

**К.К. ШУЛЕМБАЕВА, Ж.Ж. ЧУНЕТОВА**

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ**

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы)

*Действием химического соединения –  $CdCl_2$  на сорта мягкой пшеницы, получены измененные растения по ряду качественных и количественных признаков.*

*Генетический анализ, проведенный на основе рецiproчного скрещивания показал, что измененные признаки мутантов наследуются независимо от направления скрещивания. Изменение габитуса и фенотипическое отклонение растений мутантов от контроля сопровождалось нарушением деления клеток в мейозе.*

Химические мутагены являются эффективным средством формообразовательного процесса у пшеницы и получения селекционно-значимых отклонений /1/.

Методом химического мутагенеза получены качественно новые формы, например, карликовые мутанты у пшеницы и ячменя, ультраскороспелые мутанты у ячменя, устойчивые к грибковым заболеваниям формы растений, высоколизиновые и высокопродуктивные мутанты /2/. Приведенные факты свидетельствуют о том, что полученные с помощью химических мутагенов мутанты могут успешно служить родоначальниками новых высокопродуктивных сортов. Однако, получение мутантов и их изучение - это только первый этап селекционной работы. Более важным является использование мутантов в гибридизации с целью получения положительных трансгрессий. Гибридизация дает возможность для более полного использования мутаций в селекции пшеницы /3-4/.

Получение мутантов и использование их для гибридизации требуют изучения генетической природы возникающих изменений, что имеет огромное значение и для подбора эффективных и специфически действующих мутагенов, и для расширения и углубления понимания природы эволюции пшеницы.

В данной работе приведены некоторые результаты исследования, генетического анализа полученных мутантов мягкой пшеницы.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Объектом исследований служили мутанты М1- М3, полученные при обработке  $CdCl_2$  4 сортов яровой мягкой пшеницы местной селекции - Шагала, Казахстанская 3, Женис, Лютесценс 32. Измененные растения впоследствии закладывались в виде линий (Л-1, Л-2). В ходе эксперимента были использованы следующие методы исследования: цитогенетический, гибридологический, статистический и морфологический.

Цитологические исследования проводили на временных давленных препаратах с помощью микроскопа ЛОМО Микмед-1. Генетический анализ гибридов  $F_1$  и  $F_2$  проводился по качественным и количественным признакам пшеницы. Статистическая обработка данных сводилась к нахождению средней арифметической и ее ошибки по анализируемым количественным признакам и определению достоверности разности между средними арифметическими с помощью критерия Стьюдента (t), генетический - нахождением достоверного значения  $\chi^2$  /5/. Учет хромосомных нарушений в МI, АI и АII мейоза проводился на временных ацетокарминовых препаратах под микроскопом МБИ-3. Репрезентативность результатов исследования обеспечивалась достаточным объемом выборки - 60-100 растений.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Генетический анализ мутантов пшеницы.* Химический мутагенез в селекции растений используется как эффективный метод для расширения изменчивости исходного материала. В мировой литературе имеется достаточно сведений о создании коммерческих сортов, полученных на основе экспериментального мутагенеза. Для использования отобранных мутантов в селекционном процессе необходимо изучить их генетическую природу. Для этого в генетических исследованиях используются два метода: анализирующее и реципрокное скрещивание.

*Анализирующее скрещивание.* С целью установления природы возникших мутационных изменений по количественным признакам, как правило, используют проведение реципрокных скрещиваний между исходной формой и полученным на ее основе мутантом с последующим анализом гибридов F<sub>1</sub>. В наших исследованиях в поколении M<sub>2</sub> измененные растения по ряду количественных и качественных признаков сохранили свойства проявленные в M<sub>1</sub>. Для установления гомо - и гетерозиготности генотипа мутантных растений проводили анализирующее скрещивание с исходным сортом. Мутантные формы с признаками антоциановой окраски стебля, опушением листовой поверхности, удлинением колоса скрещивались с исходным сортом Казахстанская 3. В BC<sub>1</sub> расщепление признаков на измененные и нормальные соответствовало соотношению 1:1, а в F<sub>2</sub> 3:1 ( $\chi^2 = 1,89$ ). Такие же результаты получены с мутантом сорта Шагала по признакам антоциановой окраской стебля и пазухи листа. У гибридов BC<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> наблюдали расщепления по признакам удлинения стеблевых и нормальных узлов в отношении 1:1 и 3:1 соответственно, что свидетельствует о гетерозиготной природе мутанта и моногенном наследовании этого признака.

