

УДК 575.23:633.11

Майму ТОХВЕР\*, Тамара ЭННО\*

### МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНДУЦИРОВАННЫХ ХИМИЧЕСКИМИ МУТАГЕНАМИ НЕСТАБИЛЬНЫХ МУТАНТОВ ПШЕНИЦЫ

Изучен характер наследования измененных морфологических признаков колоса у генетически нестабильных мутантов пшеницы. Выделены генотипы, формирующие фенотипически неоднородное потомство и проявляющие однотипное расщепление в течение нескольких поколений. Цитологический анализ не выявил существенных отклонений в ходе мейоза. Мутантные линии имели нормальное число хромосом ( $2n=42$ ). У одной нестабильной линии со скверхедным типом колоса наблюдалось значимое повышение среднего числа открытых бивалентов, унивалентов и мультивалентных ассоциаций.

Ранее нами было показано (Тохвер, 1991), что многие мутантные линии пшеницы, полученные в результате химических воздействий, нестабильны по своим морфологическим признакам, в частности, по признакам колоса. Их генетическая нестабильность проявлялась в различной степени выраженных реверсиях к исходному типу колоса и появлении других морфотипов колоса, отсутствующих у исходных родительских форм.

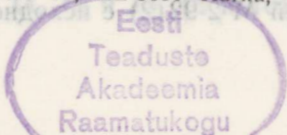
Согласно данным литературы (Володин, Елеф, 1987; Ранчялис и др., 1990), нестабильные генотипы пшеницы, индуцированные радиационными или химическими воздействиями, характеризуются повышенной частотой хромосомных аномалий в мейозе, что может быть первопричиной генетической нестабильности. Поскольку анализ структуры и изменчивости хромосом позволяет определить тип и частично механизм возникновения нестабильности, то это обуславливает необходимость изучения кариотипа и его изменчивости у генетически нестабильных мутантов пшеницы.

Целью настоящей работы было описать особенности мейоза у расщепляющихся мутантных линий пшеницы и попытаться выявить взаимосвязь между морфобиологической нестабильностью и цитологическими характеристиками.

#### Материал и методика

Объектом исследований служили мутантные линии девятого поколения ( $M_9$ ) озимой и яровой пшеницы, индуцированные химическими мутагенами, в потомстве которых наблюдалось расщепление. Особенности мейоза были изучены у 21 мутантной линии, выделенной из сортов 'Мионовская юбилейная', 'Мионовская 808' и мутантов С7-4 (из сорта 'Саппо') и 146-155 (из сорта 'Норрена') в результате обработки

\* Eesti Teaduste Akadeemia Eksperimentaalbioloogia Instituut (Институт экспериментальной биологии АН Эстонии). Instituudi tee 11, EE-3051 Narku, Harjumaa, Estonia.





семян химическими мутагенами — диметилсульфатом (ДМС) в концентрации 0,01%, нитрозометилмочевиной (НММ) в концентрациях 0,006, 0,01, 0,02% и нитрозоэтилмочевиной (НЭМ) в концентрациях 0,012 и 0,025% как в отдельности, так и в сочетании с парааминобензойной кислотой (ПАБК) в концентрации 0,02%.

Отбор нестабильных (расщепляющихся по морфологии колоса) генотипов производили начиная с поколений  $M_3$  и  $M_4$ , а также в последующих поколениях после определения характера наследования измененных признаков у растений, выделенных ранее. К нестабильным генотипам относили измененные формы, которые в поколениях  $M_3$ ,  $M_4$  и далее давали фенотипически неоднородное потомство.

Расщепление происходило в основном на мутантный (измененный в поколениях  $M_1$  и  $M_2$ ) и исходный фенотипы, однако иногда наблюдались выщепление растений с совершенно новыми признаками.

Растения расщепляющихся линий, относящиеся к разным морфотипам, мы выделяли в отдельные линии и высевали раздельно. Число растений в каждом варианте опыта было 200—210.

Для цитологического анализа молодые колосья пшеницы фиксировали в ацеталкоголе (1:3), пыльники окрашивали ацетокармином и на временных давленных препаратах под световым микроскопом анализировали метафазы первого деления мейоза (MI) в материнских клетках пыльцы (МКП). Учитывали число хромосомных ассоциаций (би-, уни- и мультивалентов) и хиазм в среднем на клетку.

