

ВАРИАТИВНОСТЬ ЧАСТОТЫ ХИАЗМ У РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ТОМАТОВ

© 2019 г. С. Р. Стрельникова¹*, Р. А. Комахин¹, А. А. Жученко¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, 127550, Россия

*E-mail: strlnkv@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.08.2018 г.

После доработки 06.11.2018 г.

Принята к публикации 13.11.2018 г.

В работе представлены результаты сравнительных исследований частоты и распределения хиазм в материнских клетках пыльцы (МКП) у пяти диплоидных видов томатов: *Solanum lycopersicum*, *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*, *S. habrochaites*, *S. neorickii* и одного автотетраплоида *S. pimpinellifolium*. Установлено, что в одинаковых условиях произрастания общая частота хиазм в клетке зависела от вида. При этом зеленоплодные виды *S. peruvianum*, *S. neorickii* и *S. habrochaites* различались между собой по частоте дистальных хиазм, в то время как красноплодные виды *S. lycopersicum* и *S. pimpinellifolium* — по частоте интерстициальных хиазм. Показано, что общая частота хиазм в МКП растений одного вида является достаточно стабильным показателем рекомбинационного потенциала, не зависящим от условий произрастания. Более вариабельным оказалось перераспределение между дистальными и интерстициальными хиазмами в зависимости от вида растений, года и географических условий произрастания. У автотетраплоида частота хиазм на бивалент оказалась ниже, чем у диплоидных растений *S. pimpinellifolium*, прежде всего за счет интерстициальных хиазм, частота которых осталась на уровне, характерном для диплоидных растений. Сделано заключение, что рекомбинационная пластичность геномов томатов обусловлена перераспределением хиазм вдоль бивалентов, а не изменением их числа в клетке.

Ключевые слова: томат, *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*, *S. habrochaites*, *S. neorickii*, рекомбинация, хиазмы, мейоз

DOI: 10.1134/S004137711902007X

Ключевым событием мейоза является кроссинговер — обмен участками между гомологичными хромосомами, приводящий к созданию кроссоверных вариантов гомологов, которые вместе с перекомбинацией хромосом составляют основу доступной отбору генетической изменчивости в эволюции эукариотических организмов и при традиционной селекции (Жученко, Король, 1985). Однако число и распределение кроссинговеров вдоль хромосом во время мейоза генетически детерминировано, что ограничивает формирование изменчивости в потомстве гетерозигот (Жученко, Король, 1985). Для обеспечения точной сегрегации гомологов в профазе I необходим, по крайней мере, один кроссоверный обмен, хотя у большинства организмов число обменов редко превышает три независимо от размера хромосомы (Roeder, 1997).

Места кроссоверных обменов хорошо видны в световой микроскоп в виде хиазм, которые соответствуют точкам физического обмена (кроссинговерам) между гомологичными несестринскими хроматидами (Tease, Jones, 1978). Известно, что хиазмы формируются в тех же локусах хромосом, что и ре-

комбинационные узелки (Sherman, Stack, 1995; Anderson, Stack, 2005). Цитологический анализ представляет собой эффективный подход для оценки характера распределения хиазм между отдельными бивалентами и внутри них (Sanchez-Moran et al., 2002). У мыши (*Mus musculus*) показано, что определенное цитологическим методом число и распределение точек локализации рекомбинационных событий в бивалентах совпадает с оценкой частоты кроссинговера, полученной в ходе гибридологического анализа (Froenicke et al., 2002).

Известны гены, необходимые для нормального мейотического уровня рекомбинации, кодирующие белки для спаривания хромосом или участвующие в катализе ключевых этапов репарации программированных разрывов ДНК (Roeder, 1997; Grelon, 2016). Мутации этих генов обычно приводят к резкому подавлению рекомбинации (например, Li et al., 2004; Grelon et al., 2001). Кроме того, известно о менее значительных вариациях частоты хиазм. Ранее достоверные количественные различия продемонстрировали, например, у ячменя (*Hordeum vulgare*) (Nilsson, Pelger, 1991) и экотипов *Arabidopsis thaliana* (Sanchez-Moran et al., 2002; López et al., 2011). Эти результаты позволяют предположить существование генетиче-

Принятые сокращения: МКП — материнские клетки пыльцы.

ских элементов, которые оказывают модифицирующее влияние на рекомбинацию. Различия количественных показателей рекомбинации получены в результате селекции линий дрозофилы (*Drosophila melanogaster*) (Charlesworth, Charlesworth, 1985), обнаружены при исследованиях частоты хиазм в отдельных популяциях лесной улитки (*Cepea nemoralis*) (Price, 1974), скерды волосовидной (*Crepis capillaris*) (Whitehouse et al., 1981), а также при сравнении близкородственных и кариотипически идентичных или очень похожих видов кузнечиков *Chorthippus brunneus*, *C. parallelus* и *Omocestus viridulus* (Hewitt, 1964) и дикорастущих диплоидных видов *Triticum longissimum* и *T. speltoides* (Zarchi et al., 1972).

Томаты разных видов скрещиваются между собой, дают плодовитое потомство и не имеют глубоких различий в структурной организации геномов (Rick, Butler, 1956). У культурного томата (*S. lycopersicum*) число и распределение хиазм совпадает с числом поздних рекомбинационных узелков (Sherman, Stack, 1995; Anderson, Stack, 2005; Anderson et al., 2014). Около 70–80% зрелых рекомбинационных узелков во всех 12 бивалентах содержат белок MLH1 и соответствуют основному интерферирующему пути кроссинговера (Lhuissier, 2007; Anderson, 2014). Известны краткие результаты сопоставления частоты хиазм у культурного томата и *Lycopersicon hirsutum* (MacArthur, Chiasson, 1947), но при этом неясна степень естественной изменчивости частоты хиазмы у других видов томатов, в том числе при одинаковых условиях произрастания растений. Эти исследования являются актуальными, поскольку дикорастущие виды томатов являются источниками ценных с точки зрения агрономии генов (например, устойчивости к болезням и вредителям) и используются в селекционных программах создания новых сортов и линий (Mutschler, Liedl, 1994).

