

GENEETILINE REKOMBINATSIOON SORDIARETUSES

O. Priilinn, T. Enno

Rekombinatsiooni mõiste geneetikas püstitas William Bateson 1909. a. tähistamaks hübriidses järglaskonnas avalduvaid uusi tunnuste kombinatsioone. Rekombinatsioon seisneb geneetilise informatsiooni ümberjaotumises ristamisel meioosi protsessides (harva ka mitoosis), mis viib järglaskonnas uute geenikombinatsioonide tekkele. Kõrgematel organismidel toimub rekombinatsioon kromosoomide sõltumatu jagunemisena homoloogiliste (paariliste) kromosoomide ristsiirde (crossingoveri) protsessis meioosis. Rekombinatsiooni elementaarüksuseks on reekon, mis ei jagune ristsiirde puhul ja toimib kui tervik. Arvatakse, et reekon koosneb ühest või mõnest DNA nukleotiidist. Sugulise paljunemise aluseks oleval reduktsioonijagunemisel meioosis toimub iga kromosoomipaari kahestumine tütarakkude vahel, millest kujunevad sugurakud. Homosügootsete organismide sugurakkude moodustumisel ei ole oodata mingeid geneetilisi tagajärgi, sest igas kromosoomipaaris on ühesugused alleelid. Heterosügootsete hübriidide F_1 puhul on olukord teine, kromosoomide jagunemisel moodustuvad geneetiliselt erinevad sugurakud. Võimalikke kombinatsioone on siin mõõtmalt palju. Näiteks kromosoomide arvuga $2n=14$ taimedel (siia kuuluvad paljud kõrrelised ja liblikõielised), mis on heterosügootsed seitsme aheldamata geeniga kõigis seitsmes kromosoomipaaris, võib moodustuda $2^7=128$ tüüpi gameete geenide erinevas alleelide kombinatsioonis. Täiendavaid kombinatiivse muutlikkuse võimalusi avab aheldatud geenide rekombineerumine.

Sordiareture praktikas on rekombinatsioon sugulise ristamise kaudu taimede genotüübilise muutlikkuse peamine allikas. Selle tähtsust aretusprotsessis on uurinud ja rõhutanud paljud tuntud teadlased (Elliott, 1958; Allard, 1960; Ō utšenko, 1980; Dišler, 1983; Ō utšenko, Korol, 1985). A. Müntzing (1967) nimetab geneetilist rekombinatsiooni sordiareture "nurgakiviks". Tõepoolest, taimede produktioonivõime suurendamine ja nende kohandamine konkreetsetele tingimustele on tihedalt seotud rekombinatsiooniprotsessidega. Haaramata sellealast probleemide ringi kuigivõrd laiemalt, käsitletakse alljärgnevalt vaid mõningaid geneetilise rekombinatsiooni aspekte seoses artikli autorite viimaste aastate uurimistega ja aktuaalsete suundumustega geneetikas ning sordiaretures. Autorid ei näe oma ülesannet mitte valmis retseptide jagamises sordiaretajatele nende praktiliseks tööks, vaid püüavad mõtestada protsesse, mis toimuvad geneetilises rekombinatsioonis.

Eukariotidel eristatakse teatavasti kolme rekombinatsiooni taset – kromosoomidevaheline, geenidevaheline ja geenidesisene tase. Sordiaretajaid huvitavad ennekõike homosügootsed positiivsed transgressioonid, mis ilmnevad hübriidide lahkne misel alates F_2 -st, olenemata sellest, milline oli nende tekkemehhanism. Positiivseks transgressiooniks nimetatakse seda, kui hübriidses järglaskonnas tekivad genotüübid, mille tunnused ületavad lähtevanemate maksimaalse avaldumise. Negatiivse transgressiooni puhul on vastupidi, teatud tunnus ilmneb mõlemast vanemast vähemal määral. Mõlemal juhul on tegemist polümeerse geenide summaarse efektiga. Transgressiivsete vormide tekkimine hübriidses järglaskonnas on võimalik sel juhul, kui ristatavate taimede üht või teist tunnust määravad erinevad lookused. Skemaatiliselt võib kujutada transgressiivset lahknemist järgmiselt:

Vanemad: AABbCc x aabbCC
 F_1 AaBbCc
 F_2 hübriidid vahemikus AABbCC kuni aabbcc
AABbCC – positiivne transgressioon
aabbcc – negatiivne transgressioon

