

# TEADUSTÖÖD

## SUVINISU SORTIDE JA LIIKIDE VAHELISTE HÜBRIIDIDE BIOLOOGILISED JA TSÜTOGENEETILISED ISEÄRASUSED. I. LIIKIDEVAHELISTE HÜBRIIDIDE F<sub>1</sub> KROMOSOOMIDE KONJUGEERIMINE MEIOOSIS

T. Enno, H. Peuša, O. Priilinn

**SUMMARY:** *Chromosome Pairing Behaviour in Interspecies Wheat Hybrids F<sub>1</sub>.* In an attempt to transfer disease resistance gene(s) the tetraploid wheat species *Triticum timopheevii* and *T. militinae* were crossed as male parents to common wheat, *Triticum aestivum* cultivars 'Fagot', 'Heta', 'Bastian', 'Satu', 'Apu', 'Tjalve', 'Runar' and 'Laari'. Cytological analysis of meiosis in wide hybrids F<sub>1</sub> and parent species was undertaken. Microsporogenetic meocytes of pentaploid hybrid plants F<sub>1</sub> (2n=35) had a different frequency of univalents, ranging from 3 to 23, and bivalents, ranging from 5 to 16. The number of bivalents, exceeding 7 (which were formed after pairing of chromosomes belonged to the A-genomes of both parents) permits to assume that conjugation of chromosome belonged to B- and G-genomes also had place. The frequency of multivalent formation varied from 0,10 to 0, 57 per pollen mother cell.

Tetraploidsetel nisuliikidel *Triticum timopheevii* Zhuk. ja *T. militinae* Zhuk. et Migusch. on eriline koht *Triticum*'i perekonna liikide seas. Neid iseloomustab suur vastupidavus haigustele ja kahjuritele (Žukovski, 1971; Feldman, 1977; Brown-Guedira *et al.*, 1997). Siiski on nende liikide kasutamine pehme nisu haiguskindluse aretuses raskendatud, sest ristatavate liikide vahel puudub täielik homoloogia, mis põhjustab häirete tõttu meioosis F<sub>1</sub> hübriidide steriilsust (Wagenaar, 1961, 1966; Feldman, 1966).

Pehme nisu nõrga haiguskindlusega sordi 'Saratovskaja 29' ristamisel ülalnimetatud nisu tetraploidsete liikide kui haiguskindluse doonoritega saadi EPMÜ Eksperimentaalbioloogia Instituudis jahukastele ja pruunroostele vastupidavad introgressiivsed liinid (Peuša *et al.*, 1995, 1996). Probleemi edasiseks uurimiseks ja aretusmaterjali saamiseks ristati skandinaavia päritoluga pehme nisu sorte liikidega *T. timopheevii* ja *T. militinae*. Käesolevas artiklis esitatakse rootsi, soome ja norra nisusortide tetraploidsete liikidega ristamisest saadud F<sub>1</sub> pentaploidsete hübriidide meioosi tsütoloogilise analüüsi tulemused.

### Materjal ja meetodika

Pehme nisu *Triticum aestivum* (2n=6x=42, genoomi vormel AABBDD) sordid 'Fagott', 'Satu', 'Tjalve' (Rootsi), 'Heta', 'Apu', 'Laari' (Soome), 'Bastian', 'Runar' (Norra) võeti emasordiks ja ristati tetraploidsete liikidega *T. timopheevii* ja *T. militinae* (2n=4x=28, genoomi vormel AAGG). Tetraploidsete nisude seeme saadi Ülevenemaalisest N. Vavilovi nim. Taimekasvatuse Instituudist (St. Peterburg), Skandinaaviamaade sortide seeme Jõgeva Sordiaretuse Instituudist. Emataimede pead kastreeriti, isoleeriti pärgamentisolaatoritega ning emaka valmidusel tolmu vastuvõtmiseks asetati isolaatori alla isataimede pead. Vahesol hulgal saadud hübriidsetest teradest kasvatati üles esimese hübriidse põlvkonna taimed (F<sub>1</sub>). Nendelt taimedelt võetud noored pead fikseeriti atsetalkoholis (1:3), tolmukad värviti atsetokarmiiniga ja ajutistel preparaatidel analüüsiti valgusmikroskoobi "Axioskop" all kromosoomide konjugatsiooni meioosi esimese jagunemise metafaasis (MI). Tolmuka emarakkudel tehti kindlaks univalentide, bivalentide ja multivalentide arv, samuti kiasmide sagedus ja kromosoomide assotsiatsioonide tüübid.