Статистическая обработка данных, полученных в результате цитологического анализа, проведена на ЭВМ с использованием критерия  $\chi^2$  и точного критерия Фишера.

## Результаты исследований

Изученные мутанты пшеницы по своему происхождению были разделены на семь групп (табл. 1). К первой группе отнесены два мутанта, полученных из сорта 'Мионовская юбилейная' (МЮ) после обработки семян НММ (0,006%). Линия МЮ 78(1) была выделена в  $M_2$  как плотноколосая, из которой в последующих поколениях выщеплялись компактоиды, скверхеды и растения с типом колоса исходного сорта (ревертанты). В поколении  $M_9$  расщепление происходило в соотношении 18 плотноколосых : 2 компактоида : 1 скверхед : 1 растение исходного типа. Из этой линии была выделена линия пшеницы со скверхедным типом колоса МЮ 78(2), которая в свою очередь расщеплялась на плотноколосые растения и растения исходного типа со скверхедным колосом.

II группа мутантных линий пшеницы — МЮ 78-2 — была получена из сорта 'Мионовская юбилейная' после обработки семян НММ (0,006%). В поколении  $M_2$  была выделена среднерослая, с плотным типом колоса линия МЮ 78-2(1), которая в последующих поколениях расщеплялась на сублинии 2 — высокорослую с безостым колосом, 3 — низкорослую с безостым колосом и 4 — низкорослую со спельтоидным колосом, из которых только линии 2 и 4 были стабильными, а линия 3 расщеплялась в поколении  $M_9$  на остистые и безостые растения в соотношении 10 безостых : 1 остистое.

III группа представлена мутантной линией пшеницы М 2-92(1) со скверхедной формой колоса, полученной из сорта 'Мионовская 808' после обработки семян ДМС (0,01%), и выделенной из нее в поколении  $M_3$  линией М 2-92(2) с исходной формой колоса.



IV группа представлена линией пшеницы С 7-4-23(1) со скверхедным колосом, выделенной в поколении  $M_1$  после обработки семян мутанта С 7-4 НЭМ (0,025%) в сочетании с ПАБК. Из этой линии пшеницы в  $M_4$  выщепилась линия С 7-4-23(2) со спельтоидным колосом, которая в дальнейшем не расщеплялась.

Относящаяся к V группе мутантная линия С 7-4-26(1) была выделена в поколении  $M_2$  как раннеспелая после обработки семян мутанта С 7-4 НММ в сочетании с ПАБК. В последующих поколениях эта линия выщепляла в различных соотношениях растения с остистым и полустистым колосом и с разной высотой стебля.

Линия С 7-4-26(2) была выделена также в поколении  $M_2$  как форма со слабым восковым налетом, из которой в поколении  $M_4$  выщепились плотноколосые сублинии 4 и 6 и спельтоидная сублиния 5. У всех этих линий в поколении  $M_9$  было отмечено расщепление.

В VI группу включены линии, происходящие от мутанта 146-155 после обработки семян НММ. Линия 146-155-24(1) была выделена в поколении  $M_1$  как скверхед, в  $M_2$  не наблюдалось расщепления по форме колоса, а в поколении  $M_3$  произошло выщепление растений с компактным типом колоса и растений с исходной формой колоса. Подобное расщепление скверхедной линии наблюдалось и в  $M_9$ .

Линия 146-155-24(2) была выделена из первой линии в  $M_9$ , она представляет собой ревертант с исходным типом колоса, который в последующих поколениях не расщеплялся.

VII группа мутантных растений была выделена из мутанта 146-155 после обработки семян НЭМ совместно с ПАБК. Мутантное растение 146-155-50(1) было отобрано в поколении  $M_1$  как плотноколосое и в его потомстве, начиная с  $M_2$ , выщеплялись растения с исходным морфотипом колоса. В последующих поколениях наблюдалось расщепление как у линии с плотным колосом, так и у линии с исходным типом колоса. Особенности и характер расщепления, наблюдавшиеся в изученном материале, описаны ранее (Тохвер, 1991).

Как показал цитологический анализ мейоза у изученных мутантных линий (табл. 2), число хромосом у растений было стабильным ( $2n=42$ ) и не наблюдалось существенных отклонений от нормального хода мейотического деления.

