

Ж. Ж. ЧУНЕТОВА, К. К. ШУЛЕМБАЕВА, Н. Ж. ОМИРБЕКОВА

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА СОРТА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И АНЕУПЛОИДНЫЕ ЛИНИИ СОРТА КАЗАХСТАНСКАЯ 126

(Казахский национальный университет им аль-Фараби)

Мутагенный эффект действия физических факторов и ряда химических веществ изучен достаточно хорошо. Изучение мутагенного эффекта, который вызывают физические факторы и ряд химических веществ, например нитрозоэтилмочевина (НЭМ), нитрозоэтиленмочевина (НЭТМ), этиленимин (ЭИ) и др., показало, что возникающие мутации случайны и не направлены. Применение этих воздействий оправдано лишь расширением спектра наследственной изменчивости в целях мутационной селекции [1]. Экологические работы по изучению действия антропогенных факторов, приводящих к нарушению определенных соотношений между химическими элементами и их соединениями, возрастанию концентрации тяжелых металлов в почве, делают актуальным исследование мутагенного и токсического эффекта форм тяжелых металлов.

Молекулярный механизм токсичности тяжелых металлов полностью не выяснен. Токсичные металлы могут инактивировать белки, смещая металлические кофакторы, блокируя активные участки или

вызывая аллостерические изменения. Кроме того, многие из них обладают способностью индуцировать мутагенез, образование опухолей и вызывают макроскопические изменения [2].

Однако в последнее время были получены неожиданные результаты в области направленной изменчивости. А. Даррант, Е.Д.Богдановой [3, 4] получены результаты при действии удобрений и биологически активных веществ. М.А.Шишкин с соавт. [5] приводят сведения о наследственном изменении структуры хроматина без изменения первичной структуры ДНК, называемой эпигенетической мутацией (эпимутацией). Авторы утверждают, что эпимутации затрагивают важнейшие морфолого-биологические характеристики грибов, растений и животных.

Целью нашей работы было изучение зависимости специфичности реакции сортов яровой мягкой пшеницы на действие $CdCl_2$ и поверхностно-активного вещества (ПАВ) и хромосомная локализация генов, контролирующих реакцию сорта Казахстанская 126 на действие этих химических соединений.

Митотический индекс прорастания семян пшеницы. В результате исследований установлена оптимальная доза концентрации солей тяжелых металлов и ПАВ, которая не влияет на нормальный рост и развитие определенных генотипов мягкой пшеницы и не снижает процент прорастания семян, но вызывает нарушение клеточного деления. Концентрация солей тяжелых металлов выше 0,1 г/моль подавляла прорастание семян до полного летального исхода. Предельно допустимая концентрация (ПДК) солей тяжелых металлов 0,01 г/моль. Контрольным вариантом служили семена сорта Казахстанская 3, которые проращивали в дистиллированной воде.

Активность деления клеток установлена путем определения митотического индекса [7]. При обработке семян раствором $ZnCl_2$ (0,1 г/моль) происходит увеличение значения митотического индекса ($9,75 \pm 0,05$ промилле) по сравнению с контрольным вариантом ($6,61 \pm 0,02$ промилле). Однако различий в росте и развитии растений опытных и контрольных вариантов не обнаружено. При аналогичной концентрации $CdCl_2$ понижал активность деления клеток ($2,25 \pm 0,02$ промилле) и это сопровождалось изменением признаков растений. При совместном воздействии солей тяжелых металлов $ZnCl_2 + CdCl_2$ (0,1 г/моль) значительно снижался митотический индекс ($0,54 \pm 0,03$ промилле), при этом обработанные растения не дали всходов.

Митоз у меристемных клеток пшеницы. На микропрепаратах кончиков корешков пшеницы, семян, обработанных солью тяжелого металла $CdCl_2$ и ПАВ, нами зарегистрированы многочисленные нарушения в митотических клетках. Это традиционные хромосомные aberrации – делеции, инверсии, одиночные и парные фрагменты хромосом в метафазе; хромосомные и хроматидные мосты в анафазе митоза.

