

УДК 633.12:631.523:575

МЕХАНИЗМЫ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРОГАМНОЙ НЕСОВМЕСТИМОСТИ МЕЖВИДОВОГО СКРЕЩИВАНИЯ *FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH. × *F. HOMOTROPICUM* OHNISHI (ОБРАЗЕЦ С9606)

Н.Н. ФЕСЕНКО, кандидат биологических наук

И.Н. ФЕСЕНКО, кандидат биологических наук

ГНУ ВНИИ зернобобовых и крупяных культур

Пыльца линии С9606 *F. homotropicum* совместима в комбинации “*F. esculentum*, Д × С9606”, но абсолютно несовместима в комбинации “*F. esculentum*, К × С9606”. Показано, что абсолютная несовместимость короткого пестика *F. esculentum* (короткостолбчатость, доминантная короткая гомостилия) с пыльцой С9606 (линия с крупными цветками и крупной пыльцой) определяется механизмами двух типов: морфологическими факторами и геном несовместимости гаметофитного типа. Гаметофитный ген блокирует передачу потомству двух тесно сцепленных генов, *S4* (гомостилия цветка) и *SHT* (опадение плодов), при опылении короткопестичных цветков *F. esculentum* (доминантный ген *G*) пыльцой гибридов F_1 (*F. esculentum* × С9606). На расщепление по генам *S4* и *SHT* у гибридов, полученных опылением длинностолбчатых растений *F. esculentum* пыльцой F_1 (*F. esculentum* × С9606), гаметофитный ген не влияет.

Ключевые слова: гречиха, гетеростилия, гомостилия, гаметофитная несовместимость, *S*-локус.

Fagopyrum esculentum Moench. и *F. homotropicum* Ohnishi – близкородственные виды, фертильные гибриды между ними были получены неоднократно [1-5]. Однако *F. homotropicum* – морфологически очень полиморфный вид, различные формы которого проявляют разную степень предзиготической изоляции в скрещиваниях с длинностолбчатыми и короткостолбчатыми растениями гетеростильного вида *F. esculentum* [6].

Ранее мы показали, что линии С9606 и С9139 *F. homotropicum* несут ген *S4*, который находится в четвертой группе сцепления, и определяет тип цветка (гомостилия) [7]. Линия С9606 не отличается по размеру цветка от перекрестноопыляющейся дикой гречихи *F. esculentum* ssp. *ancestrale*, то есть имеет относительно крупные цветки и крупную пыльцу, близкую по размеру пыльце короткостолбчатых растений *F. esculentum*. Линия С9139 выглядит более адаптированной к постоянному самоопылению, т.к. формирует заметно менее крупные цветки (в 2 раза по линейным размерам) и, соответственно, менее крупную пыльцу. Эти различия обусловлены как накоплением минус-аллелей полигенов (диаметр цветка, размер пыльцевых зерен), так и «промежуточным» (по влиянию на размер пыльцы) аллелем субгена *P*, входящим в состав локуса гомостилии *S4* линии С9139 [7-9]. Линия С9139 в естественных условиях не скрещивается с гетеростильной гречихой, а искусственные скрещивания мало-

эффективны [6, 10]. Напротив, гибриды *F. esculentum* × С9139 полностью совместимы с гетеростильной гречихой, а их пыльца благодаря промежуточному размеру проявляет универсальную совместимость с пестиками длинностолбчатых (Д) и короткостолбчатых (К) цветков *F. esculentum*. Это обстоятельство способствовало получению гибридов ВС₁F₁ в количестве, достаточном для генетического анализа, показавшего, что в комбинации Д × F₁ передача тесно сцепленных доминантных генов осыпаемости и гомостилии цветка происходит без нарушений, а в комбинации К × F₁ в потомстве ВС₁F₁ наблюдается дефицит (точнее, почти полное отсутствие) осыпаемых и гомостильных форм, что было интерпретировано как результат действия гаметофитного гена [10]. В экспериментах с *F. esculentum* получила подтверждение гипотеза Х. Шох-Бодмер, согласно которой несовместимость может определяться морфологическим несоответствием параметров пестика и пыльцевых трубок (последние зависят от размеров пыльцы). В частности, толстые трубки крупной пыльцы не способны эффективно прорасти сквозь плотные ткани пестика короткостолбчатой формы [11].

