Ivanova et al., 1993), *H. debilis* (Georgieva-Todorova, 1993), диким *H. annuus* (Dolgova et al., 2007). Результаты исследований показали, что *H. annuus*, *H. argophyllus*, *H. debilis* и *H. petiolaris* в скрещиваниях с культурным подсолнечником имеют меньше нарушений мейоза и более жизнеспособную пыльцу

по сравнению с *H. bolanderi* и *H. praecox*. В скрещиваниях культурного подсолнечника с двумя разными популяциями *H. neglectus* была выявлена низкая фертильность пыльцы гибридов F<sub>1</sub> (5,1 и 6,3%) (Atlagic, 1990). Данные по изучению поведения хромосом в мейозе у МВГ *H. neglectus* × *H. annuus* в литературе представлены фрагментарно. В связи с этим целью нашей работы было изучение особенностей прохождения мейоза у МВГ *H. neglectus* × *H. annuus*.

## МЕТОДИКА

В качестве материнской формы использовали однолетний диплоидный вид *H. neglectus* Heiser (NEG-1086), полученный из Северо-американской опытной станции. Отцовской формой была инбредная линия культурного подсолнечника *H. annuus* X 1006-Б селекции Института растениеводства им. В.Я. Юрьева, которая является закрепителем стерильности и используется для создания большинства коммерческих гибридов института. Для получения МВГ у материнских форм в утренние часы в течение 3-4 дней удаляли тычинки путем ручной кастрации, затем эти растения опыляли пыльцой отцовской формы.

Для изучения мейоза у гибридов F<sub>1</sub> вырезали сегменты корзинок с пыльниками на R<sub>2</sub> стадии онтогенеза (Schneider, 1981), фиксировали в уксусном спирте (1:3) в течение 12 часов. Затем трижды промывали этиловым спиртом и оставляли на хранение в 70% растворе этилового спирта при температуре +4°C. Окрасивание хромосом материнских клеток пыльцы проводили реактивом Шиффа (фуксинсернистая кислота) по Фельгену (Паушева, 1988). Мейоз изучали на давленных в капле 2% ацетокармина временных препаратах.

Статистическую значимость различий между выборочными долями оценивали с помощью *F*-критерия Фишера (Лакин, 1980). В таблицах приведены ошибки долей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для сравнения мейоза гибрида *H. Neglectus* × *H. annuus* X 1006-Б в таблицах приведены полученные нами ранее данные (Dolgova et al., 2007) по изучению мейоза у МВГ *H. Praecox* × *H. annuus* X 1006-Б и *H. annuus* ANN 1064 (дикий) × *H. annuus* X 1006-Б. Результаты изучения поведения хромосом у гибридов F<sub>1</sub> в диакинезе представлены в табл. 1. На этой стадии мейоза у гибрида *H. neglectus* × *H. annuus*

встречались несколько типов конъюгации хромосом. Наиболее часто – биваленты (97,3 % клеток, рисунок). В большинстве случаев биваленты были открытые (в виде цепочек), реже закрытые (в форме колец), среднее количество последних в мейоцитах составило 5,0±2,5. Уровень синапсиса хромосом (количество хиазм на клетку и на бивалент, количество закрытых бивалентов в клетке) у гибрида *H. neglectus* × *H. annuus*, как и у *H. annuus* (дикий) × *H. annuus*, был более высоким и достоверно превышал эти показатели у гибрида *H. praecox* × *H. annuus*. Другие типы хромосомных ассоциаций встречались в единичных мейоцитах и были представлены одним тетравалентом в клетке (15<sub>II</sub> + 1<sub>IV</sub>) и одной добавочной хромосомой (18<sub>II</sub>).

Количество клеток с нарушениями в метафазе I у гибрида *H. neglectus* × *H. annuus* увеличилось до 24,8 %. Все нарушения на этой стадии мейоза были представлены 1-5 хромосомами, находящимися вне экваториальной пластинки (рисунок). При последующем анафазном движении наблюдали отставание хромосом (73,8 % клеток), образование мостов и сочетание мостов с отстающими хромосомами (4,8 %). Отстающими были 1-5 хромосом или 2-6 гомолога. Мейоз I у гибрида *H. neglectus* × *H. annuus* заканчивался образованием 45 % клеток с отстающими хромосомами.