Peamisteks aretusmeetoditeks käesoleval ajajärgul on liigisised ja liikidevahelised ristamised, millele järgneb soovitud tunnustega genotüüpide valik lahknevas hübriidses populatsioonis. Uute sortide loomine seisnebki paljudel juhtudel transgressiivses aretuses, mille edu oleneb ristamiseks võetud lähtevanemate tunnuste analüüsist, nende tunnuste ülekandumise mehhanismi ja hübriidses järglaskonnas lahkne misel iseloomu tundmisest. Kuna enamik F_2 -s eraldatud nn. transgressioonid on heterosügootid või modifikatsioonid, on väga tähtis järgmistes põlvkondades eraldada transgressiivsed homosügootid. Sellele probleemile sordiaretajad suure osa ajast pühendavadki. Kogenud sordiaretajate töö tulemuslikkus on paljuski seotud intuiitiivse mõtlemise kõrge tasemega ja potentsiaalse muutlikkuse prognoosimise võimega. See tähendab genotüübi reaktsiooninormi ja äärmiste variantide lahkne misel võimaluste tajumist silma järgi hindamisel.

Paljud sugulasliigid, sealhulgas metsikud ja poolkultuurised taimed peidavad endas väärtuslike tunnuste ja omaduste kandjaid gene. Kuid nende ületoomine kultuursortidesse on takistatud mitmesuguste barjääridega. Sageli ei võimalda genoomide sobimatus geenide ülekandmist kaugristamistel, kuna kromosoomide konjugeeri-

mine meiosis pole täielik või ei toimu üldse, moodustuvad vaid univalendid, põhjustades steriilsuse. Seepärast uuritakse erinevaid võimalusi barjääride ületamiseks ja fertiilse järglaskonna saamiseks. Näiteks pehme nisu (*Triticum aestivum*) on allopoliid, mille genoom ($2n=6x42$, AABBDD) koosneb kolmest diploidse liigi genoomist, mis kromosoomide struktuurilt erinevad. Need kolme genoomi kromosoomid on geneetiliselt sugulased, kuid mitte identsed, homoloogsed. Konjugatsioon meiosis toimub vaid ühe genoomi homoloogide vahel.

Nisu liikide- ja perekondadevahelisel ristamisel fertiilsete hübriidide saamise üheks võimaluseks sai meiosis homöoloogiliste kromosoomide konjugeerimist takistava geeni toime allasurumine. M. Okamoto (1957), R. Riley ja V. Chapmani (1958) uurimistega selgus, et suvinisu 5B kromosoomi pikas õlas asuv geen *Ph* takistab kaughübriidide konjugatsiooni ja geneetilist rekombineerumist. E. Searsil (1975) õnnestus kiiritamise teel saada 5B kromosoomi geeni *Ph* mutant *ph*, mis ei takista erinevate kromosoomide konjugeerimist. Sai võimalikuks mitte ainult nisu genoomide A, B ja D homöoloogiliste kromosoomide konjugeerimine omavahel, vaid ka *Triticinae* alla kuuluvate sugulasliikide ja perekondade homöoloogiliste kromosoomidega konjugeerimine. See osutus nisuaretuse jaoks suure praktilise tähtsusega uurimistulemuseks. Ka Eksperimentaalbioloogia Instituudi taimegeneetikud on nisu kaugristamise katsetes kasutanud E. Searsi saadud retsessiivset mutanti *ph*, mis võimaldas homöoloogiliste kromosoomide konjugeerimise ja geneetilise materjali rekombineerumise meiosis nii nisu-rukki hübriididel (Enno, Priilinn, 1984; Enno, 1985) kui ka nisu liikidevahelistel hübriididel, mis saadi heksaploidse nisu ristamisel tetraploidsete liikidega (*T. timopheevii*, *T. militinae*, *T. persicum*) (Enno, 1988). See võimaldas aretuse seisukohalt väärtuslikke tunnuseid (haiguskindlus) kontrollivate geenide ülekannet metsikutelt liikidelt pehme nisu genoomi. Nisu liigisiseste ja liikide- ning perekondadevaheliste hübriidide F_1 meioosi pikemaagne võrdlev uurimine on näidanud, et protsesside spetsiifika ja muutlikkuse iseloom meiosis on tingitud genoomi sobivuse astmest ja ristatavate vanemate genotüübi iseärasustest. Sellesuunalise uurimise tulemusena on võimalik prognoosida hübriidse järglaskonna ontogeneesi kulgu ja teatud määral suunata taimede reproduktiivset süsteemi (Enno, 1989).