Крупная пыльца линии С9606 полностью совместима в комбинации *F. esculentum*, Д × С9606 и абсолютно несовместима в комбинации *F. esculentum*, К × С9606. Возможно, эта несовместимость определяется сложением двух факторов – морфологического и гаметофитного. В статье представлены результаты экспериментов, тестирующих эти предположения.

Материал и методы

Экспериментальные подходы

Очень крупная пыльца гибридов F₁ (*F. esculentum* × С9606) *a priori* очень плохо совместима с пестиком короткостолбчатой формы (или ее аналогов по характеристикам пестика) [11]. Поэтому в данной ситуации были использованы специальные приемы, которые должны были а) обеспечить более надежное опыление и более надежный анализ на гибридность потомства и б) ослабить морфологический фактор несовместимости путем введения в генотип гомостильных гибридов минус-аллелей полигенов, влияющих на размер пыльцевых зерен.

Скрещивания проводили вручную, в изолированном помещении, без кастрации. Гибридность потомства определялась с помощью морфологических маркеров.

Растительный материал

1) Короткостолбчатые (К) растения или их аналоги по совместимости пестика:

а) К-растения, маркированные рецессивными мутациями (детерминантность, неотения);

б) гомостильная мутация $GPA \rightarrow GPa$ (короткий пестик + короткие тычинки, гомостилия Гк-типа), в том числе Гк-растение с нерастрескиванием пыльников (генотип мужской стерильности не установлен).

2) В качестве донора минус-аллелей полимерных генов использовали длинностолбчатые (Д) гибриды линии С9139, полученные по схеме: $D \times C9139 \rightarrow F_1$ (самоопыление) $\rightarrow F_2$ (Д) $\times C9139 \rightarrow BC_1$ (самоопыление) $\rightarrow BC_1F_2$ (Д): эти растения использованы для получения гибридов F_1 и BC_1 с линией С9606 *F. homotropicum*.

3) Гибриды F_1 (*F. esculentum* ssp. *ancestrale*, Д, $SHT \times C9606$). Эти гибриды гетерозиготны по гомостилии цветка, но гомозиготны по доминантному гену осыпаемости *SHT*, т.к. скрещиваемые формы дикой гречихи аллельны по осыпаемости [7].

Результаты

Скрещивание 1

♀ *F. esculentum*, К, детерминантность

♂ F_1 [*F. esculentum*, Д (М*) \times С9606], Гд («длинная» гомостилия), опадение семян.

Получено 8 индетерминантных, устойчивых к опадению гибридов, соотношение по типу цветка 5К:3Д. Эффективность гаметофитного гена 100%.

*М - несет минус-аллели генов, влияющих на размер пыльцы

Скрещивание 2

♀ *F. esculentum*, К-гомозигота (GPA/GPA), детерминантность

♂ F_1 [*F. esculentum*, Д \times С9606], Гд, опадение семян.

Получено 8 индетерминантных, устойчивых к опадению гибридов, соотношение по типу цветка 7К: 1 большой (определить тип цветка не удалось). Эффективность гаметофитного гена 100%.

Скрещивание 3

♀ *F. esculentum*, К, неотения, детерминантность

♂ F_1 [*F. esculentum*, Д (М) \times Гд(М), опадение семян], Гд, опадение семян.

Получено 88 растений, в т.ч. 76 негибридных (по маркеру неотения + детерминантность) и 12 гибридных в соотношении 10 устойчивых к опадению (9К : 1Д) и 2 опадающих (1К : 1Гд). Эффективность гаметофитного гена 77%.

Скрещивание 4

♀ *F. esculentum*, Гк (короткая гомостилия), мужская стерильность

♂ F_1 [*F. esculentum*, Д (М) \times Гд(М), опадение семян], Гд, опадение семян.

Получено 64 растения, все Гк-типа, фертильные, устойчивые к опадению семян. Эффективность гаметофитного гена 100%.

Скращивание 5

♀ *F. esculentum*, Гк

♂ F₁ [*F. esculentum* ssp. *ancestrale*, Д × С9606], Гд, опадение семян.