Во втором делении мейоза наблюдались в основном те же отклонения в поведении хромосом, что и в первом. В метафазе II 11 % клеток содержали мост между двумя экваториальными пластинками, 30,1 % клеток – хромосомы вне экваториальной пластинки и 37 % клеток сочетали в себе оба этих нарушения. Максимальное (94,5 %) количество клеток с нарушениями в поведении хромосом наблюдали на стадии анафазы II (табл. 2). На этой стадии мейоза преобладали клетки с отстающими хромосомами (71,4 %), незначительное количество клеток было с мостами (2,2 %), 20,9 % клеток имели мосты и отстающие хромосомы. На стадии четырех ядер наблюдали снижение количества клеток с нарушениями до 28,7 %. Вероятнее всего, большая часть поврежденных клеток из анафазы II не перешла к следующей стадии мейоза. Основным типом нарушений в телофазе II было отставание 1-5 хромосом (22,3 % клеток), 5,4 % клеток содержали микроядра, 3 % клеток имели 3 или 5 ядер.

Второе деление мейоза у подсолнечника заканчивается образованием тетрад по симультанному (одновременному) типу с избыточным расположением микроспор (рисунок).

Таблица 1

Уровень конъюгации хромосом и частота хромосомных ассоциаций на стадии профазы мейоза I

Гибриды F <sub>1</sub>	Всего изучено клеток, шт.	Количество хвост на мейоцит		Количество закрытых бивалентов в клетке	17п, %	Униваленты, %		Тетраваленты, %		Гексаваленты, %	Другие нарушения, %
		на мейоцит	на бивалент			16п+2i	15п+4i	15п+1iv	13п+2iv		
<i>H. neglectus</i> × <i>H. annuus</i> X1006-Б	73	22,15±4,86	1,30±1,30	5,03 ±2,51	97,3±1,9	0	0	1,4±1,4	0	0	1,4±1,4
<i>H. annuus</i> ANN-1064 × <i>H. annuus</i> X1006-Б	287	22,02±0,12	1,30±0,01	4,99 ±0,12	87,1±2,0	1,0±0,6	0	0,3±0,3	0	0	11,5±1,9
<i>H. praecox</i> × <i>H. annuus</i> X1006-Б	192	19,72±0,11	1,16±0,01	2,67 ±0,10	79,2±2,9	9,4±2,1	2,1±1,0	4,7±1,5	0,5±0,5	1,0±0,9	3,1±1,3

Таблица 2

Частота материнских клеток пыльцы с нарушениями на разных стадиях мейоза у межвидовых гибридов подсолнечника