Ранее в наших исследованиях для оценки кроссинговера у культурного томата использовали метод гибридологического анализа (Юнусов и др., 2009; Комахин и др., 2010, 2012, 2019). Однако полученные с помощью этого метода результаты не в полной мере позволяют оценить количество и распределение обменов генетическим материалом в целом по геному. К тому же на частоту рекомбинации при гибридологическом анализе могут влиять дифференциальная жизнеспособность гамет, зигот и отдельных генотипов (Жученко, Король, 1985).

Цель данного исследования состояла в сравнительной оценке частоты и распределения хиазм у различных видов томатов. Эти исследования необходимы для понимания закономерностей прохождения рекомбинационных событий и являются основой для дальнейшего поиска факторов регулирующих распределение хиазм и вовлечения в кроссоверный обмен ранее “молчащих” зон генома, что может являться ключом к проблеме расширения спектра доступной геноти-

пической изменчивости, а значит – и эффективности селекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использованы диплоидные ($2n = 24$) виды томатов: томат культурный (*S. lycopersicum* L.) сорта Марглоб, томат смородинолистный (*S. pimpinellifolium* L.), томат перуанский (*S. peruvianum* L.), томат волосистый (*S. habrochaites* S. Knapp & D.M. Spooner) и томат мелкоцветковый (*S. neorickii* D.M. Spooner, G.J. Anderson & R.K. Jansen), а также автотетраплоидный вид ($2n = 48$) *S. pimpinellifolium* (La 2335), полученный из Центра генетических ресурсов томата (Tomato Genetics Resource Center, USA).

Растения томата выращивали с марта по ноябрь в стационарной теплице в 5-литровых пластиковых сосудах в г. Москва (Россия). Растения двух видов томатов *S. pimpinellifolium* и *S. neorickii* одновременно выращивали в г. Тирасполь (Молдова) в полевых условиях. Во время цветения бутоны растений размером 2–3 мм фиксировали в фиксаторе Кларка строго в утренние часы и хранили в 70%-ном спирте. Для анализа использовали не менее трех индивидуальных растений каждого вида, если не указано иное.

Анализ частоты и распределения хиазм проводили на временных давленных препаратах, приготовленных и окрашенных с предварительным протравливанием железоммонийными квасцами, как описано ранее (Грати, Грати, 1980). Распластанные клетки с 12 бивалентами в одной плоскости и с целой клеточной стенкой фотографировали для проведения детального анализа на микроскопе с фазовым контрастом Opton (Axiorphot, Германия). Общее число хиазм представлено как сумма дистальных и интерстициальных хиазм. В таблицах указаны средние значения \pm ошибка средней, при n от 25 до 300 клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Типы бивалентов у различных видов томатов в материнских клетках пыльцы на стадии диакинеза. Анализ частоты и распределения хиазм в бивалентах различных видов томатов выполняли в материнских клетках пыльцы (МКП) на стадии диакинеза мейоза (рис. 1).

На примере МКП *S. lycopersicum* показаны биваленты с различными типами хиазм (дистальными – расположенными в теломерных районах хромосом и интерстициальными – между теломерой и центромерой), а также с их возможными сочетаниями (рис. 1а). Наличие ядрышкового организатора позволяло надежно идентифицировать бивалент 2. У всех диплоидных видов томатов в МКП на стадии диакинеза наблюдали формирование только 12 бивалентов и отсутствие уни- и мультивалентов (рис. 1а–1д). Независимо от происхождения каждый бивалент содержал от 1 до 3 хиазм.