Получено 40 растений, в т.ч. 3 негибридных (устойчивых к опадению, Гк, с 5-6 вегетативными узлами на главном побеге) и 37 гибридных (опадение плодов, позднеспелый морфотип – от 7 до 12 вегетативных узлов на главном побеге, соотношение по типу цветка 19Гк : 18Д).

Эффективность гаметофитного гена 100%.

Скращивание 6 (контроль)

Д (Скороспелая 86) × Гд, опад. F₁ [Д (Дождик) × С9606].

♀ *F. esculentum*, Д (Скороспелая 86)

♂ F₁ [*F. esculentum*, Д (Дождик) × С9606], Гд, опадение плодов.

Получено 164 гибридных растения, в т.ч. 88 устойчивых к опадению (3 Гд : 85 Д) и 76 опадающих (75 Гд : 1Д). Влияние гаметофитного гена не установлено [χ^2 (1опад.:1устойч. к опад.)=0,88; P=0,35].

Обсуждение

Абсолютная несовместимость короткого пестика *F. esculentum* (короткостолбчатость (К), доминантная короткая гомостилия (Гк)) с пыльцой линии С9606 обусловлена сочетанием неоптимального размера пыльцы и активности гена несовместимости гаметофитного типа. Гаметофитный ген блокирует передачу потомству двух тесно сцепленных генов *S4* (гомостилия цветка) и *SHT* (облигатное опадение семян) после опыления цветков короткопестичных растений (несущих доминантный ген *G*) пыльцой гибридов F₁ (*F. esculentum* × *F. homotropicum*). Расщепление по локусам *S4* и *SHT* в потомстве, полученном от скрещивания *F. esculentum* (Д) × F₁, не было искажено в результате действия гаметофитного гена.

Ранее нами был сделан вывод, что гаметофитный ген, ассоциированный с локусом *S4* линии С9139 *F. homotropicum*, представляет собой фрагмент утраченной гаметофитной системы несовместимости [10]. Это была первая подобная находка у представителей таксона, для которого характерна гетероморфная система несовместимости. Обнаружение идентичного гена в геноме линии С9606 *F. homotropicum* подтверждает правильность этого вывода.

По результатам электрофоретического анализа запасных белков, эволюционные линии, представленные образцами С9139 и С9606, более близки между собой, чем каждая из них с *F. esculentum* [12]. В то же время, в ходе видообразования *F. homotropicum* сохранился заметный полиморфизм по запасным белкам, то есть, в данном случае не наблюдаются последствия прохождения предковой популяцией "бутылочного горлышка", что явно имело место при формировании другого автогамного вида гречихи – *F. tataricum* [13-14]. Тем не менее,

линии С9139 и С9606 явно происходят от общего предка, дивергенция которого от *F. esculentum* сопровождалась изменением локализации гена, контролирующего тип цветка [7], и ассоциированного с функциональным геном несовместимости гаметофитного типа, экспрессирующегося в пыльце. Предполагаемый общий предок видов *F. esculentum* и *F. homotropicum* должен был обладать комбинированной системой несовместимости (гетероморфная + гаметофитная). Не исключено, что такие популяции еще можно найти в горах Китая: начать поиск можно с более внимательного анализа образцов *F. esculentum* ssp. *ancestrale* Ohnishi.