У ряда мутантных линий, расщепляющихся по морфологическим признакам колоса (№ 2, 5, 7, 9, 11), в  $M_1$  мейоза было отмечено значительное число мейоцитов с нарушениями — до 90% (рисунок). Однако при сравнении нестабильных расщепляющихся линий с линиями, которые к  $M_9$  стабилизировались по морфологическим признакам колоса (№ 4, 6, 8, 10), не удалось выявить статистически достоверных различий между ними по проценту МКП с аномалиями.

Несколько иначе выглядит картина, если сравнивать мутантные линии между собой в пределах выделенных нами мутантных групп.

В двух первых группах не отмечено статистически достоверных различий между линиями и сублиниями по проценту мейоцитов с аномалиями.

В третьей группе наблюдается статистически достоверная разница по этому показателю между главной линией и сублинией, при этом первая продолжает расщепляться, а сублиния представляет собой нерасщепляющийся ревертант. Такая же картина наблюдается в четвертой группе, где процент МКП с аномалиями у расщепляющейся главной линии статистически достоверно выше, чем у выщепившейся из нее стабильной линии.

В пятой группе мутантных линий при сравнении двух главных линий и выделенных из них сублиний можно отметить статистически достоверные различия (№ 11 и 12, 13 и 14, 13 и 15, 13 и 16).



Морфологическая характеристика изученных сортов и мутантов

Группа	Исходная форма (сорт, мутант)	Морфология колоса исходной формы	Мутаген, конц., %	Мутантная линия, сублинии	Морфология колоса и другие особенности мутанта	Выщепляются в поколении M <sub>n</sub>
1	2	3	4	5	6	7
I	'Мироновская юбилейная' (МЮ)	Слабоцилиндрический, средней плотности, безостый	НММ 0,006	МЮ 78(1) ↓ МЮ78(2)	Плотноколосый Скверхед	Компактоиды+скверхеды+исходная форма (МЮ) Плотноколосые+исходная форма (МЮ)
II	'Мироновская юбилейная' (МЮ)	То же	НММ 0,006	МЮ 78-2(1) ⇌ МЮ78-2(2) ⇌ МЮ78-2(3) ⇌ МЮ78-2(4)	Остистый, плотный, среднерослый Безостый, высокорослый Безостый, низкорослый Спельтоид, низкорослый, с остевидн. отростками	Высокие безостые+низкие остистые Не расщепляется Остистые Не расщепляется
III	'Мироновская 808' (М)	Средней плотности, суживающийся к верхушке, безостый, в верхней части короткие остевидные отростки	ДМС 0,01	М 2-92(1) ↓ М2-92(2)	Скверхед Исходная форма (М)	Исходная форма (М) Не расщепляется
IV	С 7-4 получен из сорта 'Саппо' (0,15% ДАБ)	Средней плотности, безостый, в верхней части короткие остевидные отростки	НЭМ 0,025 и ПАБК 0,02	С 7-4-23(1) ↓ С 7-4-23(2)	Скверхед Спельтоид	Спельтоиды+исходная форма (С 7-4) Не расщепляется