Таблица 1

Генетический анализ гибридов F<sub>2</sub> и BC<sub>1</sub> от скрещивания мутантов с сортом Казахстанская 3

Признаки мутантных форм	Соотношение измененных и нормальных растений					
	BC <sub>1</sub>			F <sub>2</sub>		
	<b>ЛИНИЯ 1</b>					
Длина колоса	27:2 5	1:1	0,06	188:57	3:1	0,40
Безостый колос	32:2 9	1:1	0,04	168:48	3:1	0,89
Антоциановый стебель	10:1 3	1:1	0,20	126:32	3:1	1,89
Опушение листа	8:10	1:1	0,20	112:28	3:1	1,87
Коленчатость стебля	<b>ЛИНИЯ 3</b>					
	22:2 0	1:1	0,90	118:31	3:1	1,38
Кустистость растений	45:1 3	3:1	0,20	120:5	15:1	1,14
Длина колоса	45:1 8	3:1	0,42	223:51	13:3	0,003
Антоциановая окраска пазухи листа	19:2 3	1:1	0,38	97:29	3:1	0,26
Плотность колоса	33:3 1	1:1	0,06	85: 54	9:7	1,38

Примечание: К-контроль; \*-при  $P < 0,05$ ; \*\*при  $P < 0,01$ ; \*\*\*при  $P < 0,001$ .

Напротив, расщепление по продуктивной кустистости, длине и плотности колоса в  $BC_1$  соответствовало 3:1, а в популяции  $F_2$  15:1, 13:3 и 9:7, соответственно. Отсюда видно, что рассматриваемые признаки мутантной линий наследуются по полимерному, эпистатическому и комплементарному механизмам взаимодействия неаллельных генов. Отсюда видно, что реакция растений на действие химических соединений зависит от генотипа пшеницы. Дальнейшее исследование показали, что возникшие в  $M_1$  изменения по элементам продуктивности у сортов Каз.3, Шагала проявились и в последующих поколениях  $M_2 - M_6$ . Это доказано проведением реципрокного скрещивания, где измененные признаки наследуются независимо от направления скрещивания. Фенотипическое изменение растений сопровождалось нарушением процесса мейоза.

*Цитологический анализ мутантных растений  $M_2$ .* Химические мутагены благодаря способности индуцировать высокую частоту мутаций используются во многих странах мира для создания селекционного материала.

#### Нарушение мейоза у мутантных растений сорта Казахстанская 3

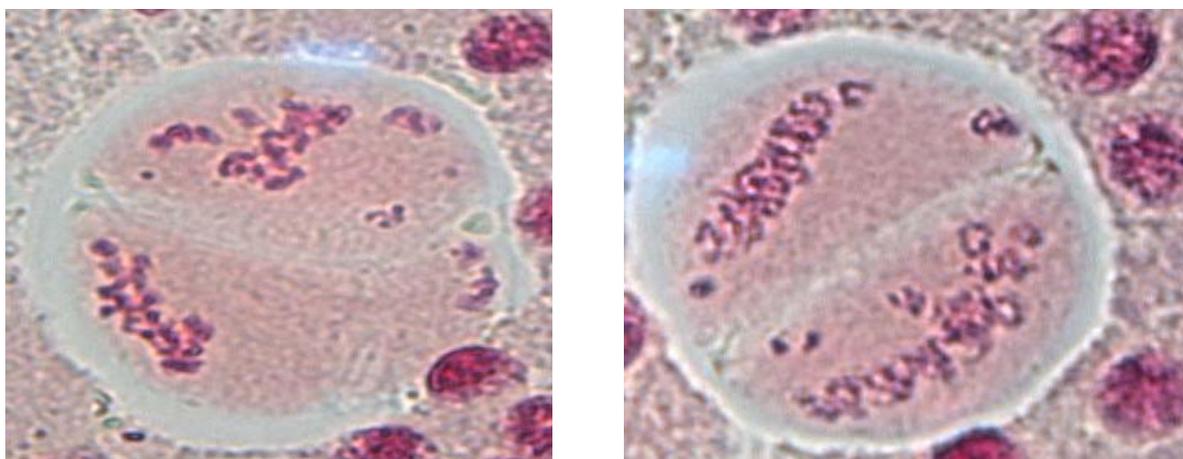


Рисунок 1, 2. Нарушение ориентации экватора хромосом и их фрагментация



Рисунок 3. Цитомиксис - переход содержимого клетки в соседние

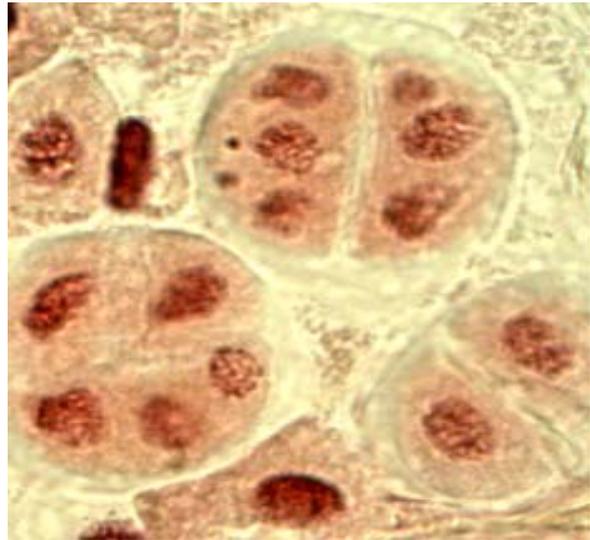


Рисунок 4 – пентада и гексада с микро-ядрами в тетрадах

Хромосомные абберации и нарушение деления клеткам мейозе является одним из основных тестов на мутагенность тех или иных воздействий. Наиболее показательным в этом отношении является мейотическое деление клеток, особенно у таких объектов, как пшеница, имеющих большое число трудно идентифицируемых хромосом. Более того, нарушения, доходящие до мейотического деления, имеют больше шансов быть переданными следующему поколению.

