

ГЕН ШАНГИН-БЕРЕЗОВСКИЙ, ОСКАР ПРИЙЛИНН, ТОЙВО ОРАВ

ВЛИЯНИЕ ПРЕПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН M_2 ГИДРАЗИНХЛОРИДОМ НА ВЫХОД МУТАЦИЙ, ВОЗНИКАЮЩИХ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ДРУГИХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Из соединений, модифицирующих развитие растений — носителей мутаций (M_1 или M_2), а также влияющих непосредственно на процесс выявления в M_2 мутаций, которые возникают после облучения или действия химических соединений, нами использовался гидразинхлорид (ГХ). Существенным результатом этих опытов (Шангин-Березовский и др., 1969) был факт несовпадения на дозово-экспозиционных кривых максимума выявления радиационных мутаций и стимулятивной протекции ГХ в отношении количества проростков в семьях M_2 . Такое же несовпадение эффектов стимуляции развития растений — носителей мутаций — и выявления мутаций было обнаружено при использовании других биологически активных соединений (Шангин-Березовский, 1972; Шангин-Березовский, Орав, 1972). Тест-объектом указанных опытов служили хлорофильные мутации; модифицирующий эффект выявления мутаций мог в отдельных случаях составлять порядок и более. В связи с этим важно было выяснить, только ли в отношении хлорофильных мутаций эффективны биологически активные соединения, в частности ГХ. Семена M_2 от комбинированного воздействия N-нитрозоэтилмочевинной и этиленимином (4 ч воздействия каждым соединением, 4 ч промывки между обработкой мутагенами и 12 ч итоговой промывки; 0,05%-ный этиленимин, 0,02%-ная нитрозоэтилмочевина; 20 °C) перед посевом в течение 6 ч обрабатывались 0,001%-ным раствором ГХ. В полевом опыте учтено количество растений в семьях и различные мутации, а также фактор линии (происхождение исходных семян от определенных растений). Результаты опыта и значимость эффекта ГХ по критериям Вилкоксона и знаков для сопряженных пар (Урбах, 1964) представлены в табл. 1, 2 и 3.

Как видно из табл. 1, в целом, ГХ проявил еще не повреждающее, а уже слабо стимулирующее действие на количество растений в семьях. Так как ГХ обрабатывалась примерно половина семей каждого блока, критерий Вилкоксона подтвердил положительный эффект обработки в отношении материала в целом (10%-ная прибавка числа растений в семьях при уровне значимости 1—0,1; табл. 1). По валовому выходу мутаций обнаружен 3—4-кратный положительный эффект ГХ; при этом наблюдалось увеличение как доли семей с мутациями, так и процента мутантов в популяции. Значимость эффекта подтвердил также критерий пар (табл. 1).

Таблица 1

Выход мутаций после действия ГХ на семена М₂ (от действия на ячмень N-нитрозо-N-этилмочевины + этиленимина). Взвешенные средние

Тест-объекты	Режим ГХ	Семьи с мутациями, % α	Мутанты, % β	Уровень изменчивости $P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$		Уровень значимости эффекта по критерию сопряженных пар, %
				αβ	Кратность эффекта ГХ	
Хлорофильные мутации	Без обработки	8,39±0,05	2,58±0,01	21,46±0,13		
	С обработкой ГХ	17,85±0,08	4,64±0,02	82,82±0,52	3,85	0,1***
Другие морфологические мутации*	Без обработки	35,34±1,20	7,85±0,25	277,42±12,8		
	С обработкой ГХ	67,17±1,35	15,40±0,46	1276,3±45,9	4,60	1—0,1
Количество растений на семью	Без обработки	7,18±0,11	(8,08±0,26)**			
	С обработкой ГХ	7,88±0,12	(8,99±0,28)**		1,10	1—0,1

* Включая мутации антоциановой окраски, пониженной плодовитости и позднеспелые;

** включая влияние обработки на контроль (без действия мутагенов в исходном поколении опыта);

*** нулевая гипотеза в табл. 1—3 принимается при уровне > 5 и отвергается при $< 5\%$.

Помимо хлорофильных мутаций, эффект воздействия ГХ удалось показать на 12 из 24 выбранных для анализа видов мутаций (табл. 2). Отсутствие доказанной значимости эффекта для других мутаций связано с относительно малым числом степеней свободы. Эффект ГХ, как видно из этой таблицы, колебался в пределах двух порядков, достигая уровня 205 для выявления узкоколосых и низкорослых мутантов. Интересно, что в отношении мутаций толстой соломы действие ГХ было отрицательным (0,86; табл. 2), что связано с уменьшением доли семей с изменениями, хотя процент мутантов после обработки семян ГХ увеличился. Это дополняет неоднократно отмеченную в наших прежних опытах разную чувствительность мутаций к модифицирующим агентам.

В целом данные табл. 1 и 2 говорят о весьма высоком уровне изменчивости, что, очевидно, связано с интенсивностью инициального воздействия (комбинированный мутагенез при высоких дозах обработки исходного материала опыта).