Kaugristamisel viivad rekombinatsioonid nii soovitatavatele kui ka ebasoovitavatele geenikombinatsioonidele. Harva õnnestub neid vahetult kasutada. Kõige komplitseeritud probleem seisneb ebasoovitavates geenidevahelistes aheldustes. Ahelduste lõhkumine on sordiarretajate üks ebameeldivamaid ettevõtmisi. E. Sears (1956) on ahelduse lõhkumiseks ja pruunrooste resistentsusgeene kandvate kromosoomisegmentide ülekandmiseks metsikult kasvavalt kõrreliselt – torupealt (*Aegilops umbellulata*) pehme nisu (*T. aestivum*) genoomi edukalt kasutanud röntgenikiirtega indutseeritud translokatsioonimeetodit. Hiljem on seda klassikaliseks saanud meetodit samuti edukalt kasutanud mitmed uurijad nii orasheina (Elliott, 1958), rukki (Driscoll, Jensen, 1963) kui ka teiste liikide geenide ülekandmiseks pehmele nisule.

Geenide aheldatus on välja kujunenud pikaajalise evolutsiooni käigus ja tal on oma kohustuslik tähtsus. Paljud kohustuslikud tunnused, nagu külmakindlus, talvekindlus jt., määratakse paljude geenide koostoimega. A. Š utsenko (1980) hindab seda positiivselt ja rõhutab rekombinatsiooni tähtsust aretuses nimelt sellest aspektist, et ta võimaldab edukalt kasutada koadapteerivate geenide plokkide.

Geneetilise rekombinatsiooni sagedust on võimalik suurendada mitmete bioloogiliste, füüsikaliste ja keemiliste mõjufaktoritega (Dišler, 1983). Meiosis toimuvaid protsesse kontrollivad nii geneetilised kui ka füsioloogilised faktorid. V. Dišler analüüsib tsiteeritud raamatus rekombinatsioonide väljaselgitamise ja arvestamise meetodeid ning indutseeritud rekombinogeneesi meetodite rakendamist sordiarretuses.

Viimasel paaril aastakümnel on rekombinatsiooni uurimine laienenud molekulaarsete mehhanismide valdkonda ja sel alal on saadud üsna perspektiivseid tulemusi. Laialdaselt kasutatakse valkude kui geeni produktide elektroforeetilist lahutamist erinevatel geelidel. Elektroforeetilised meetodid võimaldavad tunduvalt laiendada diskreetse pärliliku muutlikkuse geneetilist analüüsi, uurida geenide polümorfismi ja monomorfismi taimi ristamata.

Suurt huvi on äratanud fluorestsentne *in situ* hübriidiseerimine (FISH) ja genoomne *in situ* hübriidiseerimine (GISH). Nende meetodite väljatöötamine ja rakendamine on avanud täiesti uusi võimalusi molekulaarses tsütogeneetikas. Fluorestsentil põhinev FISH-meetod võimaldab eristada väikseid kromosoomi struktuuri-muutusi. GISH-meetod on osutunud informatiivseks allopolüploidide, hübriidse genoomi struktuuri uurimisel.

Viimatinimetatud meetodid on võetud kasutusele Eksperimentaalbioloogia Instituudi taimegeneetika osakonnas, selgitamaks resistentsusgeenide lokaliseerumist nisu genoomis. Sellesuunalised uurimised kujutavad üht osa ühisprojektist Jõgeva Sordiarretuse Instituudiga, mille eesmärgiks on resistentsusgeenide ületamine metsikutelt nisuliikidelt pehme nisu genoomi. Uurimisi toetab Eesti Teadusfond (grant nr. 1586).

Kokkuvõte

1. Väetiste, taimekaitsevahendite ja teiste taimekasvatuses vajalike ressursside piiratuma kasutamise tingimustes suureneb kultiveeritavate taimede adaptiivse potentsiaali täielikuma kasutamise vajadus. See omakorda nõuab uurimiste läbiviimist ja uurimistulemuste rakendamist, suurendamaks taimede vastupidavust, produktiivsust ning kvaliteeti.

2. Taimegeneetika meetoditega on võimalik lahendada perspektiivseid projekte taimede majanduslike ja bioloogiliste omaduste parandamiseks, sealhulgas luua uusi geenikombinatsioone geneetilise rekombinatsiooni tulemusena.