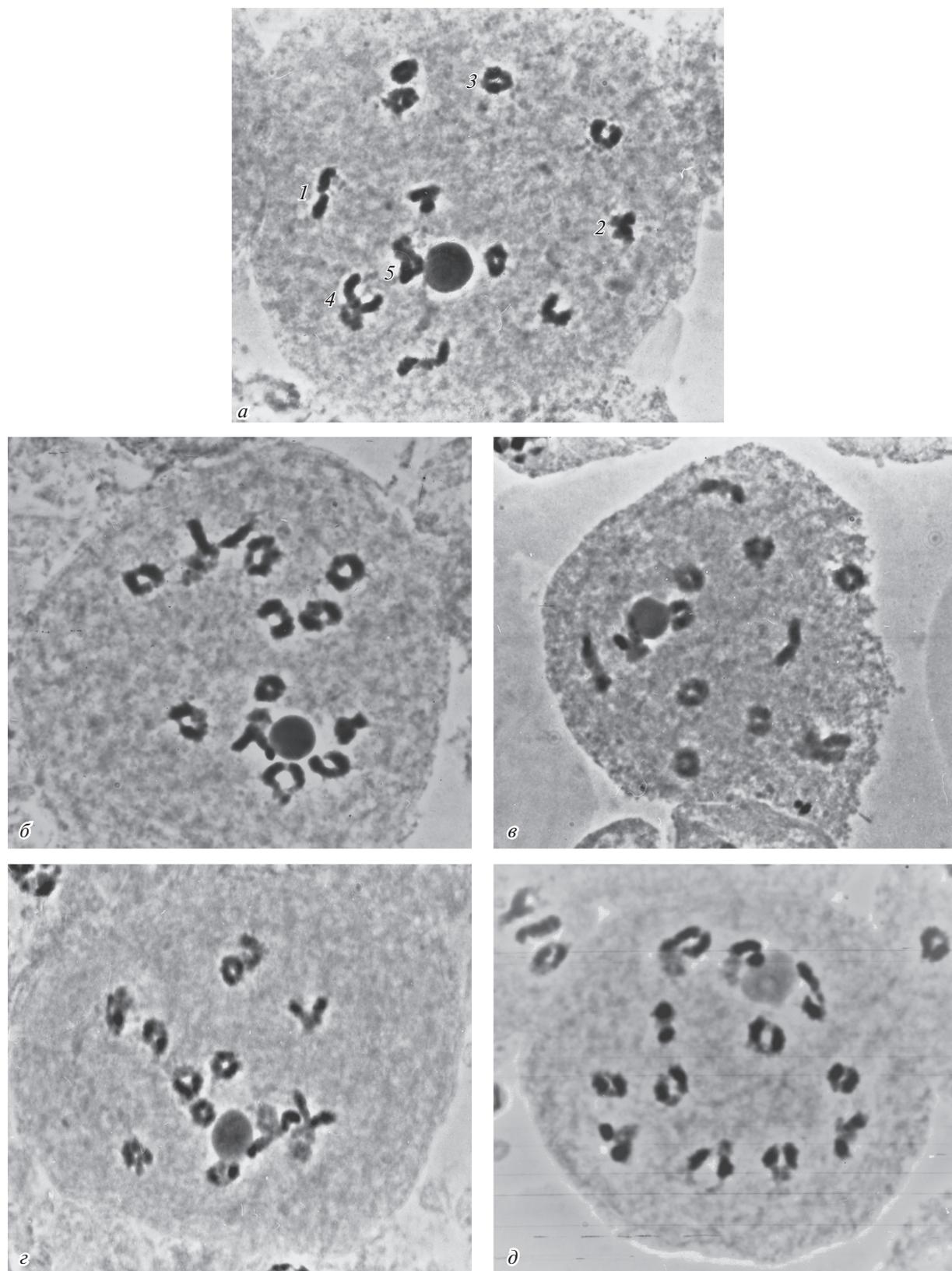


Рис. 1. Типы бивалентов у различных видов томатов в МКП на стадии диакинеза. *a* – *S. lycopersicum*. Бивалент с одной дистальной хиазмой (1), с одной интерстициальной хиазмой (2), с двумя дистальными хиазмами (3), с одной дистальной и одной интерстициальной хиазмами (4), бивалент 2 с двумя дистальными и одной интерстициальной хиазмами и ядрышковым организатором (5); *б* – *S. pimpinellifolium*; *в* – *S. peruvianum*; *г* – *S. habrochaites*; *д* – *S. neorickii*. Об. 100×.

Таблица 1. Частота и распределение хиазм у различных видов томатов

Вид	Число хиазм на клетку (в биваленте 2), шт.		
	общее число	число дистальных хиазм	число интерстициальных хиазм
<i>S. lycopersicum</i>	18.92 ± 0.20	16.41 ± 0.22	2.51 ± 0.10
	(1.42 ± 0.06)	(0.88 ± 0.06)	(0.54 ± 0.06)
<i>S. pimpinellifolium</i>	19.89 ± 0.18	16.14 ± 0.22	3.75 ± 0.11
	(1.53 ± 0.06)	(0.60 ± 0.06)	(0.93 ± 0.06)
<i>S. peruvianum</i>	19.23 ± 0.28	15.90 ± 0.33	3.33 ± 0.14
	(1.66 ± 0.07)	(0.85 ± 0.09)	(0.81 ± 0.06)
<i>S. habrochaites</i>	21.21 ± 0.25	17.77 ± 0.25	3.44 ± 0.21
	(1.98 ± 0.06)	(1.23 ± 0.06)	(0.75 ± 0.06)
<i>S. neorickii</i>	17.63 ± 0.28	14.41 ± 0.28	3.22 ± 0.15
	(1.35 ± 0.08)	(0.76 ± 0.08)	(0.59 ± 0.08)

Сравнение частот и распределения хиазм у разных видов томатов. Для понимания уровня и характера обменов между гомологами проанализировали частоту хиазм в клетке и их распределение у нескольких выращенных одновременно в теплице растений культурного томата и его родственных дикорастущих видов (табл. 1).

Из табл. 1 следует, что в среднем у растений культурного томата было достоверно меньше интерстициальных хиазм на клетку (2.51), чем у представленных дикорастущих видов (от 3.22 до 3.75). У растений видов *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium* и *S. peruvianum* средние значения частот дистальных хиазм не различались и составляли от 15.90 до 16.41. У растений *S. neorickii* наблюдали достоверно меньше (14.41), а у растений *S. habrochaites* достоверно больше (17.77) дистальных хиазм, чем у растений остальных видов. Поскольку дистальных хиазм в зависимости от вида было от 4.3 до 6.5 раз больше, чем интерстициальных, то их частота является определяющей при подсчете общей частоты хиазм на клетку. Поэтому неудивительно, что наиболее высокое среднее значение общей частоты хиазм в клетке было у растений *S. habrochaites*, а наименьшее – у растений *S. neorickii*. Среди остальных трех видов наименьшее среднее значение общей частоты хиазм было у растений культурного томата, достоверно более высокое – у *S. pimpinellifolium* и у *S. peruvianum*, которые между собой не различались по этому показателю.

Для оценки частоты и распределения хиазм в отдельной паре гомологов выполнили исследования бивалента 2, поскольку у всех видов он надежно

идентифицировался по наличию ядрышкового организатора (табл. 1).