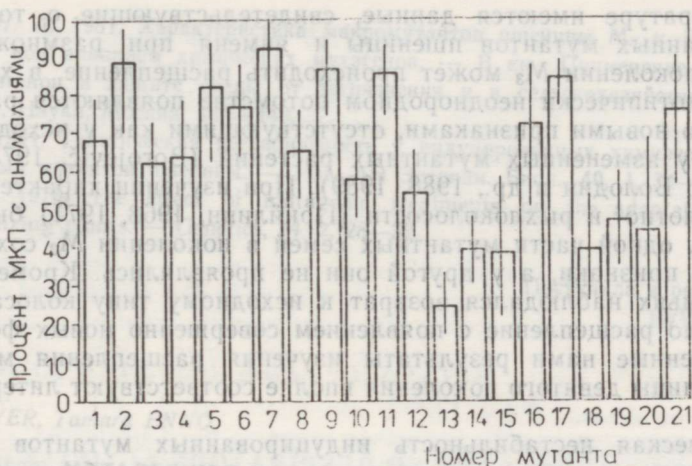
I	3	4	5	6	7
V С 7-4	То же	НММ 0,02	С 7-4-26(1)	Безостый, раннеспелый	Остистые+полуостистые
		ПАБК 0,02	С 7-4-26(2)	Безостый	Остистые+полуостистые
			С 7-4-26(3)	Безостый, слабый восковой налет	Плотноколосые+спельтоиды
			С 7-4-26(4)	Плотноколосый, безостый	Исходная форма (С 7-4)
			С 7-4-26(5)	Спельтоид, безостый	Остистые+исходная форма (С 7-4)
			С 7-4-26(6)	Плотноколосый, полуостистый	Компактоиды
VI 146-155	Средней плотности, без-остый, слабоцилиндриче-ский	НММ	146-155-24(1)	Скверхед	Компактоиды+исходная форма (146-155)
	'Норрена' (0,006% НММ)	0,01	146-155-24(2)	Исходная форма (146-155)	Не расщепляется
VII 146-155	То же	НЭМ 0,012	146-155-50(1)	Плотноколосый	Исходная форма (146-155)
		ПАБК 0,02	146-155-50(2)	Исходная форма (146-155)	Плотноколосые
			146-155-50(3)	Плотноколосый	Исходная форма (146-155)



Особенности мейоза у нестабильных мутантов пшеницы

Группа	Мутантная линия	Просмотрено МКП	Среднее число бивалентов на клетку		Среднее число унивал. на клетку	Среднее число мультивал. на клетку	Среднее число хиазм на клетку
			Закрытых	Открытых			
I	МЮ 78 (1)	64	19,63	1,13 (0,92—1,37)	0,39 (0,27—0,55)	0,03 (0,01—0,10)	40,45
	МЮ 78 (2)	27	18,67	1,96 (1,54—2,47)	0,44 (0,26—0,72)	0,07 (0,01—0,23)	39,29
II	МЮ 78-2 (1)	85	19,66	1,15 (0,97—1,36)	0,38 (0,27—0,51)	0 (0,00—0,04)	40,47
	МЮ 78-2 (2)	39	20,05	0,95 (0,71—1,25)	0 (0,00—0,08)	0 (0,00—0,08)	41,05
	МЮ 78-2 (3)	28	18,07	2,68 (2,19—3,25)	0,50 (0,30—0,78)	0 (0,00—0,11)	38,82
	МЮ 78-2 (4)	53	19,02	1,64 (1,36—1,96)	0,68 (0,50—0,90)	0 (0,00—0,06)	39,68
III	М 2-92 (1)	26	16,96	3,38 (2,81—4,04)	0,85 (0,57—1,21)	0,15 (0,05—0,35)	37,46
	М 2-92 (2)	69	19,49	1,26 (1,05—1,51)	0,49 (0,36—0,66)	0 (0,00—0,04)	39,17
IV	С 7-4-23 (1)	54	18,22	2,65 (2,29—3,04)	0,15 (0,07—0,27)	0,04 (0,01—0,12)	39,16
	С 7-4-23 (2)	95	19,63	1,20 (1,02—1,40)	0,34 (0,25—0,45)	0 (0,00—0,03)	40,45
V	С 7-4-26 (1)	70	19,57	1,29 (1,07—1,53)	0,36 (0,25—0,50)	0 (0,00—0,04)	40,42
	С 7-4-26 (2)	81	19,42	0,83 (0,67—1,01)	0,25 (0,16—0,36)	0 (0,00—0,04)	40,45
	С 7-4-26 (3)	120	20,58	0,42 (0,32—0,53)	0 (0,00—0,02)	0 (0,00—0,02)	41,58
	С 7-4-26 (4)	134	20,36	0,62 (0,51—0,74)	0,04 (0,01—0,08)	0 (0,00—0,02)	41,34
	С 7-4-26 (5)	31	20,26	0,68 (0,45—0,98)	0 (0,00—0,10)	0,03 (0,00—0,15)	41,19
	С 7-4-26 (6)	25	19,48	1,40 (1,03—1,86)	0,24 (0,10—0,47)	0 (0,00—0,12)	40,36
VI	146-155-24 (1)	156	18,50	2,30 (2,11—2,51)	0,18 (0,13—0,25)	0,05 (0,03—0,09)	39,31
	146-155-24 (2)	53	20,19	0,77 (0,59—1,00)	0,08 (0,03—0,17)	0 (0,00—0,06)	41,15
VII	146-155-50 (1)	65	20,24	0,58 (0,44—0,77)	0,34 (0,23—0,48)	0 (0,00—0,05)	41,26
	146-155-50 (2)	20	20,25	0,65 (0,38—1,03)	0 (0,00—0,15)	0,05 (0,00—0,24)	41,35
	146-155-50 (3)	29	19,65	1,17 (0,86—1,56)	0,07 (0,01—0,22)	0,07 (0,01—0,22)	40,48