На первый взгляд положительный эффект ГХ в отношении выявления мутаций можно связать с увеличением количества растений в семьях — логично думать, что в отсутствие протекции ГХ в первую очередь не прорастают, т. е. гибнут, мутантные растения. Это находит подтверждение при анализе распределения знака эффекта по блокам семей с разной чувствительностью к обработке ГХ (табл. 3). Как видно из табл. 3, процент блоков, где уменьшению или увеличению количества растений в семьях соответствует меньший или больший выход мутаций, оказывается сходным. Однако существенно иная картина обнаруживается при попытке связать знак эффекта с каждым блоком в отдель-

Таблица 2

Эффективность предпосевной обработки семян M_2 ячменя (от действия N-нитрозо-N-этилмочевины + этиленimina) ГХ в отношении различных видов мутаций

Мутации		Режим ГХ		Кратность эффекта ГХ	Уровень значимости эффекта по критерию сопряженных пар, %
		Без обработки	Обработка ГХ		
Укороченные ости	Мутации, % (α)	0,44	1,09	2,48	5
	Мутанты, % (β)	0,06	0,18	3,00	>5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	0,026	0,196	7,43	
Полуостистый колос	Мутации, % (α)	0,07	0,89	12,71	5
	Мутанты, % (β)	0,01	0,23	23,00	5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	0,001	0,205	205,00	
Узкий колос	Мутации, % (α)	0,36	0,61	1,69	>5
	Мутанты, % (β)	0,06	0,11	1,83	5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	0,02	0,07	3,50	
Крупный колос*	Мутации, % (α)	3,28	5,06	1,54	1 → 0,1
	Мутанты, % (β)	0,53	0,91	1,72	5 → 1
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	1,74	4,60	2,65	
Полустерильный колос	Мутации, % (α)	13,33	16,83	1,26	5 → 1
	Мутанты, % (β)	2,89	3,73	1,29	>5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	38,52	62,78	1,63	
Многостебельные карлики со сниженной плодovitостью	Мутации, % (α)	6,04	8,89	1,47	≥ 5
	Мутанты, % (β)	1,29	1,69	1,31	>5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	7,79	15,02	1,93	
Стерильный колос	Мутации, % (α)	4,81	5,47	1,14	>5
	Мутанты, % (β)	0,87	0,95	1,09	5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	4,18	5,19	1,24	
Антоциановая окраска главной жилки чешуй колоса	Мутации, % (α)	5,97	9,78	1,64	1 → 0,1
	Мутанты, % (β)	1,09	2,16	1,98	5 → 1
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	6,51	21,12	3,24	
Антоциановая окраска всех жилок чешуй колоса	Мутации, % (α)	0,22	1,02	4,64	5
	Мутанты, % (β)	0,04	0,28	7,00	5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	0,09	0,28	3,11	
Толстая солома	Мутации, % (α)	0,66	0,20	0,32	5
	Мутанты, % (β)	0,11	0,31	2,82	5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	0,07	0,06	0,86	
Укороченная солома	Мутации, % (α)	0,07	0,82	11,71	5
	Мутанты, % (β)	0,01	0,25	25,00	>5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	0,001	0,205	205	
Позднее созревание	Мутации, % (α)	2,99	5,74	1,92	5 → 1
	Мутанты, % (β)	0,71	1,39	1,95	>5
	$P_{\alpha\beta} \cdot 10^{-4}$	2,12	7,98	3,76	

* Увеличение числа колосков (при сохранении рядности) не менее чем в 1,5 раза.

ности. По данным табл. 3 выясняется, что всего 14—42% блоков имеют соответствие между уменьшением или увеличением выхода мутаций и уменьшением или увеличением числа растений в семьях. Это подтверждается также критерием знаков: с вероятностью 99% в популяции

Таблица 3

Распределение эффекта ГХ по блокам семей и степень общности эффекта по тестам количества растений в семьях и выходу мутаций

Тест-объекты	Эффект ГХ по блокам семей (линиям)						Степень общности (соответствия АБ, АВ)								
	Количество блоков со знаком эффекта			Блоки со знаком эффекта, %			Количество блоков, совпадающих по знаку эффекта с А			Блоки, совпадающие по знаку эффекта с А, %			Значимость степени несоответствия эффекта (критерий знаков*)		
	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	количество совпадений	↑	уровень значимости
Количество растений на семью (А)	7	24	9	17,5	60,0	22,5	(7)	(24)	(9)*						
Хлорофильные мутации (Б)	5	22	13	12,5	55,0	32,5	1	10	0	14,3	41,7	0,0	11	12	1
Другие морфологические мутации (В)	5	30	5	12,5	75,0	12,5	0	8	0	0,0	33,3	0,0	8	12	1

* Урбах, 1964; $n=40$ (число сопряженных пар равно сумме блоков, приведенных в скобках).

преобладают блоки, где знак стимуляции ГХ в отношении прорастающих семян и знак выявления мутаций не совпадают. Таким образом, не отвергая общего объяснения (связь эффекта ГХ с непосредственным отбором — подбором мутантных растений), эффект ГХ следует отнести также за счет разной чувствительности к нему различных мутаций и мутантных растений разных блоков (опосредованный отбор). Уровень изменчивости может увеличиваться или оставаться прежним независимо от изменения количества растений в семьях.