3. Käesoleval ajal on taimegeneetika üheks aktuaalseks ülesandeks rekombinatsiooniprotsesside tundmaõppimine ja võimalike soovituste väljatöötamine aretustöö täiustamiseks. On näidatud printsiipaalne võimalus modifitseerida rekombinatsiooniprotsesse, mõjutades taimi mitmesuguste bioloogiliste, füüsikaliste ja keemiliste faktoritega, samuti kasutades geneetilise kontrolli mehhanisme.

Kirjandus

- Allard R. W. Principles of plant breeding. – N.Y.; L.; Wiley, 1960. – 485 p.
- Driscoll C. J., Jensen N. F. A genetic method for detecting induced intergeneric translocation. – Genetics, vol. 48, p. 459...468, 1963.
- Elliott F. Plant Breeding and Cytogenetics. – N.Y.; T.; L., 1958.
- Enno (Šnaider): Шнайдер Т.М. Индукция гомологичной конъюгации хромосом у пшенично-ржаных гибридов, полученных с участием мутанта *ph*. Генетика, 21, 2, с. 288...294, 1985.
- Enno (Šnaider): Шнайдер Т.М. Изменчивость мейоза при внутривидовой и межвидовой гибридизации пшеницы. – Диссертация на соискание учёной степени доктора биологических наук. Киев, с. 1...43, 1989.
- Enno (Šnaider): Šnaider T. M., Priilinn O. J. The use of *ph* mutant increasing homoeologous pairing in wheat x rye hybrids. – Wheat Information Service, Japan, Yokohama, nr. 59, p. 6...8, 1984.
- Dišler: Дишлер В.Я. Индуцированный рекомбиногенез у высших растений. – Рига, 1983. – 222 с.
- Müntzing: Мюнцзинг А. Генетика. Общая и прикладная. – Москва, 1967. – 610 с.
- Okamoto M. Asynaptic effect of chromosome V. Wheat Information Service, Japan, Yokohama, nr. 5, p. 6, 1957.
- Riley R., Chapman V. Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. – Nature, vol. 182, p. 713...715, 1958.
- Sears E. R. The transfer of leaf-rust from *Aegilops umbellulata* to wheat. – Brookhaven Symp. Biol., vol. 9, p. 1...22, 1956.
- Sears E. R. An induced homoeologous-pairing mutant in *Triticum aestivum*. – Genetics, vol. 80, p. 74, 1975.
- Š utšenko: Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. – Кишенёв, 1980. – 587 с.
- ¹ utšenko, Korol: Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. – Москва, 1985. – 400 с.

Genetical Recombination in Plant Breeding

O. Priilinn, T. Enno

Summary

Recombination in higher plants is a complex multistep process involving spatial chromatin reorganization, chromosome pairing and synaptemal complex formation, molecular exchange of DNA²-strands and recombination repair.

According to N. I. Vavilov, breeding is evolution, directed by human will. In this artificial evolution recombination plays as an important role as it does in the natural one. The bulk of the genotypic variability is produced in the course of breeding by recombination. Scarcity of the available genetic variability necessitates a search for and employment of new germplasm in breeding, primarily that of wild species, primitive and aboriginal forms which are sources of new gene blocks for adaptation. Potential use of these blocks depends on

the distribution pattern of crossover exchanges in meiosis, on frequency and spectrum of recombinants in the hybrid progeny.

Experimental evidence indicates a considerable restriction of recombination in wide hybrids, conditioned by difficulties in overcoming non-crossing barriers because of a low level of pairing between the homoeologous chromosomes and high sterility of hybrid progeny F_1 . Homoeologous pairing and, consequently, crossingover can be induced genetically in many interspecific and intergeneric wheat hybrids. A number of genes of common wheat genome promote chromosome pairing and several act as inhibitors. For instance, in the presence of the pairing homoeologous gene *Ph* on the long arm of chromosome 5B, pairing is restricted to homologues, in its absence, homoeologues pair too, but less frequently than homologues. Using mutant *ph* with deletion of *Ph* locus, it is possible to induce chromosomes of different *Triticinae* species to pair with their wheat homoeo-logues. Such induced homoeologous pairing is usually the method of choice for transferring genes from alien chromosomes to those of wheat.

The problem of recombination induction with a view to increasing the amount of available variability is of utmost practical importance. The broadening of the spectrum of recombinants can be achieved by exogenous effects as well as by using endogenous factors: *mei*-mutants, chromosome aberrations etc. The induction of meiotic recombination can be of certain value to the solution of this task.

The formative process manipulation significant for breeding is primarily concerned with the induced crossover even redistribution within the genome and employment of gametic, zygotic and embrionic selection methods for broadening the spectrum of recombinants.