Примечание. В скобках указаны 95%-ные границы доверительного интервала.



Особенности мейоза у изученных нестабильных мутантных линий. 1 — МЮ 78(1); 2 — МЮ 78(2); 3 — МЮ 78-2(1); 4 — МЮ 78-2(2) не расщепляется; 5 — МЮ 78-2(3); 6 — МЮ 78-2(4) не расщепляется; 7 — М 2-92(1); 8 — М 2-92(2) не расщепляется; 9 — С 7-4-23(1); 10 — С 7-4-23(2) не расщепляется; 11 — С 7-4-26(1); 12 — С 7-4-26(2); 13 — С 7-4-26(3); 14 — С 7-4-26(4); 15 — С 7-4-26(5); 16 — С 7-4-26(6); 17 — 146-155-24(1); 18 — 146-155-24(2) не расщепляется; 19 — 146-155-50(1); 20 — 146-155-50(2); 21 — 146-155-50(3).

В шестой группе картина аналогичная той, которая наблюдается в III и IV группах, где главная расщепляющаяся линия достоверно превышает по проценту МКП с нарушениями выщепившуюся стабильную сублинию.

В седьмой группе, состоящей из расщепляющихся линий, статистически достоверных различий между ними по проценту МКП с нарушениями не наблюдалось.

На основании изложенных данных можно сделать вывод о том, что у стабильных ревертантов, выщепившихся в потомстве расщепляющихся мутантных линий, наблюдается тенденция к более стабильному ходу мейоза.

По точному критерию Фишера на 95%-ном уровне достоверности различия по числу открытых и закрытых бивалентов, унивалентов и мультивалентов на одну клетку соответствуют различиям по общему числу МКП с аномалиями.

### Обсуждение результатов

Полученные данные (табл. 1) показывают, что изученные мутантные линии различаются как по происхождению, так и по характеру расщепления.

Следует отметить, что из морфологически однотипных мутантных семей выщепляются также однотипные по форме колоса растения: из скверхедов — компактоиды, спельтоиды и растения исходного типа; из остистых семей — полуостистые и безостые растения; из безостых — остистые и полуостистые.



В литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что у индуцированных мутантов пшеницы и ячменя при размножении по семьям в поколении  $M_3$  может происходить расщепление, в ходе которого в фенотипически неоднородном потомстве появляются растения с совершенно новыми признаками, отсутствующими как у исходного сорта, так и у измененных мутантных растений (Ворожевић, 1973; Топорнина, 1981; Володин и др., 1988, 1989). При изучении характера наследования плотно- и рыхлоколосности (Прийлинн, 1968, 1971) было отмечено, что у одной части мутантных семей в поколении  $M_3$  сохранялись мутантные признаки, а у другой они не проявлялись. Кроме того, во многих семьях наблюдался возврат к исходному типу колоса или же происходило расщепление с появлением совершенно новых форм.

Приведенные нами результаты изучения расщепления мутантных семей пшеницы девятого поколения вполне соответствуют литературным данным.

Генетическая нестабильность индуцированных мутантов растений описана многими исследователями на различных объектах, однако до сих пор не имеется единого мнения относительно механизмов возникновения этого явления. Суждения о связи генетической нестабильности с хромосомными перестройками весьма противоречивы, что не позволяет разработать гипотезу, которая могла бы обосновать взаимозависимость генетической нестабильности мутантных генотипов и цитологических нарушений в митозе и мейозе.

Результаты проведенных опытов показали, что не имеется четкой взаимосвязи между морфобиологической нестабильностью и цитологическими характеристиками.

