

В. А. Авакян, А. М. Геворкян

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МУТАНТОВ ПШЕНИЦЫ, ИНДУЦИРОВАННЫХ РЕНТГЕНОБЛУЧЕНИЕМ

Установлено, что при мутационной изменчивости затрагиваются многие признаки растений, в том числе содержание белковых веществ в зерне пшеницы, то есть показана генетическая изменчивость по качеству зерна /1-7/.

Изучение количества и качества белка у пшеницы, сорго, риса, ячменя обнаружило их положительную изменчивость, на основании чего было сделано заключение о возможности получения высокобелковых линий без снижения их урожайности /18/. Однако низкое содержание в зерне хлебных злаков незаменимых аминокислот (лизина, метионина, триптофана) вызывает необходимость изменения соотношения аминокислот в белках эндосперма. Поскольку лизин является наиболее дефицитной в белках зерновых аминокислотой, работы по повышению их питательной ценности были начаты в основном с создания высоколизиновых форм.

Широкие возможности изменения аминокислотного состава белков доказаны получением в 1963 г. мутантов кукурузы Олак-2 и Флаури-2, характеризующихся повышенным содержанием лизина. Первый ведет себя как простой рецессив, второй — как полудоминант /9/. Олак-2 является мутацией регуляторных генов, которые преимущественно вызывают перераспределение интенсивности синтеза отдельных фракций и компонентов белка /10/.

Сделаны попытки повысить изменчивость этих признаков путем мутации у других культур. Среди мутантного материала ячменя выделены формы с содержанием сырого белка на 20% выше исходного с неизменными урожайностью и аминокислотным составом /8/. Высоколизиновые формы обнаружены у пшеницы, сорго и ячменя, но наследственными они оказались только у ячменя /8/.

После получения высоколизинной кукурузы во всех странах мира ученые начали работу по созданию высоколизиновых форм других культур. Так, в Индии проводят отбор индуцированных мутантов риса с повышенным содержанием лизина. Проводятся также работы по получению индуцированных мутаций с высоким содержанием белка сбалансированного аминокислотного состава /11/.

Важное значение в селекции высокобелковой пшеницы имеет получение индуцированных мутаций. Так, в Индии под действием гамма-лучей получены мутанты с высоким содержанием белка (16,9%) и лизина (3,19%) /12, 13/. В результате гамма-облучения и воздействия ультразвуком на сорт пшеницы Сонора 64 получен мутант Шарбити Сонора с повышенным содержанием белка и лизина – 16,6% белка и 3 г лизина на 100 г белка в сравнении с 14% белка и 2,4 г лизина на 100 г белка у исходного сорта /14/.

Под действием химических мутагенов из сорта Безостая 1 был выделен мутант "неполноценный эндосперм" с повышенным содержанием протеина соответственно 19,46 и 3,61% (у исходного сорта – 12,75 и 2,36%). Это повышение обусловлено редукцией внутренних, менее богатых этими веществами слоев клеток, увеличением слоев клеток алейрона (до двух) и размера этих клеток (15).

Суммарный белок зерна злаков (проламины и глютелины) дефицитен по лизину, триптофану и метионину. По содержанию незаменимых аминокислот между проламинами и глютелинами нет резких различий. Например, у пшеницы содержание лизина составляет в глеадине 0,5–0,8%, глютеине – 1,3–1,6%, в суммарном белке – до 3,0%. В селекции пшеницы первостепенное значение имеет повышение белковистости и сбалансированности белка эндосперма /10/.

Как поиск генетических источников, так и самая селекция на высокое содержание и качество белка сопряжены с большими трудностями: большая фенотипическая изменчивость содержания белка в зерне и лизина в суммарном белке зерна; рецессивный характер и редкая встречаемость мутантных генов по белку; возможность сцепления изменчивости по белку с неблагоприятными признаками.

Проявление мутантных генов по белку особенно затруднено у амфидиплоидов /16/, поэтому у пшеницы до сих пор не найдены моногенные мутанты по белку.

Показано, что из трех геномов мягкой пшеницы признаки наиболее высокого содержания белка в зерне и лизина в белке несет геном А, несколько уступает ему геном В. Самые низкие показатели по белку и лизину характерны для генома Д /17/.