Морфометрическое изменение растений под действием химических соединений. Изучение действия химических соединений на районированные сорта яровой мягкой пшеницы (Шагала, Толкын, Дауыл, Казахстанская 3, Казахстанская 4, Казахстанская 17, Женис, Лютесценс 32) показало, что они индуцируют у пшеницы фенотипические изменения, выражающиеся в стимуляции прорастания, ускорении роста первичных корней и последующего увеличения продуктивной кустистости у растений. Сорта Казахстанская 3, Шагала имели более высокую и толстую соломинку, разросшиеся удлиненные



Рис.1. Влияние ПАВ на продуктивную кустистость, коленачатым типом стебля сорта пшеницы Казахстанская 3: 1 – измененное растение; 2 – контроль; 3 – измененное растение

стеблевые узлы, рыхлый длинный колос, антоциановую окраску колеоптилей и соломины, более крупное зерно. Морфологические изменения колоса выражались в появлении растений со скверхедным, спельтоидным, ветвистым, рыхлым, многоцветковым и компактоидным колосом, а также растений с ломкими колосьями. Кроме того, обнаружены растения с удлинением члеников стержня, толстой соломиной, коленачатым типом стебля, утолщением и удлинением стеблевых узлов (рис. 1), повышенной кустистостью (14–16 кустов) по сравнению с контролем (3–4 кустов) и тонкой соломиной. У отдельных сортов опытного варианта отмечен широкий диапазон изменчивости по высоте растений и выявлены ослабленные растения. Однако среди изученных сортов действию химических соединений ока-

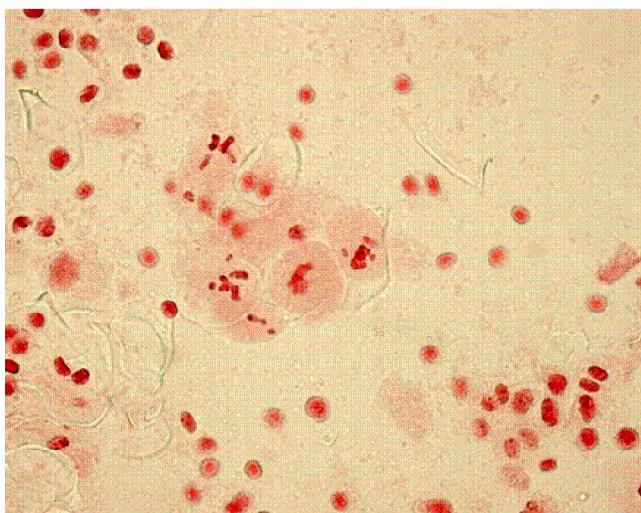


Рис. 2. Влияние химического соединения на мейотическое деление сорта Казахстанская 3. Стрелкой показано слипание хромосом – пикноз в метафазе I

зался более подверженным сорт Казахстанская 3, у которого наблюдалась большая вариация типов колоса. Среди множества измененных форм отобраны растения с удлинёнными колосьями, имеющие длинную чешую со стекловидными удлинёнными зернами, устойчивые к видам ржавчины, что является важным при проведении селекции на продуктивность, качество зерна и иммунитет.

Сорта Дауыл, Лютесценс 32, Женис и Шагала отличались высокой кустистостью, удлинённым колосом, расширенным междоузлем и коленчатостью стебля. Результаты исследований показали, что реакция на действие химических соединений зависит от генотипа пшеницы. Обнаруженный в M_1 процесс изменчивости по ряду количественных и качественных признаков сохранялся и в последующем поколении M_2 – M_4 . Это подтверждается результатами анализирующего скрещивания и анализом потомства M_2 . Наличие изменённых форм с положительными признаками, таких, как короткостебельные растения с мощными многоцветковыми колосьями, и растений, отличающихся по длине и форме главного колоса, цвету, форме и крупности зерна, опушения колоса, можно рассматривать как подтверждение наличия некоторого гена-регулятора, претерпевающего эпигенетическое изменение и, в свою очередь, влияющего на экспрессию регистрируемых генов. Однако за одновременные изменения у мутантов, различающихся между собой по многим признакам, контролируемым генами, не может отвечать один и тот же ген-регулятор. Наблюдаемое нами изменение, скорее всего, представляет собой следствие из-

менения каких-то общих процессов в клетке, возникающих в ответ на воздействие химических соединений.

При изучении мейоза у ряда сортов мягкой пшеницы, обработанных $CdCl_2$ и ПАВ, наблюдали массовый пикноз хромосом (рис. 2), хромосомные кольца в виде тривалентов, тетравалентов и мультивалентов. Хромосомные aberrации и нарушение деления клетки служат 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, чаще передаются следующему поколению. Руководствуясь этими соображениями, мы изучали мейоз у изменённых под действием ПАВ и $CdCl_2$ растений, который будет материалом следующей публикации.