Установлено, что достоверно более высокое, чем у остальных видов, число общих и дистальных хиазм, отмечено в биваленте 2 у *S. habrochaites* – 1.98, а наименьшее – у *S. neorickii* – 1.35 и культурного томата – 1.42 (табл. 1). По сравнению с *S. neorickii*, только у *S. peruvianum* было достоверно больше хиазм, а у *S. pimpinellifolium* – незначимо больше. Удивительно, но самое большое количество интерстициальных хиазм – 0.93 на бивалент 2, даже превышающее частоту дистальных хиазм 0.60, наблюдали у *S. pimpinellifolium*. У культурного томата частота интерстициальных хиазм оказалась достоверно ниже, чем у *S. pimpinellifolium* и *S. peruvianum*. В отличие от распределения хиазм в целом на клетку, в биваленте 2 отношение количества дистальных хиазм к интерстициальным варьировало в пределах от 0.64 до 1.64.

В целом различные виды томатов различались не только частотой образования хиазм, но и их распределением вдоль бивалентов. Для зеленоплодных видов томатов *S. peruvianum*, *S. neorickii* и *S. habrochaites* была характерна высокая вариация частоты дистальных хиазм, в то время как красноплодные *S. lycopersicum* и *S. pimpinellifolium* различались между собой по частоте интерстициальных хиазм. Сходную картину наблюдали у всех видов как по общей частоте хиазм, так и по их частоте в биваленте 2, но соотношение дистальных хиазм к интерстициальным было менее существенным.

Возрастные изменения частоты и распределения хиазм. Для выяснения возрастной зависимости

Таблица 2. Частота и распределение хиазм у растений вида *S. pimpinellifolium*

№ растения	Возраст, мес.	№ соцветия	Число хиазм на геном (в биваленте 2), шт.		
			общее число	число дистальных хиазм	число интерстициальных хиазм
1	4	II	20.05 ± 0.22	17.42 ± 0.27	2.63 ± 0.13
			(1.31 ± 0.07)	(0.42 ± 0.08)	(0.89 ± 0.05)
		V	20.09 ± 0.26	16.92 ± 0.29	3.17 ± 0.14
			(1.62 ± 0.10)	(0.79 ± 0.12)	(0.83 ± 0.08)
		VII	19.95 ± 0.29	17.18 ± 0.28	2.77 ± 0.18
			(1.61 ± 0.09)	(0.79 ± 0.09)	(0.82 ± 0.07)
X	19.87 ± 0.14	17.05 ± 0.18	2.82 ± 0.10		
Среднее	19.99 ± 0.11	17.14 ± 0.12	2.85 ± 0.07		
	(1.51 ± 0.04)	(0.67 ± 0.04)	(0.84 ± 0.03)		
2	4	Среднее*	20.00 ± 0.36	16.56 ± 0.40	3.44 ± 0.17
			(1.63 ± 0.10)	(0.85 ± 0.07)	(0.78 ± 0.08)
3	16	Среднее*	19.92 ± 0.25	16.14 ± 0.30	3.78 ± 0.17
			(1.62 ± 0.08)	(0.89 ± 0.09)	(0.73 ± 0.07)

* Фиксация бутонов выполнена в один день.

определяли частоту и распределение хиазм в разных соцветиях индивидуального растения *S. pimpinellifolium*, а также у двух различающихся по времени вегетации растений *S. pimpinellifolium*, растущих одновременно (табл. 2).

Из табл. 2 следует, что у растения № 1 вне зависимости от порядкового номера соцветий количество хиазм на клетку и их распределение вдоль бивалентов не отличались от средних значений. Также не наблюдали отличий между частотами и распределением хиазм на клетку в микроспороцитах растений № 2 и № 3, которые вегетировали в теплице одновременно, хотя и были разного возраста. В тоже время между средними значениями растения № 1, с одной стороны, и растениями № 2 и № 3, с другой стороны, выращенными и изученными в разные годы, существовали различия по распределению хиазм, хотя их общее количество оставалось на одном уровне и составляло от 19.92 до 20.00. В частности, у образца № 1 в среднем число интерстициальных хиазм на клетку составляло 2.85, тогда как у № 2 и № 3 было достоверно выше – от 3.44 до 3.78. Одновременно образец № 1 демонстрировал в среднем 17.14 дистальных хиазмы на клетку, что было значительно больше 16.14 хиазм у растения № 3.

Для оценки частоты и распределения хиазм в отдельной паре гомологов выполнили также исследование бивалента 2 (табл. 2).

У всех изученных растений вне зависимости от возраста общая частота хиазм в биваленте 2 не различалась и в среднем составляла от 1.51 до 1.63. Однако, в отличие от распределения в целом на клетку, в биваленте 2 дистальных и интерстициальных хиазм было примерно равное количество. У растения № 1 частота дистальных хиазм в соцветии II (0.42) была значительно меньше, чем в соцветиях V и VII (0.79).

Следовательно, частота хиазм на клетку является достаточно стабильным показателем рекомбинационного потенциала вида, не зависящим от возраста растений *S. pimpinellifolium*. Более вариабельным показателем было распределение хиазм, которое зависело от порядкового номера соцветия и года выращивания растений.

Частота и распределение хиазм в зависимости от климатических условий произрастания растений. Для выяснения влияния географических условий выращивания измерили частоту и распределение хиазм у растений двух видов томатов *S. pimpinellifolium* и

Таблица 3. Частота хиазм у растений двух видов томатов выращенных в один год в разных климатических зонах

Вид	Число хиазм на клетку (в биваленте 2), шт.	г. Москва	г. Тирасполь
<i>S. pimpinellifolium</i>	Общее число	19.89 ± 0.18 (1.52 ± 0.06)	19.95 ± 0.20 (1.48 ± 0.06)
	Число дистальных хиазм	16.14 ± 0.22 (0.59 ± 0.06)	16.74 ± 0.27 (0.64 ± 0.06)
	Число интерстициальных хиазм	3.75 ± 0.11 (0.93 ± 0.03)	3.21 ± 0.14 (0.84 ± 0.04)
<i>S. neorickii</i>	Общее число	17.63 ± 0.28 (1.35 ± 0.08)	17.78 ± 0.20 (1.15 ± 0.05)
	Число дистальных хиазм	14.41 ± 0.28 (0.76 ± 0.08)	15.10 ± 0.21 (0.40 ± 0.07)
	Число интерстициальных хиазм	3.22 ± 0.15 (0.59 ± 0.08)	2.68 ± 0.14 (0.75 ± 0.06)