## Tulemused ja arutelu

Tsütoloogiline analüüs näitas, et nii tetraploidsete nisuliikide *T. timopheevii* ja *T. militinae* kui ka pehme nisu sortide 'Fagott', 'Satu', 'Tjalve', 'Heta', 'Apu', 'Laari', 'Bastian' ja 'Runar' meiotiline jagunemine kulges häireteta, täheldati vaid vähene arv lahtisi bivalente ja univalente, täielikult puudusid multivalentid (tabel). Pentaploidsetel  $F_1$  hübriididel ( $2n=35$ ) täheldati univalentide arvu tõusu – 3-st kuni 23-ni (keskmiselt 10,8...14,5 raku kohta). Bivalentide sagedus varieerus 5 ja 16 vahel (keskmiselt 9,4...11,9 meiotüüdi kohta). Suletud bivalente raku kohta oli maksimaalselt 5,8, lahtisi bivalente 8,2. Kiasmide sagedus oli  $F_1$  hübriididel tunduvalt madalam kui lähtevanematel. Hübriididel varieerus see näitaja 13,5 ja 17,6 vahel, sortidel ja liikidel oli vastavalt 41,5 ja 27,1.

Pehme nisu ristamisel tetraploidsete liikidega toimub meiosis genoomi A homologide konjugatsioon, mis on ühine neile liikidele, moodustades 7 bivalenti. Pehme nisu genoomid B ja G ning tetraploidsete liikide G genoom jäävad homologide puudumise tõttu nende vahel univalentidesse seisu või moodustavad multivalente. Seega võib pentaploidsete hübriidide  $F_1$  genoomi vormeli esitada järgmisel kujul:  $(A7+A7) B7D7G7$ . Samasugused andmed saadi meie varasemates uurimustes pehme nisu sortide 'Chinese Spring' ja 'Saratovskaja 29' ristamisel tetraploidsete liikidega (Šnaider, Peuša, 1982), kusjuures  $F_1$  hübriididel moodustus meiosis MI-s 6,9...7,2 bivalenti tolmu emaraku kohta.

Hübriidsetes kombinatsioonides täheldati enim bivalente hübriididel 'Laari'  $\times$  *T. militinae* (11,4 bivalenti raku kohta), 'Bastian'  $\times$  *T. timopheevii* (11,5 bivalenti) ja 'Bastian'  $\times$  *T. militinae* (11,9 bivalenti). Rakkude protsent multivalentidega oli neil hübriididel madal – vastavalt 13,9, 22,5 ja 10,6. Kõige väiksemat bivalentide arvu raku kohta – 9,4 – täheldati hübriididel, mis saadi sordiga 'Tjalve'. Vähe bivalente oli ka hübriididel, mis saadi sortidega 'Apu' ja 'Fagott'. Nendes ristamiskombinatsioonides fikseeriti kõrge protsent rakke multivalentidega, sordi 'Tjalve' hübriidil 36,8, 'Apu' hübriidil 44,6 ja 50 ning 'Fagoti' hübriidil 32,1%.

$F_1$  hübriididel 9–11 bivalenti kujunemine 7 asemel on seletatav sellega, et konjugatsioon toimub mitte ainult A genoomi homologide vahel, vaid ka B ja G genoomi homologiliste kromosoomidega. *T. timopheevii* ja *T. militinae* osalusel saadud introgressiivsete liinide kromosoomide struktuuri analüüs diferentseeritud värvimise ja genoomse *in situ* hübriidiseerimise meetoditega näitas kromosoomide võõrasendusi ja retsiprookseid translokatsioone (Badaeva jt., 1995; Järve jt., 1996). Kaughübriidide  $F_1$  meiosis tsütoloogilise analüüsi tulemused kinnitavad kromosoomide retsiprooksete translokatsioonide esinemist, mida omakorda näitab multivalentsete assotsiatsioonide kõrge sagedus (10,6...50,0%).