Мутантные гены по белку, как правило, почти не имеют морфологических маркеров. Недавно установлено, что у пшеницы высокая белковость ассоциируется с пятнистостью колосковых чешуй /11/.

Оценка исходного материала и получение наследственных изменений с характеристикой структуры генома, контролирующих биосинтез белков, возможна лишь методами молекулярной биохимии и генетики /18/. Особый интерес представляет геномный анализ по белкам зерна, а в перспективе – по белкам хромосом /19/.

Изучение особенностей действия мутагенных факторов на наследственную изменчивость белковых веществ у пшеницы имеет важное значение для создания форм с высокими хлебопекарными качествами в сочетании с другими признаками ценными /20–25/. В ряде работ показана возможность получения наследственных изменений биохимического состава у растений под действием мутагенных факторов. Этот метод, который на микроорганизмах дал большие результаты

/26/, постепенно применяется и на растениях /1-5/. В последние годы вышел ряд работ, посвященных получению мутантов у растений и их селекционному использованию /5, 27-35/.

Цель настоящего исследования - изучение содержания свободных аминокислот и растворимых углеводов хозяйственно ценных мутантов /М₇/, выделенных у межсортовых гибридов Алты-Агач х Безостая 1. Для исследования было взято зерно четырех мутантов и исходных сортов. Ниже приводятся характеристики этих мутантных линий.

Мутантная линия 1/2 получена из гибридной комбинации Алты-Агач х Безостая 1 при облучении гибридных семян третьего поколения рентгеновскими лучами дозой 10 кр. По морфологическим признакам линия относится к разновидности Ферругинеум. При размножении мутантной линии 1/2 на Шамшадинской базе лаборатории в Мз были выделены разные мутантные формы, отличающиеся от исходной мутантной формы по одному или нескольким признакам (скверхеды с белым и красным колосом, высокорослые, среднерослые, с опушенным колосом и др.).

Мутант 1-157 характеризуется скверхедным типом колоса. Для мутантов 17-145 и 18-146 наиболее характерным признаком является цилиндрическая форма колоса. Мутантный признак мутанта 2-158 - скверхедный тип колоса; он отличается от мутанта 1-157 только по белой окраске колоса.

Приведенные характеристики показывают, что мутанты по морфологическим признакам значительно отличаются от исходных сортов. Заметные различия наблюдаются по продолжительности вегетационного периода. Мутантные линии по сравнению с исходными сортами более продуктивны /табл. 1/.

Таблица 1
Продуктивность мутантов пшеницы

Исходные формы и мутанты	Продуктивное кущение	Высота растений, см	Длина колоса, см	Число колосков	Число зерен с колоса	Вес зерна на одного колоса, г
Алты-Агач	3,1±0,2	103,0±1,0	7,5±0,1	11,9±0,2	20,3±0,2	0,99±0,04
1 - 157	2,6±0,1	79,0±1,4	5,2±0,1	15,2±0,3	40,2±0,2	1,57±0,06
2 - 158	2,9±0,1	81,7±0,9	5,1±0,2	13,7±0,3	31,6±1,2	1,48±0,07
17-145	2,9±0,1	95,0±1,2	5,9±0,2	14,7±0,4	34,3±1,3	1,58±0,07
18-146	3,7±0,2	85,7±0,8	5,7±0,1	14,0±0,2	37,2±1,2	1,66±0,06
Безостая 1	3,1±0,1	78,0±0,8	6,8±0,2	13,7±0,3	26,2±0,9	1,21±0,04

Как видно из этих данных, мутанты превосходят исходные сорта по числу зерен с колоса на 55,6-98,0 и 20,6-53,0%, а по весу зерна с колоса на 49,4-67,7 и 22,3-37,0%. По показателям абсолютного веса зерна (вес 1000 зерен) и натурального веса зерна (вес зерна 1 литра объема) все мутанты превосходят материнскую форму (сорт Алты-Агач) и незначительно уступают сорту Безостая 1. Таким образом, мутантные линии от исходных сортов и между собой различаются не

только по морфологическим признаками, но и по продуктивности и качеству зерна.