S. neorickii в разных климатических зонах в одинаковые календарные сроки.

Результаты, приведенные в табл. 3, свидетельствуют, что растения *S. pimpinellifolium*, произрастающие в разных географических точках, различаются только частотой интерстициальных хиазм на клетку, которая в г. Москве составляла 3.75 и была достоверно выше, чем в г. Тирасполе — 3.21. Аналогичная картина распределения частоты и количества хиазм

на клетку была и у растений *S. neorickii*, с тем исключением, что различия не носили достоверного характера. Кроме этого у растений этого вида в г. Тирасполе в биваленте 2 произошло перераспределение в пользу интерстициальных хиазм, которых оказалось достоверно больше, чем дистальных. В целом в благоприятных условиях произрастания в г. Тирасполе у обоих видов происходило перераспределение хиазм в клетке в пользу дистальных, за исключением бивалента 2 у *S. neorickii*. Следовательно, влияние географических условий выращивания главным образом приводит к перераспределению хиазм в бивалентах генома томатов, но существенно не изменяет их общего числа в клетке.

Частота и распределение хиазм у растений *S. pimpinellifolium* в зависимости от уровня плоидности. Для выяснения влияния уровня плоидности изучили частоту и распределение хиазм у выращенных одновременно диплоидных и автотетраплоидных растений вида *S. pimpinellifolium*. В отличие от диплоидных растений данного вида, у автотетраплоидов в МКП на стадии диакинеза обнаружили не только биваленты, но и униваленты и квадрилваленты (рис. 2).

У автотетраплоидных растений только 40% МКП имели полную бивалентную конъюгацию хромосом. Измерение частоты и распределения хиазм среди всех МКП показало, что увеличение числа хромосом в два раза привело к примерно двукратному увеличению только количества дистальных хиазм, в то время как число интерстициальных осталось на уровне, характерном для диплоидных растений (табл. 4). В итоге у автотетраплоидов общее количество хиазм на клетку было только 32.60, что составляет примерно только 82% от теоретически ожидаемого количества.

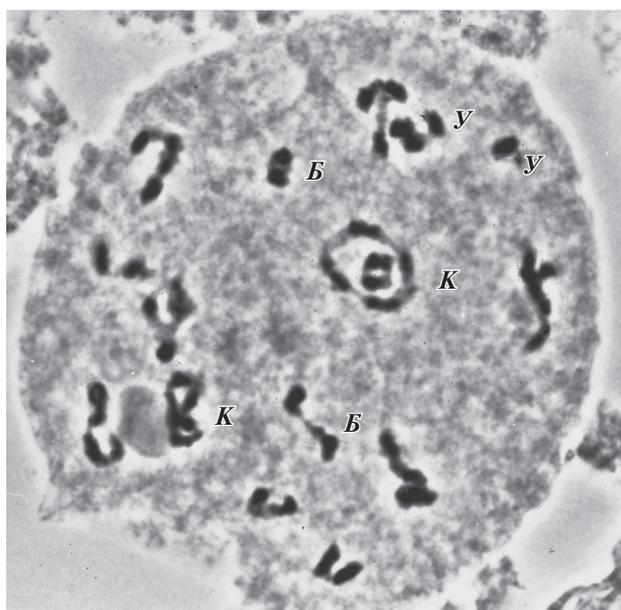


Рис. 2. Материнская клетка пыльцы тетраплоидного растения *S. pimpinellifolium* на стадии диакинеза. Буквами указаны некоторые мейотические фигуры: У — унивалент, Б — бивалент, К — квадрилвалент. Об. 100×.

Таблица 4. Частота и распределение хиазм у растений вида *S. pimpinellifolium* разной плоидности

Образец	Число хиазм на геном (на бивалент), шт.		
	общее число	число дистальных хиазм	число интерстициальных хиазм
<i>S. pimpinellifolium</i> (2n = 48)*	32.60 ± 0.40	29.05 ± 0.46	3.55 ± 0.23
<i>S. pimpinellifolium</i> (2n = 24)	19.89 ± 0.18	16.14 ± 0.22	3.75 ± 0.11

* – Для анализа использовали все МКП, включая МКП с уни- и квадрилвалентами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее у диплоидного томата (*L. esculentum* var. *cherry*) частота хиазм в диакинезе–метафазе мейоза оценивалась как 17.10 ± 2.0 и была несколько ниже, чем при подсчете в пахитене рекомбинационных узелков 21.89 ± 3.0 с помощью электронной микроскопии (Sherman, Stack, 1995). Позднее установлено, что у *S. lycopersicum* число поздних рекомбинационных узелков в среднем составляет около 18.80 на клетку, из которых 15.40 MLH1-положительные и соответствуют интерферирующему пути кроссинговера (Anderson et al., 2014). В этой же работе показано, что в биваленте 2 в среднем наблюдали 1.60 ± 0.72 рекомбинационных узелков, из которых 1.28 ± 0.45 содержали белок MLH1. В целом наши собственные результаты оценки рекомбинационной вариации для *S. lycopersicum* сорта Маргlobe (18.92 ± 0.20 хиазмы на клетку и 1.42 ± 0.06 в биваленте 2) хорошо согласуются с имеющимися в литературе данными. Следовательно, есть основание полагать, что оценка числа и распределения хиазм с помощью использованного нами метода корректна и может быть использована для оценки рекомбинационного потенциала у близкородственных видов томатов, содержащих одинаковое число хромосом.