*T. timopheevii* ja *T. militinae* ning pehme nisu sortide meiosis teine jagunemine kulges normaalselt, häireteta. Esimese põlvkonna hübriididel täheldati meiosis teise jagunemise anafaasis aberrantseid rakke sillakeste, fragmentide ja mahajäänud kromosoomidega. Ilmnes rakujagunemise asünkroonsus, mikrotoomade ilmumine diaadides ja tetraadides, samuti triaadide ja poliaadide kujunemine. Selle tulemusena vähenes fertiilse tolmu ja terade hulk.

*T. timopheevii* ja *T. militinae* liigid ei erinenud üksteisest kromosoomide käitumise poolest meiosis, mis on kooskõlas E. Badajeva (1988) uurimistulemustega. Nende liikide karüotüübi struktuur ja diferentseeritud värvimise pilt sarnanesid.

Saadud andmete alusel võib eeldada, et  $F_1$  kaughübriidide meiotiline ebastabiilsus on tingitud mitte ainult ristatavate liikide kromosoomide arvu erinevustest, vaid olulisel määral ka pehme nisu ristatavate sortide karüotüübi iseärasustest. Tabelist nähtub, et ristamiskombinatsioonides sortidega 'Apu' ja 'Tjalve' oli kromosoomide konjugeerimise tase madal, 'Laari' ja 'Bastiani' ristamiskombinatsioonis aga kõrge. See on tingitud tõenäoliselt erinevast desinapsise astmest ja kromosoomide homöoloogsest konjugeerimisest. Pehme nisu ristamisest tetraploidsete liikidega saadud hübriidide  $F_1$  meiotilist ebastabiilsust ja häireid meiosis on täheldanud mitmed uurijad (Shands, 1941; Maan, McCracken, 1968; Leontjev, Budaškina, 1980). F. Leontjev (1980) iseloomustab pehme nisu genotüübi osa *T. timopheevii*'ga ristamisest saadud  $F_1$  hübriidi kromosoomide konjugatsioon, näidates, et erinevate pentaploidsete hübriidide kromosoomide konjugeerimise aste avaldab mõju järgmistele põlvkondadele ja väljendub tsütoloogilise stabiliseerimise erinevas kiiruses, hübriidide eluvõimes ja fertiilsuses, mis viib erinevatele ristamiskombinatsioonide vahel *T. timopheevii* geneetilist materjali sisaldavate vormide arvus.

**Tabel 1.** Nisu kaughübriidide F<sub>1</sub> ja lähtesortide ning -liikide meioosi analüüs  
**Table 1.** Chromosome pairing behaviour at MI of meiosis in F<sub>1</sub> wide hybrids, their parent's cultivars and species