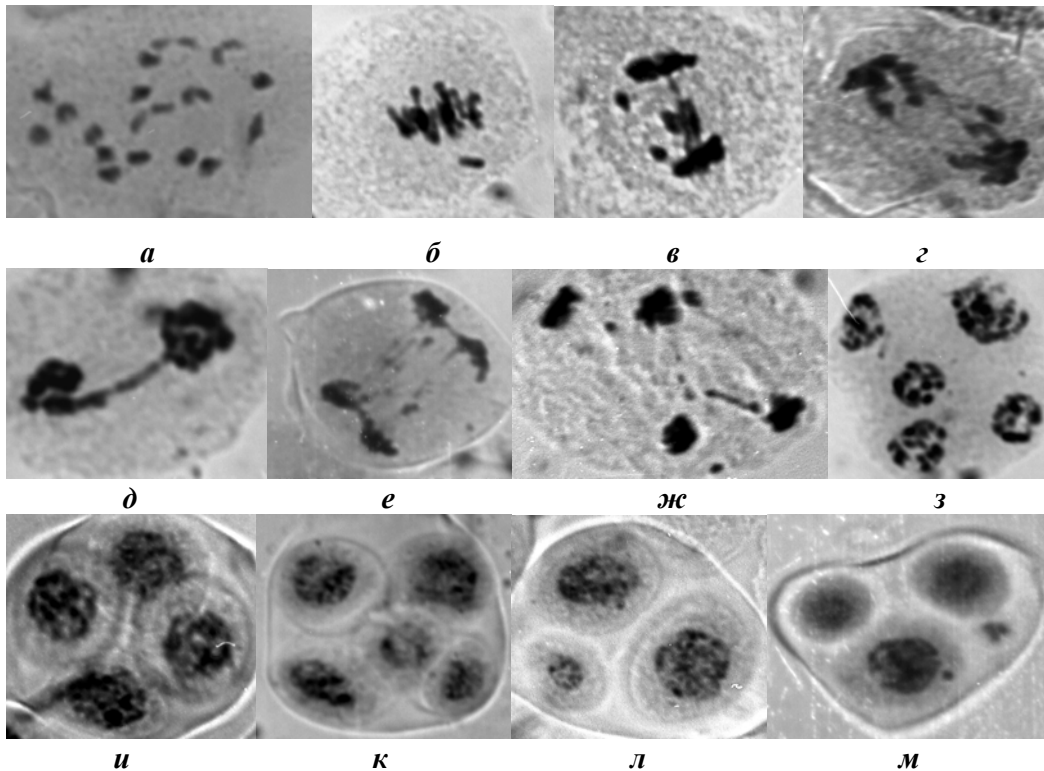
Гибриды F <sub>1</sub>	Изучено клеток на разных стадиях мейоза		Профаза I		Метафаза I		Анафаза I		Телофаза I		Метафаза II		Анафаза II		Телофаза II		Тетрады	
	всего	с нарушениями, %	всего	с нарушениями, %	всего	с нарушениями, %	всего	с нарушениями, %	всего	с нарушениями, %	всего	с нарушениями, %	всего	с нарушениями, %	всего	с нарушениями, %	всего	с нарушениями, %
<i>H. neglectus</i> × <i>H. annuus</i> X1006-Б	1083	38,6±1,5	73	2,7±1,9	101	24,8±4,7	84	78,6±4,5	100	45,0±5,0	73	78,1±4,8	91	94,5±2,4	202	28,7±3,2	368	23,9±2,2
<i>H. annuus</i> ANN-1064 × <i>H. annuus</i> X1006-Б	4343	8,9±0,4*	287	12,9±2,0	603	17,1±1,5	533	11,6±1,4	459	2,61±0,7	432	8,1±1,3	399	6,8±1,3	493	2,6±0,7	1137	8,5±0,8*
<i>H. praecox</i> × <i>H. annuus</i> X1006-Б	2811	29,6±0,9*	192	20,8±2,9	401	25,2±2,2	256	41,1±3,1	249	32,9±3,0	237	44,4±3,2	327	63,0±2,7	370	19,5±2,1	671	10,6±1,2*

Примечание. \* - достоверно отличается от *H. neglectus* × *H. annuus* X1006-Б при P ≤ 0,001

Таблица 3

Частота нормальных и дефектных тетрад микроспор у межвидовых гибридов подсолнечника

Гибриды F <sub>1</sub>	Всего изучено клеток, шт.	Средняя частота тетрад, %		Монады, %	Диады, %	Триады, %	Полнады, %	Другие нарушения, %
		норма	с микроядрами					
<i>H. neglectus</i> × <i>H. annuus</i> X1006-Б	368	76,1±2,2	13,6±1,8	0	1,9±0,7	6,0±1,2	0,8±0,5	1,6±0,7
<i>H. annuus</i> ANN-1064 × <i>H. annuus</i> X1006-Б	1137	91,5±0,8	0,4±0,2	0,3±0,2	0,1±0,1	1,0±0,3	6,0±0,7	0,7±0,2
<i>H. praecox</i> × <i>H. annuus</i> X1006-Б	671	89,4±1,2	6,8±1,0	0	0,9±0,4	1,0±0,4	1,2±0,4	0,6±0,3



**Микрофотографии мейоза у межвидового гибрида *H. neglectus* × *H. annuus*:** а – 17 бивалентов в диакинезе, б – хромосома вне метафазной пластинки, в – мост с отстающими хромосомами в анафазе I, г – отстающие хромосомы в анафазе I, д – мост в метафазе II, е – мосты и отстающие хромосомы в анафазе II, ж – отстающие хромосомы в телофазе II, з – 5 ядер в телофазе II, и – нормальная тетрада, к – пентада, л – триада, м – тетрада с неравными ядрами и микроядром.