У мутантных растений в поколении  $M_2$  процент нарушенных клеток в  $M_1$  мейоза составил 35, а в анафазах  $A_1$  и  $A_2$  – 20, что указывает на значительное снижение процента нарушений клеток по сравнению с мутантными растениями  $M_1$  (64% в  $A_1$  и 68% -  $A_2$ ). Нарушения в виде явления цитомиксиса – переход содержимого клетки в соседние, у  $M_1$  составили 20-30 % от всего изученных клеток, а у  $M_2$  процент таких клеток уменьшился до 7-9 %. Так, процент нарушений у мутантной формы сорта Казахстанская 3 в  $M_2$  составил 55%, напротив, нарушения отмеченные в поколении  $M_1$  - 90-95%. Такое же снижение процента нарушений наблюдалось и по мутантам сортов Женис, Лютесценс 32 и Шагала. В  $A_1$  и  $A_2$ , а также в тетрадах наблюдали незначительные нарушения в виде отстающих на полюсе фрагментов хромосом, мостов, асинхронного деления. Изредка наблюдали клетки без содержимого.

*Цитологический анализ мутантных растений  $M_3$ .* Для характеристики мейоза у мутантных линий  $M_3$  и идентификации моносомных, дисомных растений у гибридов  $F_1$  с мутантом  $L_1$ , просмотрено 1080 клеток. Результаты цитологического анализа мутантных растений  $M_3$  приведены на рисунке 2. Как видно из рисунка 2 доля клеток с пикнозом у мутантов  $M_3$  линии  $L_1$  сорта Казахстанская 3 составило 0,29; мутанта сорта Женис - 0,10; Лютесценс 32 – 0,23; линии –  $L_3$  сорта Шагала – 0,21 по сравнению с нарушениями клеток в  $M_1$  (соответственно). Доля клеток с унивалентами составила соответственно: 0,19; 0,009; 0,16.

Таким образом, в старшей генерации мутантов ( $M_3$ ) сорта Казахстанская 3 и Шагала, отобранных для практической селекции, доля клеток с нарушениями в  $M_1$  мейоза намного снижена по сравнению с мутантами как  $M_1$ , так и  $M_2$ . Нарушения в мейозе растений  $M_2$  у вышеперечисленных сортов имели такой же характер как в мейозе растений  $M_1$ .

Характерными нарушениями для мутантных растений потомства  $M_1 - M_3$  были пикноз; смещение веретена деления метафазы I; наличие унивалентов, поливалентов микроядер в терадах; асинхронность деления клеток в AI. Данное исследование свидетельствует о мутагенном эффекте использованных химических соединений.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Поползухина Нина Алексеевна. Селекция яровой мягкой пшеницы в условиях Западной Сибири на основе сочетания индуцированного мутагенеза и гибридизации: Дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.05. - Омск, 2003 - 325 с. РГБ ОД, 71:05-6/11
2. Авдеев Ю.И. Генетический анализ растений. Монография. - Астрахань: Астраханский Университет, 2004. - 379 С.
3. Довголюк А.И., Калиняк Т.Б., Блюм Я.Б. Цитогенетические эффекты солей токсичных металлов в клетках опикальной меристемы корней проростков *Allium Cera L* // Цитология и генетика. – 2001. - № 2. - С. 3-9.
4. Паушева З.П. Фиксатор, их состав и использование. Практикум по цитологии растений. - М.: Колос, 1970. - С. 62- 67.
5. Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. - М.: Колос, 1970. - С.102- 115.

\*\*\*

*Жұмсақ бидайда  $CdCl_2$  әсерінен сандық және сапалық белгілері өзгерген өсімдіктер алынды. Генетикалық талдау, реципрокты шағылыстыру нәтижесінде өзгерген мутантты өсімдіктердің белгісі шағылыстыру бағытына тәуелсіз тұқым қуалады. Фенотипі өзгерген өсімдіктерде бақылауға қарағанда мейоз процесінде, клетканың бұзылысымен ерекшеленді.*

\*\*\*

*Under action of  $CdCl_2$  on sorts of soft wheat, plants with changed qualitative and quantitative characteristics have been obtained. Genetic analysis on the basis of reciprocal crossing has shown that the changed characteristics of mutants are inherited irrespective of a crossing direction. Changes in habitus and phenotypical deviations of mutant plants from control were accompanied by cell fission malfunctions during meiosis.*