Ранее установлено, что три близких вида британских кузнечиков различаются по частоте хиазм, уровень которой тем выше, чем сильнее инбридинг (Hewitt, 1964). Позднее показано, что в популяциях растений-самоопылителей *T. longissimum* средние значения частоты хиазм выше, чем в популяциях перекрестно опыляемых растений *T. speltoides*, особенно при сравнении интерстициальных хиазм (Zarchi et al., 1972). Известно, что виды томатов *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium* и *S. neorickii* являются самоопылителями, тогда как популяции *S. peruvianum* и *S. habrochaites* могут быть как самоопылителями, так и перекрестниками (Mutschler, Liedl, 1994). В данных исследованиях наблюдали эффект обратный обнаруженному ранее у *T. longissimum* и *T. speltoides* (Zarchi et al., 1972), поскольку растения *S. peruvianum* и *S. habrochaites* демонстрируют, соответственно, сопоставимый и более высокий уровень общей частоты хиазм на клетку и в биваленте 2, в сравнении с остальными видами (табл. 1). Кроме этого, среди всех изученных видов томатов не наблюдается от-

четливой зависимости количества интерстициальных хиазм от системы размножения. Отсутствие ясной зависимости между системой размножения и частотой хиазм у *S. peruvianum* и *S. habrochaites* может быть вызвано тем, что использованные в исследованиях образцы поддерживались в коллекциях посредством самоопыления, что могло привести к отбору генотипов с повышенной самосовместимостью и, как следствие, с пониженной частотой хиазм. Пониженная по сравнению с другими видами частота интерстициальных хиазм у культурного томата (табл. 1) может быть следствием его селекции при создании сорта и аналогична обнаруженным ранее эффектам на *D. melanogaster* (Charlesworth, Charlesworth, 1985).

Ранее для гибрида (*L. pimpinellifolium* × *L. esculentum*) было показано, что частота рекомбинации (rf) между известными маркерными генами в хромосоме 11 может меняться у одной и той же особи в зависимости от расположения плодов на соцветии и соцветия на растении (Griffing, Langridge, 1963). У арабидопсис в зависимости от стадии развития побега частота рекомбинации в микроспорочитах достоверно возрастала в четырех из девяти интервалов хромосом 1, 3 и 5 (Li et al., 2017). При этом в остальных интервалах этих же хромосом могло наблюдаться одновременное снижение частоты кроссинговера. При этом осталось неясно, приводят ли обнаруженные разнонаправленные перераспределения rf к глобальному изменению числа кроссинговеров в клетке. В наших исследованиях в разных соцветиях одного растения *S. pimpinellifolium* и у растений *S. pimpinellifolium* разного возраста, растущих одновременно, не выявили достоверных различий в частоте и распределении хиазм на клетку (табл. 2). В тоже время перераспределение дистальных и интерстициальных хиазм в биваленте 2 во II и V–VII соцветиях может указывать на их перераспределение между отдельными локусами.

Количество и распределение кроссоверных обменов может разнонаправленно изменяться под воздействием и внешних факторов (температура, минеральное питание и др.) (Modliszewski, 2017). Показано, что у ячменя повышение температуры значительно изменяет характер рекомбинации в микроспорочитах, что обусловлено изменением позиций интерферирующих кроссинговеров, содержащих белок HvMLH3 (Phillips et al., 2015).

В наших исследованиях у выращенных в разные годы растений *S. pimpinellifolium* (табл. 2) и растений у *S. pimpinellifolium* и *S. neorickii* (табл. 3) из разных географических зон основные различия также выражались в перераспределении между дистальными и интерстициальными хиазмами. Следовательно, рекомбинационная пластичность геномов томатов, вероятно, обусловлена именно перераспределением хиазм вдоль бивалентов, а не изменением их числа в клетке.

Полное дублирование генома (автотетраплоидия) является значимой особенностью многих высших растений, однако автотетраплоидные геномы сталкиваются с проблемами во время мейоза при формировании гамет из-за нарушений регулярной сегрегации хромосом, обусловленной образованием мультивалентов. Сравнения между вновь образованными и стабильными линиями автотетраплоидов предполагают, что эти проблемы преодолеваются с помощью ограничений позиций кроссоверных рекомбинационных событий и, следовательно, позиций хиазм, которые определяют сегрегацию гомологов в первом мейотическом делении (Bombliet et al., 2016). У созданных *de novo* автотетраплоидов в последовательных поколениях наблюдается уменьшение образования кваддивалентов и снижение частоты хиазм (например, Santos et al., 2003). Стабильные автотетраплоидные линии, эволюционировавшие в природе, имеют более низкие частоты хиазм, чем диплоидные линии, из которых они возникли (Mulligan, 1967; Yant et al., 2013). У ряда видов частота хиазм сводится к почти минимально возможному уровню, например, у автотетраплоидов *Lotus corniculatus* и *Arabidopsis arenosa* и *Physaria vitulifera* в среднем около 1.1 кроссинговера (хиазмы) на бивалент (Mulligan, 1967; Davies et al., 1990; Yant et al., 2013). По данным гибридологических исследований созданные *de novo* тетраплоидные гибриды *A. thaliana* демонстрировали в 1.3 раза более высокие частоты мейотической рекомбинации, чем их генетически идентичные диплоидные аналоги (Pecinka et al., 2011). Однако в их поколениях можно ожидать снижение gf , поскольку известно, что у вновь созданного автотетраплоида *A. thaliana* экотипа Col наблюдали 19.22 хиазмы на клетку, в то время как у относительно стабильных линий автотетраплоидов их было уже только 17.94–18.80 на клетку (Santos et al., 2003).

