

УДК 575.633.11

Ж.Ж. Чунетова*, К.К. Шулембаева

Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
Республика Казахстан, г. Алматы
*E-mail: Chanar-79-16-06@mail.ru

Использование химических мутагенов в селекции пшеницы

Действием химического соединения – $CdCl_2$ на сорта мягкой пшеницы, получены гено- и фенотипические измененные растения по ряду качественных и количественных признаков. Генетический анализ мутантных растений с использованием реципрокного скрещивания показал, что измененные признаки у мутантов наследуются независимо от направления скрещивания. Изменение габитуса и фенотипическое отклонение растений мутантов от контрольного сорта сопровождалось нарушением микроспорогенеза клеток в мейозе. В старшей генерации мутантов (M_6) сорта Казахстанская 3 и Шагала, отобранных для практической селекции, доля клеток с нарушениями в M_1 мейоза намного снижена по сравнению с мутантами в M_4 . Нарушения в мейозе растений M_2 - M_3 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 множество микроядер в терадах; асинхронное деление клеток в AI. В генерации M_6 Фенотипическое изменение у мутантных растений стойко наследуется от поколения к поколению. Полученные результаты исследования свидетельствует о мутагенном эффекте использованного водного раствора хлористого кадмия в эксперименте. Химические мутагены являются эффективным средством формообразовательного процесса у пшеницы и получения селекционно-значимых отклонений.

Ключевые слова: пшеница, мутант, изменчивость, фенотип, генотип, мейоз, клетка, микроспорогенез.

Zh.Zh. Chunetova, K.K. Shulembayeva

Use of chemical mutagens in wheat breeding

Genetic analysis of traits in modified plants using reciprocal crosses showed that these traits are inherited in mutants regardless of the direction of the crossing. Phenotypic alterations in modified plants from control varieties were accompanied by violations in meiosis. Older generation (M_6) of mutants, selected for practical breeding, proportion of cells with abnormalities in meiosis is significantly reduced in comparison with meiotic mutants M_1 – M_3 . Phenotypic change in mutant plants is steadily inherited from generation to generation.

Key words: wheat, mutant, variability, phenotype, genotype, meiosis, cell, microsporogenesis.

Ж.Ж. Чунетова, К.К. Шулембаева

Бидай селекциясында химиялық мутагендерді қолдану

Белгілерінен өзгерген өсімдіктерге реципрокты будандастыру көмегімен жүргізілген генетикалық талдау жұмысы, мутанттардың осы белгілерінің шағылыстыру бағытына байланыссыз, ұрпақтан ұрпаққа тұқым қуалайтындығын көрсетті. Мутантты өсімдіктердің бақылау сортымен салыстырғандағы мейоз үрдісінің бұзылысы, олардың фенотиптік ауытқуымен жалғасты. Практикалық селекция үшін сұрыптап алған M_6 генерациясындағы мутантты формаларының мейоз үрдісінің бұзылысы M_1 – M_3 мутанттарында кездесетін ауытқулардан анағұрлым төмендеген. Мутантты өсімдіктердің фенотиптік өзгерістері ұрпақтан ұрпаққа тұрақты беріледі.

Түйін сөздер: бидай, мутант, өзгергіштік, фенотип, генотип, мейоз, клетка, микроспорогенез.

Введение

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. 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 [1-3].

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 [4-8]. В данной работе приведены некоторые результаты исследования, генетического анализа полученных мутантов мягкой пшеницы.

Материалы и методы

Объектом исследований служили мутанты М1- М6, 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 χ^2 [9-10].

Учет хромосомных нарушений в МI, AI и AP мейоза проводился на временных ацетокарминовых препаратах под микроскопом МБИ-3. Репрезентативность результатов исследования обеспечивалась достаточным объемом выборки – 60-100 растений.

Результаты и их 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 по селекционным и генетическим параметрам. Для генетического исследования используются методы: анализирующее и рецiproкное скрещивание.

Анализирующее скрещивание. С целью установления природы возникших мутационных изменений по количественным признакам, как правило, используют проведение рецiproкных скрещиваний между исходной формой и полученным на ее основе мутантом с последующим анализом гибридов F_1 . В наших исследованиях в генерации M_6 измененные растения по ряду количественных и качественных признаков сохранили свойства проявленные в M_1 . 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_1 расщепление признаков на измененные и нормальные соответствовало соотношению 1:1, а в F_2 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_1 и F_2 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.

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 (таблица 1). Отсюда видно,

что рассматриваемые признаки мутантной линии наследуются по полимерному, эпистатическому и комплементарному механизмам взаимодейст-

вия неаллельных генов. Отсюда видно, что реакция растений на действие химических соединений зависит от генотипа пшеницы.

Таблица 1 – Генетический анализ гибридов F_2 и BC_1 от скрещивания мутантов с сортом Казахстанская 3

Признаки мутантных форм	Соотношение измененных и нормальных растений					
	BC_1			F_2		
Линия Л1	Фактическое	Теоретическое	χ^2	Фактическое	Теоретическое	χ^2
Длина колоса	27:25	1:1	0,06	188:57	3:1	0,40
Безостый колос	32:29	1:1	0,04	168:48	3:1	0,89
Антоциановый стебель	10:13	1:1	0,20	126:32	3:1	1,89
Опушение листа	8:10	1:1	0,20	112:28	3:1	1,87
Линия Л3	22:20	1:1	0,90	118:31	3:1	1,38
Коленчатость стебля						
Кустистость растений	45:13	3:1	0,20	120:5	15:1	1,14
Длина колоса	45:18	3:1	0,42	223:51	13:3	0,00
Антоциановая окраска пазухи листа	19:23	1:1	0,38	97:29	3:1	0,26
Плотность колоса	33:31	1:1	0,06	85: 54	3:1	1,38

Дальнейшее исследование показали, что возникшие в M_1 изменения по элементам продуктивности у сортов Казахстанская 3, Шагала проявились и в последующих поколениях M_2 – M_6 . Это доказано проведением рецiproчного скрещивания, где измененные признаки наследуются независимо от направления скрещивания. Фенотипическое изменение растений сопровождалось нарушением процесса мейоза.