Следует добавить, что выбранные на основании прежнего опыта условия обработки семян ГХ и доза-экспозиция не обязательно соответствовали наибольшему по выявлению мутаций эффекту ГХ. Как наблюдалось прежде (Шангин-Березовский и др., 1969), наиболее сильным оказывается модифицирующий эффект на той части дозово-экспозиционной кривой, где стимуляция развития носителей мутаций сменяется слабо повреждающим эффектом. Из этого следует, что фактический уровень изменчивости в изученном нами материале мог быть при других условиях воздействия ГХ еще более высоким. В связи с этим следует обратить внимание на тот факт, что после обработки ГХ был выявлен весьма широкий спектр жизнеспособных изменений (в том числе плотноколосые, прочносоломистые, многорядные, а также мутации с измененным числом остей и своеобразным распределением окраски растения и колоса). Использование биологически активных соединений может, по видимому, представить определенный интерес для селекции растений.

ЛИТЕРАТУРА

- Шангин-Березовский Г. Н., Орав Т., Орав И., 1969. Влияние предпосевной обработки семян M_2 γ -облученного ячменя солянокислым гидразином на частоту и спектр хлорофильных мутаций. Изв. АН ЭССР. Биол. 18 (1) : 29—39.
- Шангин-Березовский Г. Н., 1972. Мутагенез как функция развития носителя мутаций. В сб.: Чувствительность организмов к мутагенным факторам и возникновение мутаций. Вильнюс (в печати).
- Шангин-Березовский Г. Н., Орав Т. А., 1972. Мутагенный эффект N-нитрозоэтил мочевины и 1,4 бисдиазоацетилбутана при низкой температуре обработки семян ячменя и воздействия сланцевым ростовым веществом. В сб.: Химический мутагенез и создание селекционного материала. М. (в печати).
- Урбах В. Ю., 1964. Биометрические методы. М.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
19/XI 1971

GEN SHANGIN-BEREZOVSKI, OSKAR PRIILINN, TOIVO ORAV

**M_2 PÖLVKONNA SEEMNETE KÜLVIEELSE HÜDRASIINKLORIIDIGA
TÖÖTLEMISE TOIMEST TEISTE KEEMILISTE ÜHENDITE MÕJUL TEKINUD
MUTATSIOONIDE ILMSIKSTULEKULE**

Resüme

Katsed näitasid, et kiiritusjärgse populatsiooni seemnete külvielne töötlemine etüleeniimiini, hüdrasiinkloriidi või põlevkivist saadud kasvustimulaatori nõrgakontsentratsiooniliste lahustega suurendab oluliselt klorofüllmutantide ilmsikstulekut töödeldud seemnetest kasvatatud taimede seas. Artiklis kirjeldatud katsetes ilmnis analoogiline ilmutiefekt odra mutatsioonipopulatsioonides, mis põlvesid N-nitroso-N-etiülkarbamiidiga ja etüleeniimiiniga töödeldud seemnetest, kusjuures ilmutina kasutati hüdrasiinkloriidi 0,001%-list vesilahust. Neis katsetes õnnestus näidata, et peale klorofüllmutatsioonide esineb ilmutiefekt selgel kujul ka mitmel teistel kõrgema elujõuga mutatsioonitüüpidel, nagu suurepealised, antotsüaaniga värvunud peadega, jämedakõrrelised, poolohtelised ja muutunud valmimisajaga vormid. Kuna nende vormide seas leidub selektsiooni seisukohalt huvipakkuvaid, viitavad tulemused ka ilmutiefekti praktilise kasutamise võimalustele.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalsbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud
19. XI 1971

GEN SHANGIN-BEREZOVSKY, OSKAR PRIILINN, TOIVO ORAV

**THE INFLUENCE OF PRESOWING TREATMENT OF M_2 SEEDS WITH
HYDROCHLORIC HYDRAZINE ON THE MANIFESTATION OF THE
MUTATIONS INDUCED BY OTHER CHEMICALS**

Summary

In previous experiments it was demonstrated that presowing treatment of seeds of irradiated barley population with aqueous solutions of low concentrations of ethyleneimine, hydrochloric hydrazine or oil-shale growth stimulator brings about a significant increase in the output of chlorophyll mutants in the generation grown from the treated seeds. In the present study an analogical effect was demonstrated in the barley populations grown from seeds treated by N-nitroso-N-ethylurea and ethyleneimine. As revealing agent, a 0.001 per cent aqueous solution of hydrochloric hydrazine was used. It is shown that a considerable increase in the output of mutant plants similar to that obtained in chlorophyll mutations also takes place in the other types of mutations of higher vitality, such as the long-eared ones, the forms with anthocyanic ears, thick straw, half-awned (semiaristate) or changed time of ripening.

Since some of the mutant forms are of a possible selectional importance, the revealing effect may have a certain practical application.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology

Received
Nov. 19, 1971