Результаты формирования нормальных и дефектных тетрад микроспор у гибридов представлены в табл. 3. Несмотря на высокую частоту аномалий в мейозе, у гибрида *H. neglectus* × *H. annuus* преобладали внешне нормально развитые тетрады (76,1 %). Остальные клетки были представлены большей частью тетрадами с микроядрами (13,6 %). 1,9 и 6 % клеток приходились соответственно на диады и триады, 0,8 % – на пентады, 1,6 % тетрад имели неравные ядра.

Таким образом, исследование поведения хромосом в мейозе у гибрида *H. neglectus* × *H. annuus* выявило, что, несмотря на внешне полную конъюгацию хромосом в диакинезе, последующие стадии мейоза проходили с многочисленными нарушениями. Количество нормально сформированных тетрад у гибрида *H. neglectus* × *H. annuus* (76,1 %) было достоверно ниже этого показателя у гибридов *H. annuus* (дикий) × *H. annuus* (91,5 %) и *H. praecox* × *H. annuus* (89,4 %). Завязываемость семян при скрещивании с культурным подсолнечником составила у *H. neglectus*  $34,6 \pm 2,2$  % (Попов и др., 2005а), у *H. annuus* (дикий) – 79,8 %, у

*H. praecox* – 61,3 % (Попов и др., 2005б). Несмотря на большое количество нарушений в диакинезе у гибрида *H. praecox* × *H. annuus*, вид *H. praecox*, вероятно, является более близким к культурному подсолнечнику, чем *H. neglectus*, в диакинезе МВГ которого не было видимых нарушений. Результаты наших предыдущих исследований (Dolgoва et al., 2007) и данной работы согласуются с результатами молекулярного анализа хлоропластной ДНК и ядерных рибосомальных генов, полученными Райзерберг с соавт. (Rieserberg et al., 2007), свидетельствующими о том, что *H. argophyllus* является более близким видом к *H. annuus*, чем *H. neglectus* и *H. praecox*.

## ЛИТЕРАТУРА

- Гаврилова В.А., Анисимова И.Н. Генетика культурных растений. Подсолнечник. – СПб.: ВИР. – 2003. – 209 с.
- Георгиева-Тодорова Й. Генетични и цитогенетични изследвания на род *Helianthus* L. – София: Българската академия на науките, 1990. – 132 с.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1980. – 294 с.