Реакция моносомных растений сорта Казахстанская 126 на действие ПАВ и $CdCl_2$. В результате изучения реакции моносомных линий на действие ПАВ установлено, что в росте и развитии растений наблюдаются определенные различия между опытными и контрольными вариантами.

Как видно из таблицы, моносомники по хромосомам 1В и 6D сорта Казахстанская 126 ускоряют появление всходов на 5–7 дней; хромосома 5В ускоряет процесс кушения на 8 дней по сравнению с контролем. У опытных моносомных растений по 5В, 7А и 2В хромосомам колошение и восковая спелость наступают на 5 дней раньше по сравнению с контрольным вариантом. Колошение у моносомников по хромосомам 5А и 5D наступает на 3 дня позже, чем у контроля. Из этого можно заключить, что действие ПАВ на моносомные линии по хромосомам 5В, 7А и 2В сильно ускоряет как рост и развитие, так и вегетационный период пшеницы, а хромосомы 5А и 5D их замедляют. Реакция моносомных растений по хромосомам 5А и 5D на действие ПАВ сходна с эффектом моносомии контрольных моносомников, которые замедляют колошение на 18–20 дней [8]. Однако развитие моносомных растений опытного варианта по хромосомам 5А и 5D отстает от контрольных линий еще на 3 дня. Реакция моносомных растений по хромосомам 5В, 7А и 2В, наоборот, ускоряет процесс развития пшеницы, у контрольных моносомников такое явление не наблюдается. Возможно, гены хромосом 7А, 2В и 5В контролируют темпы развития пшеницы, что в дальнейшем позво-