Литература

1. Campbell C. Interspecific hybridization in the genus *Fagopyrum* // Proc. 6th Intl. Symp. Buckwheat at Ina. – 1995. – V. 1. – P. 255-263.
2. Fesenko N.N., Fesenko A.N., Ohnishi O. Some genetic peculiarities of reproductive system of wild relatives of common buckwheat *Fagopyrum esculentum* // Proc. 7th Intl. Symp. Buckwheat at Winnipeg. – 1998. – Part 6. – P. 32-35.
3. Wang Y.J., Campbell, C. Interspecific hybridization in buckwheat among *Fagopyrum esculentum*, *F. homotropicum* and *F. tataricum* // Proc. 7th Intl. Symp. Buckwheat at Winnipeg. – 1998. – Part 1. – P. 1-12.
4. Фесенко А.Н., Фесенко, Н.Н. Использование межвидовой гибридизации в селекции гречихи посевной // Докл. РАСХН. – 2002. – №5. – С.11-13.
5. Фесенко А.Н., Фесенко И.Н., Гуринович И.А. «Эволюционный» метод отбора на повышение устойчивости гречихи посевной к инбридингу // Вестник ОрелГАУ. – 2010. – №6. – С. 111-115.
6. Fesenko I.N., Fesenko N.N., Ohnishi O. Compatibility and congruity of interspecific crosses in *Fagopyrum* // Proc. 8th Intl. Symp. Buckwheat at Chunchon. – 2001. – V. 1. – P. 404-410.
7. Fesenko N.N., Fesenko I.N., Ohnishi O. Homostyly of two morphologically different lineages of *Fagopyrum homotropicum* Ohnishi is determined by locus *S4*, which is an *S*-locus related gene in the linkage group #4 // *Fagopyrum*. – 2006. – V. 23. – P. 11-15.
8. Фесенко И.Н. Наследование признаков системы размножения межвидовыми гибридами гречихи (*Fagopyrum* Mill.): специальность 03.00.15 "Генетика": автореф. дисс... на соиск. учен. степ. канд. биол. наук [ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова]. – СПб., 2002. – 19 с. – Библиогр.: с.19.
9. Фесенко И.Н., Фесенко А.Н. Генетический анализ некоторых последствий эволюции дикого автогамного вида *Fagopyrum homotropicum* Ohnishi и возделываемого перекрестноопылителя *F. esculentum* Moench. // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2013. – №3(7). – С. 19-25.
10. Фесенко Н.Н., Фесенко И.Н. Функциональные фрагменты реликтовой гаметофитной системы самонесовместимости ассоциированы с локусами, определяющими тип цветка *Fagopyrum esculentum* Moench. (гетеростильный перекрестноопылитель) и *F. homotropicum* Ohnishi (самоопылитель с гомостильными цветками) // Генетика. – 2011. – Т.47. – С. 48–56.
11. Fesenko N.N. Morphological factor in the system of compatibility- incompatibility of *Fagopyrum esculentum* Moench. // Proc. 6th Intl. Symp. Buckwheat at Ina. – 1995. – V. 1. – P. 463-468.
12. Лазарева Т.Н., Фесенко И.Н. Сравнительный анализ спектров запасных белков *Fagopyrum esculentum* и двух морфологически различных линий *F. homotropicum* // Ученые записки ОГУ. Серия естественные, технические и медицинские науки. – 2011. – №3 (41). – С.130-133.
13. Лазарева Т.Н., Фесенко И.Н., Павловская Н.Е. Изменчивость гречихи татарской *Fagopyrum tataricum* Gaertn. по белкам семян, выявляемая электрофорезом в ПААГ // Известия ТСХА. – 2007. – Вып. 3. – С. 93-97.
14. Лазарева Т.Н., Фесенко И.Н. Сравнительный анализ электрофоретических спектров белков семян *Fagopyrum cymosum* Meisn. × *F. tataricum* Gaertn. // Вестник ОрелГАУ. – 2010. – №4 (25). – С. 67-70.

MECHANISMS AND GENETIC CONTROL OF PRE-ZYGOTIC INCOMPATIBILITY OF INTERSPECIFIC CROSS *FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH. × *F. HOMOTROPICUM* OHNISHI (ACCESSION C9606).

N.N. Fesenko

I.N. Fesenko

All-Russia Research Institute of Grain Legumes and Groats Crops, 302502 Orel, Russia

E-mail: ivanfesenko@rambler.ru

Abstract: *Pollen of C9606 F. homotropicum is compatible in combination “F. esculentum, long-styled × C9606”, but absolutely incompatible in combination “F. esculentum, short-styled × C9606”. It was shown that the absolute incompatibility of short pistil of F. esculentum (both thrum-morph and dominant short homostyly) with pollen of C9606 (lineage with large flowers and large pollen) is determined by two mechanisms: morphological factors and gametophytic incompatibility gene. The gametophytic gene blocks the transmission of two tightly linked genes S4 (flower homostyly) and SHT (obligate seed shattering) after pollination of short pistils (carrying the dominant gene G) by pollen of F₁ hybrids F. esculentum × C9606. Segregation at loci S4 and SHT in progeny obtained in cross F. esculentum, pin × F₁ was not affected by activity of the gametophytic gene.*

Keywords: *buckwheat, heterostyly, homostyly, gametophytic incompatibility, S-locus.*