## ОСОБЕННОСТИ ПРОХОЖДЕНИЯ МЕЙОЗА

- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – 217 с.
- Попов В.Н., Юшкина Л.Л., Скрещиваемость диких видов подсолнечника с инбредными линиями и развитие незрелых зародышей в условиях *in vitro* // Сб. докл. 3-й между нар. конф. молод. ученых и специалистов «Актуальные вопросы селекции, технологии и переработки технических культур». – Краснодар, 2005а. – С. 42-46.
- Попов В.Н., Юшкина Л.Л., Шарытина Я.Ю., Кириченко В.В. Генотипические особенности скрещиваемости культурного подсолнечника с дикими видами и использование эмбриокультуры при отдаленной гибридизации // Цитология и генетика. – 2005б. – Т. 39, №1 – С. 3-8.
- Юшкина Л.Л., Нестерова Е.В., Кириченко В.В. и др. Цитогенетическое изучение межвидового гибрида *Helianthus praecox* × *H. annuus*, его родительских форм и двух беккроссов // Цитология и генетика. – 2009. – Т. 43, №1. – С. 42-47.
- Atlagic J. Pollen fertility in some *Helianthus* L. species and their F<sub>1</sub> hybrids with the cultivated sunflower // *Helia*. – 1990. – №13. – P. 47-54.
- Chandler J., Jan C.C., Beard H. Chromosomal differentiation among the annual *Helianthus* sp. // *Systematic Botany*. – 1986. – V. 11, №1. – P. 354-371.
- Dolgova T.A., Yushkina L.L., Popov V.N. Cytogenetic study of F<sub>1</sub> interspecific hybrids of the section *Helianthus* // *Helia*. – 2007. – V. 30, №47. – P.51-60.
- Georgieva-Todorova J. Interspecific hybridization and its application in sunflower breeding // *Biotechnology & Biotechnological equipment*. – 1993. – №4. – P. 153-157.
- Heiser C.B., Martin W.C., Smith D.M. Species crosses in *Helianthus*. I. Diploid species // *Brittonia*. – 1962. – V. 14. – P. 137-147.
- Heiser C.B., Smith D.M. Species crosses in *Helianthus*. II. Polyploid species // *Rhodora*. – 1964. – V. 66, №768. – P. 344-358.
- Hristova-Cherbadzi M.M. Hybridization of cultivated sunflower *Helianthus annuus* with wild annual species *Helianthus bolanderi*, *Helianthus neglectus*, *Helianthus petiolaris* // 16<sup>th</sup> International Sunflower Conference. – Fargo: ND USA, 2004. – P. 699-707.
- Quillet M.C., Madjidian N., Griveau Y. et al. Mapping genetic factors controlling pollen viability in an interspecific cross in *Helianthus* sect. *Helianthus* // *Theor. Appl. Genet.* – 1995. – V. 91. – P. 1195-1202.
- Rieseberg L.N., Kim S.-C., Randell R.A. et al. Hybridization and the colonization of novel habitats by annual sunflowers // *Genetica*. – 2007. – V.129. – P. 149-165.
- Schilling E.E., Heiser C.B. Infrageneric classification of *Helianthus* (Compositae) // *Taxonomy*. – 1981. – №30. – P. 393-403.
- Schneiter A., Miller J. Description of sunflower growths stages // *Crop Sci.* – 1981. – V. 21. – P. 901-903.
- Vassilevska-Ivanova R., Telbizova T. Hybridization of *Helianthus praecox* ssp. *praecox* Engl. & Gray (2n=34) with cultivated sunflower *Helianthus annuus* L. (2n=34) III. Cytological studies on backcross and sib-pollinated generation // *Biotechnology & Biotechnological equipment*. – 1993. – №4. – P. 139-141.

Поступила в редакцию  
09.02.2009 г.

## THE PECULIARITIES OF MEIOSIS PASSING IN INTERSPECIFIC HYBRID *HELIANTHUS NEGLECTUS* × *HELIANTHUS ANNUUS*

T. A. Dolgova

*National Pharmaceutical University  
(Kharkiv, Ukraine)*

Chromosome behavior in meiosis was studied in interspecific hybrid F<sub>1</sub> obtained crossed annual diploid species *H. neglectus* Heiser with the cultivated sunflower *H. annuus* X 1006-Б. There indicated 97,3 % cells with 17 bivalents in diakinesis of hybrid F<sub>1</sub>. Further meiosis passed with high amount of disorders, maximum frequency of which were in meiosis anaphase I and II (78, 6 and 94,5 % respectively). As a result of 23,9 % tetrads were anomalous. The comparison of disorders of meiosis were carried out with early obtained hybrids F<sub>1</sub> *H. praecox* × *H. annuus* X 1006-Б and *H. annuus* ANN 1064 (wild) × *H. annuus* X 1006-Б.

**Key words:** *Helianthus* L., interspecific hybridization, meiosis

**ДОЛГОВА**

**ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ МЕЙОЗУ У МІЖВИДОВОГО ГІБРИДА  
*HELIANTHUS NEGLECTUS* × *HELIANTHUS ANNUUS***

Т. А. Долгова

*Національний фармацевтичний університет  
(Харків, Україна)*

Вивчали поведінку хромосом у мейозі у міжвидового гібрида F<sub>1</sub>, який був отриманий від схрещування однорічного диплоїдного виду *H. neglectus* Heiser з культурним соняшником *H. annuus* X 1006-Б. У діакінезі гібрида F<sub>1</sub> спостерігали 97,3% клітин з 17 бівалентами. Подальший мейоз проходив зі значною кількістю порушень, максимальна частота яких припадала на анафази мейозу I і II (78,6 та 94,5 % відповідно). У результаті 23,9% тетрад були з порушеннями. Проведено порівняння порушень мейозу з отриманими раніше гібридами F<sub>1</sub> *H. praecox* × *H. annuus* X 1006-Б та *H. annuus* ANN 1064 (дикий) × *H. annuus* X 1006-Б.

**Ключові слова:** *Helianthus L.*, міжвидова гібридизація, мейоз