Авторы выражают глубокую благодарность заведующему Отделом научной информации Института экспериментальной биологии АН Эстонии Ю. Вахеру за статистическую обработку данных цитологического анализа и старшему лаборанту Отдела генетики растений Института экспериментальной биологии АН Эстонии Г. Соколовой за помощь в проведении цитологического анализа.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Володин В. Г., Елеф А. В. 1987. Индуцированная нестабильность у растений. Тез. доклад. V съезда ВОГиС. АН СССР, Москва, IV, 1, 86.
- Володин В. Г., Елеф А. В., Авраменко Б. И. 1988. Мутантно-сортовая гибридизация яровой пшеницы. Использование явления генетической нестабильности. Наука и техника, Минск.
- Володин В. Г., Колосенцева Н. В., Лисовская З. И. 1989. Генетика мутантов ячменя. Наука и техника, Минск.
- Прийлинн О. 1968. Изменения у яровой пшеницы, возникшие под воздействием химических мутагенов. — В кн.: На пути к обновлению земли. Валгус, Таллинн, 270—279.
- Прийлинн О. Я. 1971. Наследование изменений, выявленных в  $M_1$  и  $M_2$  у яровой пшеницы после воздействия N-нитрозоалкилмочевинами. — В кн.: Теория химического мутагенеза. Наука, Москва, 136—139.
- Ранчялис В. П., Гирконтайте И. В., Индрюнайте А. Б., Жилинскяйте С. М. 1990. Анализ хромосом генетически нестабильного мутанта ячменя и его ревертантов. — В кн.: Цитогенетика зерновых культур, АН Эстонии, Таллинн, 103—108.



- Топорнина Н. А. 1981. Характеристика макромутантов пшеницы М<sub>5</sub> и М<sub>6</sub>, полученных под влиянием химических мутагенов. — В кн.: Применение химических мутагенов в защите среды от загрязнения и в сельскохозяйственной практике. Наука, Москва, 145—149.
- Tohver M. 1991. Генетическая нестабильность у индуцированных химическими мутагенами мутантов пшеницы. — Изв. АН Эстонии. Биол., 40, 1, 34—37.
- Borojevič, K. 1973. The effect of mutagenic treatments on the adaptation of self-fertilizing plants. — Genetics, 74, 2, 28—32.

Поступила в редакцию  
10/VII 1992

Maimu TOHVER, Tamara ENNO

### KEEMILISTE MUTAGEENIDE POOLT-INDUTSEERITUD EBASTABIILSETE NISUMUTANTIDE LIINIDE MORFOLOOGILINE JA TSÜTOLOOGILINE ANALÜÜS

On analüüsitud nisu sortide ja mutantide seemnete keemiliste mutageenidega töötlemise tagajärjel tekkivat geneetilist ebastabiilsust, mis väljendub mutantsete liinide morfoloogiliste tunnuste lahknemises paljude põlvkondade jooksul.

Ebastabiilsete mutantide tsütoloogilistes uuringutes mingeid erilisi kõrvalekaldeid meiosis normaalsest käigust ei täheldatud. Kõigil uuritud taimedel oli heksaploidsele nisule vastav kromosoomide arv ( $2n=42$ ). Skverheedidel täheldati mõningat keskmisest suuremat avatud bivalentide, univalentide ja multivalentide arvu.

Maimu TOHVER, Tamara ENNO

### CYTOLOGICAL AND MORPHOBIOLOGICAL ANALYSIS OF UNSTABLE MORPHOLOGICAL WHEAT MUTANTS INDUCED BY CHEMICAL MUTAGENS

In our previous work (Tohver, 1991) it was reported that genetical instability was detected in many wheat mutant lines induced by chemical mutagens, particularly in those produced as a result of repeated treatment. An extensive process of forming morphologically different forms was observed.

The karyotype of 21 mutant lines and revertants was analysed. No specific changes in mutant karyotypes were noticed. Only slight divergencies in some mutant (square-head) lines were observed.

#### Introduction

Very scanty data are available about the action of insecticidal plant extracts and juvenile hormone analogues (JHA) on the muscular activity and respiratory metabolism. Gas exchange has mostly been measured in intact insects as an index of toxication. It has been supposed that most complementary insecticides affect the respiratory rate in an indirect way via neuromuscular system by stimulating or inhibiting muscular contractions which are maintained by oxidative metabolism.