Известно, что форма растений находится в тесной связи с их химическим составом и наибольшие различия в аккумуляции определенных химических веществ следует ожидать у контрастных форм растений. Вот почему, мы в первую очередь стали изучать содержание сырого протеина и свободных аминокислот у мутантов морфологически-ми изменениями, когда изменены форма растений и размер отдельных органов.

Содержание сырого протеина определяли по методу Кьельдаля /коэффициент 5,7/. Для определения растворимых углеводов и свободных аминокислот семена фиксировали горячим 70% этиловым спиртом. Вытяжку получали путем трехкратного гомогенизирования образцов семян 75% этиловым спиртом с последующей экстракцией в течение 24 час. 75% этиловым спиртом при температуре 4-6°. Для разделения свободных аминокислот и растворимых углеводов был использован метод нисходящей хроматографии на бумаге с применением растворителя: Н бутанол + уксусная кислота + вода с объемным соотношением 4 : 1 : 2. Количественное определение аминокислот после хроматографического разделения производили с помощью методики, описанной Т. С. Пасхиной /36/. Определение содержания кетосахаров осуществлялось резорциновым, альдосахаров - анилинфталатными методами /37/.

Таблица 2

Содержание общего азота и сырого протеина в зерне мутантов пшеницы (в %)

Исходные сорта и мутанты	Содержание общего азота			Содержание протеина		
	1972	1973	среднее за 2 года	1972	1973	Среднее за 2 года
Алты-Агач	3,01	2,62	2,81	17,12	15,0	16,06
1-157	3,29	2,88	3,08	18,75	16,42	17,57
2-158	3,22	3,23	3,22	18,35	18,41	18,38
20-148	3,37	2,66	3,01	19,21	15,16	17,18
18-146	3,56	3,07	3,31	20,30	17,50	18,90
Безостая 1	2,52	2,39	2,45	14,36	13,52	13,98

Приведенные в табл. 2 данные показывают, что мутантные линии по содержанию общего азота значительно отличаются от исходных сортов. Содержание протеина выше по сравнению с сортом Алты-Агач на 1,14-2,65 и сортом Безостая 1 - на 1,77-3,28%. При этом содержание общего азота и протеина в зерне было тем выше, чем ниже высота растений (табл. 1 и 2). Как видно из этих данных, преимущество низкостебельных мутантов над исходными сортами по содержанию протеина в зерне устойчиво сохраняется по годам.

Согласно последним гипотезам /15/, синтез протеина связан с клеточными мембранами. Очевидно, чем более мелкоклеточным является организм, тем больше поверхность мембран в единице объема,

а это может служить геометрическим показателем интенсивности синтеза белка. Установлено также, что увеличение содержания протеина в растениях после воздействия мутагенными факторами связано с увеличением у них поверхности эндоплазматического ретикула. Мелкоклеточность чаще всего приводит к уменьшению размера зерновки и снижению урожая зерна. Но как показали наши опыты, не исключена возможность выделения крупнозерных мутантов с мелкоклеточным строением или мелкозерных мутантов с нормальной урожайностью. У наших макромутантов содержание протеина составило 17,20-18,90%, что на 11,4-22,2 и 7,3-10,3% выше исходных сортов Безостая 1 и Алты-Агач.

По показателям отдельных форм растворимых углеводов и по общей сумме их также наблюдаются различия как между мутантами и исходными сортами, так и среди мутантных форм (табл. 3). Однако эти различия не столь существенны (рис. 1).

Таблица 3

Содержание растворимых углеводов в зернах мутантов пшеницы (в % на абс. сухое вещество)

Исходные сорта и мутанты	Алты-Агач	1-157	2-158	17-145	18-146	Безостая 1
Глюкоза	0,15	0,20	0,30	0,20	0,25	0,24
Фруктоза	0,25	0,30	0,35	0,25	0,30	0,30
Сахароза	1,88	1,14	1,22	1,05	1,05	1,15
Рафиноза	0,67	0,60	0,65	0,60	0,55	0,52
Олигосахариды	1,90	2,00	1,85	2,00	1,75	1,95
Сумма углеводов	4,15	4,24	4,37	4,10	3,90	4,16

Некоторое повышение суммарного количества углеводов наблюдается у мутантов со скверхедным типом колоса (1-157 и 2-158), что обусловлено повышением содержания фруктозы и олигосахаридов, а отчасти и сахарозы. Уменьшение содержания углеводов по сравнению с исходными сортами отмечено у мутанта 18-146.