Sort, liik, hübriid <i>Cultivar, species, hybrid</i>	Tolmuka emarakkude arv <i>No PMCs</i>	Keskmine arv raku kohta / <i>Mean number per cell</i> *					
		Bivalente / <i>Bivalents</i>			Uni- valente <i>Univalents</i>	Multi- valente <i>Multi-valents</i>	Kiasme <i>Chiasmata</i>
		Sule- tud <i>Ring</i>	Avatud <i>Rod</i>	Kokku <i>Total</i>			
'Fagott' (Rootsi)	141	20,6	0,3	20,9 (20–21)	0,1 (0–2)	0	41,5 (39–42)
'Fagott' × <i>T. timopheevii</i>	56	4,5	6,3	10,8 (7–14)	12,1 (4–12)	0,3 (0–2)	16,1 (9–21)
'Heta' (Soome)	144	20,1	0,8	20,9 (20–21)	0,1 (0–2)	0	41,1 (38–42)
'Heta' × <i>T. militinae</i>	68	3,1	8,2	11,3 (9–15)	11,8 (8–17)	0,1 (0–1)	14,7 (9–17)
'Bastian' (Norra)	132	20,4	0,5	20,9 (20–21)	0,1 (0–2)	0	41,4 (38–42)
'Bastian' × <i>T. timopheevii</i>	71	3,7	7,8	11,5 (8–14)	11,1 (7–17)	0,2 (0–2)	15,8 (9–23)
'Bastian' × <i>T. militinae</i>	66	3,8	8,1	11,9 (9–14)	10,8 (7–17)	0,1 (0–1)	16,0 (11–21)
'Satu' (Rootsi)	118	20,5	0,4	20,9 (20–21)	0,1 (0–2)	0	41,5 (38–42)
'Satu' × <i>T. timopheevii</i>	62	5,5	5,6	11,1 (10–16)	11,5 (3–19)	0,3 (0–1)	17,5 (7–23)
'Apu' (Soome)	65	18,9	1,9	20,8 (20–21)	0,3 (0–2)	0	39,7 (37–42)
'Apu' × <i>T. timopheevii</i>	74	5,3	5,5	10,8 (5–14)	11,5 (8–21)	0,5 (0–1)	17,3 (6–21)
'Apu' × <i>T. militinae</i>	28	5,2	5,6	10,8 (7–14)	11,3 (7–19)	0,5 (0–1)	17,5 (10–22)
'Tjalve' (Rootsi)	111	20,3	0,6	20,9 (20–21)	0,1 (0–2)	0	41,3 (38–42)
'Tjalve' × <i>T. militinae</i>	87	4,0	5,4	9,4 (5–13)	14,5 (7–23)	0,4 (0–2)	13,5 (6–20)
'Runar' (Norra)	76	20,2	0,7	20,9 (20–21)	0,2 (0–2)	0	41,1 (38–42)
'Runar' × <i>T. timopheevii</i>	44	3,9	7,3	11,2 (7–14)	11,3 (7–17)	0,3 (0–2)	16,0 (10–22)
'Laari' (Soome)	65	19,6	1,3	20,9 (20–21)	0,1 (0–2)	0	40,5 (37–42)
'Laari' × <i>T. militinae</i>	43	5,8	5,6	11,4 (9–14)	11,5 (7–17)	0,1 (0–1)	17,6 (12–23)
<i>T. timopheevii</i>	426	13,0	0,9	13,9 (12–14)	0,1 (2–4)	0	27,0 (21–28)
<i>T. militinae</i>	348	13,2	0,7	13,9 (13–14)	0,1 (0–2)	0	27,1 (23–28)

\* Näitaja ulatus on näidatud sulgudes

\* Range is given in parenthesis

Ei ole selge, mis on erinevat päritolu nisusortidega saadud hübriidide F<sub>1</sub> bivalentide kujunemise erinevuste ja meioosi ebastabiilsuse astme põhjuseks. Võimalik, et see on seotud nende sortide kromosoomide struktuursete iseärasustega või oleneb ka ristatavate liikide B ja G genoomide homoloogia astmest. Genoomide B ja G osalist homoloogiat mainib oma uurimustes D. Kostov (1937). Võib oletada, et see on tingitud skandinaavia sortide geenidest, mis modifitseerivad *Ph1* lookuse toimet 5B kromosoomis, inhibeerides homöoloogide paardumist meioosis, mille tulemusena võib ilmneda nii homoloogsete kui ka homöoloogsete kromosoomide tihedam konjugeerimine. E. Wagonaari (1961) arvates võivad häired nisu liikidevahe-

liste hübriidide meioosis olla tingitud mitte ainult kromosoomide ja genoomide struktuursetest diferentseeritusest, vaid ka geeni kontrollist.

Pehme nisu genotüübi osatähtsus tetraploidsete liikidega ristamisest saadud F<sub>1</sub> hübriidide meioosi kulule rõhutab vajadust viia läbi meioosi tsütoloogiline analüüs ja uurida hübriidide kromosoomide konjugeerimise iseärasusi, sest see avab perspektiivid mitteristamise ületamise teede selgitamiseks ja taimede fertiilsuse tõstmiseks.