Реакция роста и развития моносомных растений на действие ПАВ и CdCl₂

Хромосома	Посев	Всходы	Колошение	Восковая спелость	Хромосома	Посев	Всходы	Колошение	Восковая спелость
1А контроль	28.04.03	06.05.03	24.06.03	25.07.03	1А контроль	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ	02.05.03	24.06.03	25.07.03		CdCl ₂	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.04.04
2А контроль	28.04.03	06.05.03	24.06.03	25.07.03	2А контроль	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ02.05.03	22.06.03	22.07.03			CdCl ₂	24.10.03	01.07.04	24.07.04	
3А контроль	28.04.03	02.05.03	24.06.03	25.07.03	3А контроль	14.10.03	1.11.03	30.06.04	20.07.04
ПАВ	04.05.03	24.06.03	25.07.03		CdCl ₂	24.10.03	03.07.04	25.07.04	
4А контроль	28.04.03	03.05.03	24.06.03	25.07.03	4А контроль	14.10.03	26.10.03	03.06.04	22.07.04
ПАВ	20.05.03	22.06.03	22.07.03		CdCl ₂	28.10.03	03.07.04	27.07.04	
5А контроль	28.04.03	06.05.03	08.07.03	08.07.03	5А контроль	14.10.03	1.11.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ	03.05.03	10.07.03	10.07.03		CdCl ₂	26.10.03	01.07.04	24.07.04	
6А контроль	28.04.03	06.05.03	24.06.03	25.07.03	6А контроль	14.10.03	26.01.03	06.07.04	30.07.04
ПАВ	03.05.03	26.06.03	25.07.03		CdCl ₂	26.10.03	02.07.04	27.07.04	
7А контроль	28.04.03	06.05.03	20.06.03	20.07.03	7А контроль	14.10.03	28.10.03	05.07.04	30.07.04
ПАВ	06.05.03	25.06.03	25.07.03		CdCl ₂	16.10.03	06.07.04	1.08.04	
1В контроль	28.04.03	06.05.03	24.06.03	25.07.03	1В контроль	14.10.03	28.10.03	05.07.04	30.07.04
ПАВ	01.05.03	20.06.03	25.07.03		CdCl ₂	26.10.03	03.07.04	27.07.04	
2В контроль	28.04.03	06.05.03	23.06.03	23.07.03	2В контроль	14.10.03	28.10.03	30.06.04	22.07.04
ПАВ	02.05.03	18.06.03	18.07.03		CdCl ₂	26.10.03	03.07.04	27.07.04	
3В контроль	28.04.03	06.05.03	24.06.03	24.07.03	3В контроль	14.10.03	1.10.03	03.07.03	27.07.04
ПАВ	02.05.03	25.06.03	25.07.03		CdCl ₂	26.10.03	27.06.06	20.07.04	
4В контроль	28.04.03	06.05.03	25.06.03	25.07.03	4В контроль	14.10.03	28.10.03	05.07.04	30.07.04
ПАВ	06.05.03	25.06.03	25.07.03		CdCl ₂	26.10.03	1.10.03	05.07.04	30.07.04
5В контроль	28.04.03	06.05.03	24.06.03	25.07.03	5В контроль	14.10.03	28.10.03	01.07.04	24.07.04
ПАВ	02.05.03	20.06.03	22.07.03		CdCl ₂	26.10.03	27.06.06	20.07.04	
6В контроль	28.04.03	06.05.03	25.06.03	25.07.03	6В контроль	14.10.03	28.10.03	02.07.04	27.07.04
ПАВ	02.05.03	29.06.03	29.07.03		CdCl ₂	28.10.03	05.07.04	30.07.04	
7В контроль	28.04.03	05.06.03	25.06.03	25.07.03	7В контроль		28.10.03	01.07.04	24.07.04
ПАВ	05.06.03	25.06.03	25.07.03		CdCl ₂	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.07.04
1D контроль	28.04.03	30.05.03	25.06.03	25.07.03	1D контроль	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ	26.05.03	25.06.03	25.07.03		CdCl ₂	28.10.03	03.07.04	27.07.04	
2D контроль	28.04.03	08.05.03	25.06.03	25.07.03	2D контроль	14.10.03	28.10.03	02.07.04	27.07.04
ПАВ	12.05.03	25.06.03	22.07.03		CdCl ₂	28.10.03	03.07.04	27.07.04	
3D контроль	28.04.03	08.05.03	25.06.03	25.07.03	3D контроль	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ	06.05.03	22.06.03	25.07.03		CdCl ₂	26.10.03	1.10.03	03.07.04	27.07.04
4D контроль	28.04.03	07.05.03	25.06.03	25.07.03	4D контроль	14.10.03	26.10.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ	10.05.03	25.06.03	25.07.03		CdCl ₂	28.10.03	03.07.04	27.07.04	
5D контроль	28.04.03	08.05.03	23.07.03	13.07.03	5D контроль	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ	29.05.03	26.07.03	16.07.03		CdCl ₂	28.10.03	03.07.04	27.07.04	
6D контроль	28.04.03	15.05.03	28.06.03	28.07.03	6D контроль	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ	08.05.03	28.06.03	28.07.03		CdCl ₂	28.10.03	03.07.04	27.07.04	
7D контроль	28.04.03	08.05.03	25.06.03	25.07.03	7D контроль	14.10.03	28.10.03	03.07.04	27.07.04
ПАВ	08.05.03	25.06.03	25.07.03		CdCl ₂	28.10.03	03.07.04	27.07.04	

лит использовать реакцию этих хромосом на ПАВ и конструировать существующие сорта по скорости развития пшеницы.

В результате изучения реакции моносомных растений на действие CdCl₂ установлено, что за раннее появление всходов ответственны хромосомы 2А, 3D, 5А и 3А (ускорение на 5 и на 7 дней соответственно), 4А и 4D (замедление 2 дня) (см. табл.). Хромосомы 2А и 6А ускоряют кущение растений на 5 дней, а хромосомы 3А и 6D замедляют его на 5–6 дней по сравнению с контролем. У опытной

моносомной линии по хромосоме 3В колошение наступает на 7 дней раньше, чем у контрольной моносомной линии. Моносомные линии по хромосомам 2А, 5А, 6А ускоряют колошение и восковую спелость на 2 дня по сравнению с контролем.

Таким образом, установлена оптимальная концентрация ПАВ и CdCl₂ для использования их в получении индуцированных изменений у пшеницы. Обработка семян водными растворами ПАВ и CdCl₂ (0,01%) индуцирует у пшеницы наследуемые изменения, выражающиеся в появлении в М₁ высокорос-

лых, мощных растений с продуктивной кустистостью и различными морфологически измененными признаками, отличающихся от исходных сортов. Все типы индуцированных изменений, охватывающие как морфологические так и качественные и количественные признаки пшеницы, возникшие в M_1 , наследовались в последующих поколениях $M_2 - M_4$.

В результате изучения реакции моносомных линий на действие ПАВ локализованы гены, контролирующие ускорение всходов в хромосомах 1В и 6D, ускорение колошения и восковой спелости – 5В, 7А и 2В и замедление их в хромосомах 5А и 5D сорта Казахстанская 126.