Результаты, полученные в нашей работе при сравнении частот хиазм у диплоидных и автотетраплоидных растений *S. pimpinellifolium* (табл. 4), в целом согласуются с данными ранее опубликованных исследований. В частности, общая частота хиазм на бивалент у автотетраплоида *S. pimpinellifolium* всего лишь в 1.64 раза выше, чем следовало теоретически ожидать исходя из сопоставления удвоенной частоты хиазм у диплоида. Также у автотетраплоида ограничению, прежде всего, подвержены интерстициальные хиазмы, частота которых в 2.1 раза ниже, чем ожидается теоретически, в то время как частота ди-

стальных хиазм уменьшилась менее значимо – всего лишь в 1.1 раза. Следуя гипотезе о том, что более эффективное распределение хиазм есть следствие увеличения мейотической кроссоверной интерференции, которая играет центральную роль в позиционировании кроссинговеров (Bombliet et al., 2016), можно предположить, что у автотетраплоидов томатов частота кроссинговеров в прицентромерных районах будет значительно ниже, чем в дистальных. Однако это предположение требует детальной экспериментальной проверки.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0574-2015-0005 (государственная регистрация № АААА-А17-117082950008-7).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Грати В.Г., Грати М.И. 1980. Анализ пахитенных хромосом у трех видов томатов. Цитология. 27 (8): 933–939. (Grati V.G., Grati M.I. 1980. Analysis of pachytene chromosomes in three tomato species. Tsitologiya. 27 (8): 933–939.)
- Жученко А.А., Король А.Б. 1985. Рекомбинация в эволюции и селекции. М.: Наука. 400 с. (Zhuchenko A.A., Korol A.B. 1985. Recombination in evolution and selection. M.: Nauka. 400 p.)
- Комахин Р.А., Комахина В.В., Милукова Н.А., Голденкова-Павлова И.В., Фади́на О.А., Жученко А.А. 2010. Трансгенные растения томата, экспрессирующие гены *recA* и *NLS-recA-licBM3*, как модель для изучения мейотической рекомбинации. Генетика. 46 (12): 1635–1644. (Komakhin R.A., Komakhina V.V., Milyukova N.A., Fadina O.A., Goldenkova-Pavlova I.V., Zhuchenko A.A. 2010. Transgenic tomato plants expressing *recA* and *NLS-recA-licBM3* genes as a model for studying meiotic recombination. Russian Journal of Genetics. 46 (12): 1440–1448.)
- Комахин Р.А., Комахина В.В., Милукова Н.А., Жученко А.А. 2012. Анализ частоты мейотической рекомбинации у трансгенных гибридов томата, экспрессирующих гены *recA* и *NLS-recA-licBM3*. Генетика. 48 (1): 30–39. (Komakhin R.A., Komakhina V.V., Milyukova N.A., Zhuchenko A.A. 2012. Analysis of the meiotic recombination frequency in transgenic tomato hybrids expressing *recA* and *NLS-recA-licBM3*. Russ. J. Genet. 48 (1): 23–31.)
- Комахин Р.А., Стрельникова С.Р., Жученко А.А. 2019. Генетические особенности маркерной линии культурного томата Мо 938. Генетика. 55 (1): 60–69 (Komakhin R.A., Strelnikova S.R., Zhuchenko A.A. 2019. Genetic features of the marker line tomato Mo938. Russ. J. Genet. 55 (1): doi: 10.1134/S1022795419010083).
- Юнусов З.Р., Соловьев А.А., Михайленко С.Н., Комахин Р.А., Жученко А.А. 2009. Влияние трансгенов на мейотическую рекомбинацию у высших эукариот, на примере растений томата. Сельскохозяйственная биология. 3: 52–59. (Yunusov Z.R., Solov'ev A.A., Mikhailenko S.N., Komakhin R.A., Zhuchenko A.A. 2009. Transgenes effect on meiotic recombination in higher eukaryotes by example of tomato plants. S-kh. Biol. 3: 52–59.)
- Anderson L.K., Lohmiller L.D., Tang X., Hammond D.B., Javernick L., Shearer L., Basu-Roy S., Martin O.C., Falque M. 2014. Combined fluorescent and electron microscopic imaging unveils the specific properties of two classes of meiotic crossovers. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 111: 13415–13420.