Цитологический анализ мутантных растений M_2 . Химические мутагены индуцируют высокую частоту мутаций и, поэтому во многих научно-исследовательских учреждениях мира широко используются для создания нового селекционного материала. Хромосомные абберации и нарушение деления клетки в 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 АI и АII – 20, что указывает на значительное снижение процента нарушений клеток по сравнению с мутантными растениями M_1 (64% в АI и 68% – А II). 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, Лютеценс 32 и Шагала. В АI и АII, 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 Л1, 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 Л1 сорта Казахстанская 3 составило 0,29; мутанта

сорта Женис – 0,10; Лютесценс 32 – 0,23; линии – ЛЗ 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_4) 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 . На-

рушения 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_2 были пикноз; смещение веретена деления метафазы I; наличие унивалентов, поливалентов микроядер в тетадах; асинхронность деления клеток в AI. Данное исследование свидетельствует о мутагенном эффекте использованных химических соединений.

Литература

- 1 Уразалиев Р.А., Нурбеков С.И. История, состояние и перспективы развития селекционно-генетических работ по пшенице в Казахстане. Научно-производственному центру земледелия и растениеводства (КазНИИЗ) – 70-лет, Алматы-бак 2004. -С. 13-30.
- 2 Есимбекова М.А. Создание генетических ресурсов сельскохозяйственных культур – подходы к реализации. Научно-производственному центру земледелия и растениеводства (КазНИИЗ) – 70-лет, Алматыбак, 2004. -С. 112-125.
- 3 Хвостова В.В., Ячевская Г.Л. Перестройки хромосом в мейозе // Цитология и генетика мейоза. – М.: Наука, 1975. – С. 232-263.
- 4 Ларченко Е.А., Моргун В.В. Сравнительный анализ наследственной изменчивости растений при мутагенной обработке генеративных клеток и семян кукурузы // Цитология и генетика. – 2000. – Т.34, № 4. – С.17-19.
- 5 Рапопорт И.А. Открытие химического мутагенеза // Избранные труды. –М.: Наука, 1993. – С.304.
- 6 Т.В. Сальникова, Н.Ф. Амеликина Мутагенная активность этиленамина на мягкой пшеницы в зависимости от экспозиции воздействия. Сообщение II. Нарушения хромосом митотическая активность клеток // Цитология и генетика 2000. Т. 34. №4. с.141-147.
- 7 Gaul H. Use of induced mutations in seed-propagated species. Mutations and plant breeding. Nat. Acad. Sci. Nat. Res. Council Publs, 891, 206, 1961.
- 8 Borojevic K. The use of induced mutations in plant breeding. Rept. FAO/JAEA Techn. Meeting, Rome, 505, 1975.
- 9 Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агрпромпиздат, 1985. – 351 с.
- 10 Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. – М.: Колос, 1970. – С.102- 115.

References

- 1 Urazaliev R.A., Nurbekov S.I. Istorija, sostojanie i perspektivy razvitija selekcionno-geneticheskikh rabot po pshenice v Kazahstane. Nauchno-proizvodstvennomu centru zemledelija i rastenievodstva (KazNIIZ) – 70-let, Almatybak 2004. -S. 13-30.
- 2 Esimbekova M.A. Sozdanie geneticheskikh resursov sel'skhozjajstvennyh kul'tur – podhody k realizacii. Nauchno-proizvodstvennomu centru zemledelija i rastenievodstva (KazNIIZ) – 70-let, Almatybak, 2004. -S. 112-125.
- 3 Hvostova V.V., Jachevskaja G.L. Perestrojki hromosom v mejoze // Citologija i genetika mejoza. – M.: Nauka, 1975. – S. 232-263.
- 4 Larchenko E.A., Morgun V.V. Sravnitel'nyj analiz nasledstvennoj izmenchivosti rastenij pri mutagennoj obrabotke generativnyh kletok i semjan kukuruzy // Citologija i genetika. – 2000. – T.34, № 4. – S.17-19.
- 5 Rapoport I.A. Otkrytie himicheskogo mutageneza // Izbrannye trudy. –M.: Nauka, 1993. – S.304.
- 6 T.V. Sal'nikova, N.F. Amel'kina Mutagennaja aktivnost' jetilenamina na mjagkoj pshenicy v zavisimosti ot jekspozicii vozdejstvija. Soobshhenie II. Narushenija hromosom mitoticheskaja aktivnost' kletok // Citologija i genetika 2000. T. 34. №4. s.141-147.
- 7 Gaul H. Use of induced mutations in seed-propagated species. Mutations and plant breeding. Nat. Acad. Sci. Nat. Res. Council Publs, 891, 206, 1961.
- 8 Borojevic K. The use of induced mutations in plant breeding. Rept. FAO/JAEA Techn. Meeting, Rome, 505, 1975.
- 9 Dospheov B.A. Metodika polevogo opyta. – M.: Agropromizdat, 1985. – 351 s.
- 10 Plohinskij N.A. Matematicheskie metody v biologii. – M.: Kolos, 1970. – S.102- 115.