Изучение роста и развития сортов пшеницы под действием $CdCl_2$ показало, что за ускорение всходов растений отвечают хромосомы 2А, 3А, 5А, 4А и 4В, а хромосомы 7А и 3В замедляют их. В хромосоме 3А локализован ген, контролирующий раннее появление всходов сорта Казахстанская 126. Сильное отставание всходов под действием $CdCl_2$ у моносомных растений по хромосоме 7А позволяет выделить его как критический в определении скорости роста растений. Ген хромосомы 5А, определяющий замедление вегетационного периода сорта Казахстанская 126 (на 18 дней) у контрольного варианта по этой хромосоме под действием $CdCl_2$, напротив, ускоряет этот процесс на 7 дней.

Среди измененных растений отобраны растения M_1 , имеющие нарушения клеточного деления как в митозе, так и в мейозе. Именно они характеризуют кластогенный эффект (патологии, связанные с повреждением хромосом) изучаемых химических соединений, который затрагивает генетический аппарат.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сальникова Т.В., Амелькина Н.Ф. Мутагенная активность этиленамина на мягкой пшенице в зависимости от экспозиции воздействия. Сообщение II. Нарушения хромосом, митотическая активность клеток // Цитология и генетика. 2000. Т. 34, №4. С.141-147.
2. Мельничук А.П. Влияние ионов кадмия на клеточное деление и рост растений. Киев: Наукова думка, 1990. С. 148.
3. Durrent A., Timmis J.N. Genetic control of environmentally induced changes in Linnum // Herediti. 1973. V.30, N3. P. 369-379.
4. Богданова Е.Д. Эпигенетическая изменчивость, индуцированная никотиновой кислотой // Генетика. 2003. Т. 39, № 9. С. 1–6. (Bogdanova E.D. Epigenetic Variation Induced in *Triticum aestivum* L. by Nicotinic Acid // Rus.J.Genetics. 2003.V.39, N 9. P.1221-1227).
5. Шишкин М.А. Эволюция как эпигенетический процесс // Современная палеонтология. М.: Недра, 1988. С. 142-169.
6. Рыскаль Г.В. Цитогенетическое действие химических мутагенов на пшеницу и анализ некоторых макромутантов // Цитогенетика зерновых культур. Таллин, 1990. С.113-118.
7. Паушева З.П. Фиксаторы, их состав и использование: Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1970. С. 62-67.
8. Шулембаева К.К. Создание серии моносомных линий по сорту яровой пшеницы Казахстанская 126 и некоторые результаты моносомного анализа // Селекция и семеноводство полевых культур. Алматы, 1981. С. 83-92.

Резюме

Жергілікті жаздық жұмсақ бидай сорттарының тұқым қуалау белгілеріне БАЗ-бен $CdCl_2$ -дың әсері зерттелді. БАЗ-бен $CdCl_2$ (0,01%-нің сулы ерітінділерімен өңдеу барысында бидайда тұқым қуалайтын белгілер өсімдік биіктігі, сабақтың түптенуі және әртүрлі морфологиялық өзгерген белгілері бастапқы сорттан ерекшеленді және ол өзгерістер M_1 - M_4 өзгергіштік тудыратыны анықталды.

Казахстанская 126 сортының моносомды линияларына БАЗ-бен $CdCl_2$ -нің әсерінен вегетациялық кезеңнің жылдамдауы мен тежелуін бақылайтын гендер хромосомаларда локализацияланды.

Барлық өзгерген өзгергіштіктер бидайдың морфологиялық, сандық және сапалық белгілері қамтылып, M_1 ұрпақта өзгерген белгілер, келесі $M_2 - M_4$ ұрпақтарында тұқым қуалайды.

Summary

The study of influence SAS, $CdCl_2$ on hereditary indications of 10 sorts of soft seeing wheat with local breeding. It was prescribed that cultivation with where solution of SAS, $CdCl_2$ induces consequent. Changes in soft wheat at M_1 - M_4 generations his trapping, powerful. Plants with productive fruticatio and different morphological cheanged indication which were distinguished. From initial sort were obtained. Chromosomal localization of genes which control acceleration and deceleration of vege tative period of Kazakhstanskaya 126 with the influence of SAS and $CdCl_2$ was condecded. All types of induced changes enveloped not only morphological vita also quantative and qualitative indication, which were arise at M_1 generations, inherited at consequent generations M_2 - M_4 .