- Anderson L.K., Stack S.M. 2005. Recombination nodules in plants. *Cytogenet Genome Res.* 109: 198–204.
- Bombliks K., Jones G., Franklin C., Zickler D., Kleckner N. 2016. The challenge of evolving stable polyploidy: could an increase in “crossover interference distance” play a central role? *Chromosoma.* 125: 287–300.
- Charlesworth B., Charlesworth D. 1985. Genetic variation in recombination in *Drosophila*. I. Responses to selection and preliminary genetic analysis. *Heredity.* 54: 71–83.
- Davies A., Jenkins G., Rees H. 1990. Diploidization of *Lotus corniculatus* L. (Fabaceae) by elimination of multivalents. *Chromosoma.* 99: 289–295.
- Froenicke L., Wienberg J., Ashley T. 2002. Male mouse recombination maps for each autosome identified by chromosome painting. *Am. J. Hum. Genet.* 20: 589–600.
- Grelon M., Vezon D., Gendrot G., Pelletier G. 2001. *AtSPO11-1* is necessary for efficient meiotic recombination in plants. *EMBO J.* 20: 589–600.
- Grelon M. 2016. Meiotic recombination mechanisms. *C. R. Biol.* 339: 247–251.
- Griffing B., Langridge J. 1963. Factors affecting crossing over in the tomato. *Australian J. Biol. Sci.* 16: 826–837.
- Hewitt G.M. 1964. Population cytology of British grasshoppers. I. Chiasma variation in *Chorthippus brunneus*, *Chorthippus parallelus* and *Omocestus viridulus*. *Chromosoma.* 15: 212–230.
- Lhuissier F.G.P., Offenbergh H.H., Wittich P.E., Vischer N.O.E., Heyting C. 2007. The mismatch repair protein MLH1 marks a subset of strongly interfering crossovers in tomato. *Plant Cell.* 19: 862–876.
- Li F., De Storme N., Geelen D. 2017. Dynamics of male meiotic recombination frequency during plant development using fluorescently tagged lines in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.* 7: 42535.
- Li W., Chen C., Markmann-Mulisch U., Timofejeva L., Schmelzer E., Ma H., Reiss B. 2004. The *Arabidopsis AtRAD51* gene is dispensable for vegetative development but required for meiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101: 10596–10601.
- López E., Pradillo M., Oliver C., Romero C., Cuñado N., Santos J.L. 2011. Looking for natural variation in chiasma frequency in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 63: 887–894.
- MacArthur J.W., Chiasson L.P. 1947. Cytogenetic notes on tomato species and hybrids. *Genetics.* 32: 165–177.
- Modliszewski J.L., Copenhaver G.P. 2017. Meiotic recombination gets stressed out: CO frequency is plastic under pressure. *Curr. Opin. Plant Biol.* 36: 95–102.
- Mulligan A. 1967. Diploid and tetraploid *Physaria vitulifera* (Cruciferae). *Can. J. Bot.* 45: 183–188.
- Mutschler M., Liedl B. 1994. Interspecific crossing barriers in *Lycopersicon* and their relationship to self-incompatibility. In: Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants. Netherlands: Kluwer Academic. 164–188.
- Nilsson N.O., Pelger S. 1991. The relationship between natural variation in chiasma frequencies and recombination frequencies in barley. *Hereditas.* 115: 121–126.
- Pecinka A., Fang W., Rehmsmeier M., Levy A.A., Mittelsten Scheid O. 2011. Polyploidization increases meiotic recombination frequency in *Arabidopsis*. *BMC Biol.* 9: 24.
- Phillips D., Jenkins G., Macaulay M., Nibau C., Wnetrzak J., Fallding D., Colas I., Oakey H., Waugh R., Ramsay L. 2015. The effect of temperature on the male and female recombination landscape of barley. *New Phytol.* 208: 421–429.
- Price D.J. 1974. Variation in chiasma formation in *Cepaea nemoralis*. *Heredity.* 32: 211–217.
- Rick C.M., Butler L. 1956. Cytogenetics of the tomato. *Advances in Genetics.* 8: 267–382.
- Roeder G.S. 1997. Meiotic chromosomes: it takes two to tango. *Gen. Dev.* 11: 2600–2621.
- Sanchez-Moran E., Armstrong S.J., Santos J.L., Franklin F.C.H., Jones G.H. 2002. Variation in chiasma frequency among eight accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Genetics.* 162: 1415–1422.
- Santos J.L., Alfaro D., Sanchez-Moran E., Armstrong S.J., Franklin F.H.C., Jones G.H. 2003. Partial diploidization of meiosis in autotetraploid *Arabidopsis thaliana*. *Genetics.* 165: 1533–1540.
- Sherman J.D., Stack S.M. 1995. Two-dimensional spreads of synaptonemal complexes from solanaceous plants. VI. High-resolution recombination nodule map for tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Genetics.* 141: 683–708.
- Tease C., Jones G.H. 1978. Analysis of exchanges in differentially stained meiotic chromosomes of *Locusta migratoria* after BrdU-substitution and FPG staining. *Chromosoma.* 69: 163–178.
- Whitehouse C., Edgar L.A., Jones G.H., Parker J.S. 1981. The population cytogenetics of *Crepis capillaris*. I. Chiasma variation. *Heredity.* 47: 95–103.
- Yant L., Hollister J.D., Wright K.M., Arnold B.J., Higgins J.D., Franklin F.C. H., Bombliks K. 2013. Meiotic adaptation to genome duplication in *Arabidopsis arenosa*. *Curr. Biol.* 23: 2151–2156.
- Zarchi Y., Simchen G., Hillel J., Schaap T. 1972. Chiasmata and the breeding system in wild populations of diploid wheats. *Chromosoma.* 38: 77–94.

VARIABILITY OF CHIASMATA FREQUENCY IN DIFFERENT TOMATO SPECIES

S. R. Strelnikova^{a,*}, R. A. Komakhin^a, A. A. Zhuchenko^{a,†}

^aAll Russia Reserch Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia

*e-mail: strlnkv@yandex.ru

In the paper, the comparative studies of frequency and distribution of chiasmata in pollen mother cells (PMC) of five diploid species of tomato, viz. *Solanum lycopersicum*, *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*, *S. habrochaites*, *S. neorickii*, and of one autotetraploid *Solanum pimpinellifolium* are presented. It was established that in the same conditions of vegetation the total frequency of chiasmata was dependent on the species. Specifically, the green-fruited species *S. peruvianum*, *S. neorickii*, and *S. habrochaites* differed in frequency of distal chiasmata while red-fruited species *S. lycopersicum* and *S. pimpinellifolium* differed in frequency of interstitial chiasmata. It was demonstrated that total

chiasmata frequency in PMC of plants of one species is a sufficiently stable indicator of recombinational potential independent of vegetation conditions. Chiasmata redistribution between distal and interstitial positions turned out more variable depending on the species, year and geographic conditions of vegetation. The autotetraploid featured lower chiasmata frequency per bivalent than diploid *S. pimpinellifolium* first of all due to interstitial chiasmata which had a frequency typical for diploid plants. It was concluded that the recombinational plasticity of tomato genomes is controlled by the redistribution of chiasmata along bivalents and not by change of their total number within the cell.

Keywords: tomato, *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*, *S. habrochaites*, *S. neorickii*, recombination, chiasmata, meiosis