*Uurimust toetas Eesti Teadusfond (grandi nr. 1586)*

## Kirjandus

- Badaeva E. D., Badaev N. S., Enno T. M., Zeller F. J., Peusha H. O. Chromosome substitution in progeny of hybrids *Triticum aestivum* × *T. timopheevii* resistant to brown rust and powdery mildew. – Russian J. Genetics, vol. 31, No. 1, p. 75...77, 1995.
- Badajeva jt.: Бадаева Е. Д., Богуславский Р. Л., Бадаев Н. С. Цитогенетическое исследование злаков. Тетраплоидные виды пшениц Зандури. – Генетика, том 24, № 8, с. 1411...1418, 1988.
- Brown-Guedira G. L., Gill B. S., Cox T. S., Leath S. Transfer of disease resistance genes from *Triticum araraticum* to common wheat. – Plant Breeding, vol. 116, No. 2, p. 105...112, 1997.
- Feldman M. Identification of unpaired chromosome in F<sub>1</sub> hybrids involving *Triticum aestivum* and *T. timopheevii*. – Canad. J. Genet. Cytol., vol. 8, No. 1, p. 144...151, 1966.
- Feldman M. Historical aspects and significance of the discovery of wild wheats. – Stadler Genet. Symp., vol. 9, p. 121...146, 1977.
- Järve K., Peusha H., Tohver M., Tamm S., Timofeyeva L., Tsimbalova J., Priilinn O., Enno T. Alien chromatin detection and disease resistance gene identification in introgressive lines of common wheat. – Annual Wheat Newsletter, vol. 42, p. 79...80, 1996.
- Kostov: Костов Д. Поведение хромосом у гибридов *Triticum* и родственных видов. Межвидовые гибриды с *Triticum timopheevii*. – Труды Института генетики АН СССР, том 11, с. 15...23, 1937.
- Leontjev: Леонтьев Ф. П. Цитогенетическое изучение межвидовых гибридов, полученных от скрещивания *Triticum aestivum* с *Triticum timopheevii* Zhuk. – Изв. СО АН СССР, Сер. Биол., № 10, вып. 2, с. 82...88, 1980.
- Leontjev, Budaškina: Леонтьев Ф. П., Будашкина Е. Б. Цитологическое изучение межвидовых гибридов F<sub>1</sub> *Triticum aestivum* × *Triticum timopheevii* Zhuk. – Цитология и генетика, том 14, № 6, с. 59...63, 1980.
- Maan S. S., McCracken E. U. Meiotic instability of common wheat strains derived from *Triticum timopheevii* Zhuk. crosses. – Euphytica, vol. 17, No. 3, p. 445...450, 1968.
- Peusha H. O., Stephan U., Hsam S. L. K., Felsenstein F. G., Enno T. M., Zeller F. J. Identification of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L.). IV Breeding lines derived from wide crosses of Russian cultivars with species *T. timopheevii* Zhuk., *T. militinae* Zhuk. et Migusch., *T. dicoccum* (Schrank.) Schuebl., *Aegilops speltoides* Taush. – Russian J. Genetics, vol. 31, No. 2, p. 181...187, 1995.
- Peusha H., Enno T., Priilinn O. Genetic analysis of disease resistance in wheat hybrids, derivatives of *Triticum timopheevii* and *T. militinae*. – Acta Agronomica Hungarica, vol. 44, p. 237...244, 1996.
- Shands R. G. Disease resistance of *Triticum timopheevii* transferred to common winter wheat. – J. Amer. Society of Agronomy, No. 7, p. 704...712, 1941.
- Šnaider, Peuša: Шнайдер Т. М., Пеуша Х. О. Цитологический анализ мейоза у межвидовых гибридов пшеницы F<sub>1</sub>. – Генетика, том 18, № 7, с. 1121...1126, 1982.
- Žukovski: Жуковский П. М. Культурные растения и их сородичи. – Л., Колос, 1971. – 752 с.
- Wagenaar E. B. Studies on the genome constitution of *Triticum timopheevii* Zhuk. I. Evidence for genetic control of meiotic irregularities in tetraploid hybrids. – Canad. J. Genet. Cytol., vol. 3, p. 47...60, 1961.
- Wagenaar E. B. Studies on the genome constitution of *Triticum timopheevii* Zhuk. II. The *T. timopheevii* complex and its origin. – Evolution, vol. 20, p. 150...164, 1966.