В зерне отдельных мутантов обнаружены различия в количественном соотношении многих аминокислот, в том числе незаменимых, причем разница между мутантами и исходными сортами по сумме свободных аминокислот достигала 0,39-0,62 мг на 1 г абсолютно сухого вещества (табл. 4, рис. 2).

Суммарное количество свободных аминокислот у мутантных форм оказалось на уровне исходных сортов или на 6,8-13,2% выше. Мутанты 2-158 и 18-146 превосходят исходные сорта на 25,0-33,3 и 12,5-20,0% по содержанию лизина, гистидина и аргинина - аминокислоты, лимитирующей питательную ценность большинства растительных белков.

У мутантов 1-157 и 18-146 оказалось выше, чем у исходного сор-

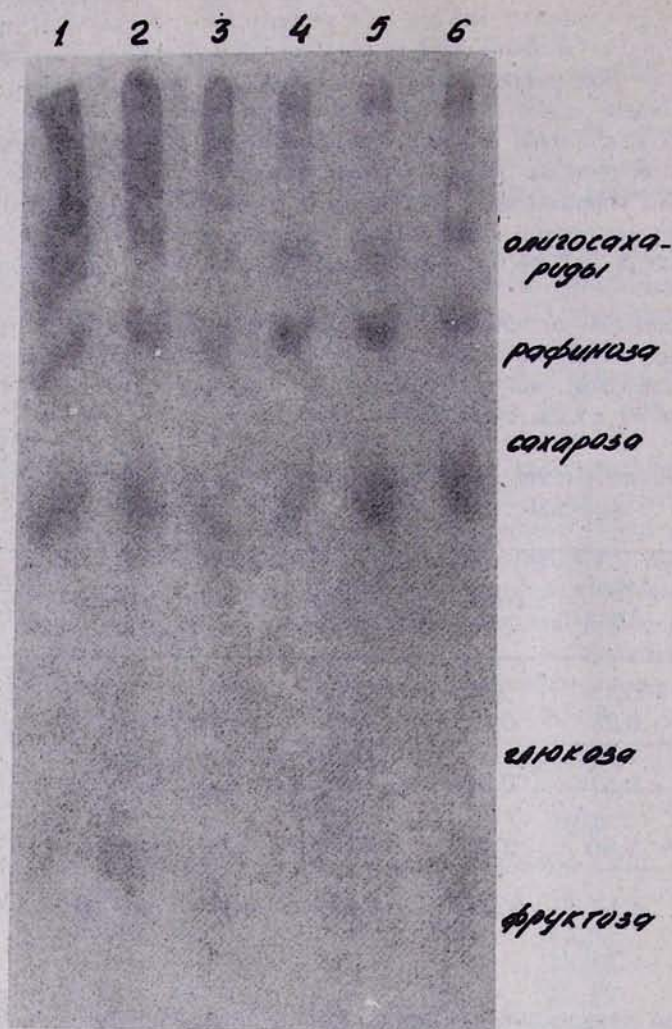


Рис. 1. Состав растворимых углеводов у исходных сортов пшеницы и их мутантов: 1) Алты-Агач; 2) мутант 1-157; 3) мутант 2-158; 4) мутант 17-145; 5) мутант 18-146; 6) Безостая 1.

та Алты-Агач, а у мутанта 18-146 выше, чем у сорта Безостая 1, содержание глутаминовой кислоты, участвующей в реакциях усвоения и превращения азота. Более высокая продуктивность этих мутантов обеспечивается, по-видимому, повышенной интенсивностью усвоения и накопления азотистых веществ.

По содержанию ряда аминокислот мутантные линии различаются между собой в значительных пределах.

Поскольку мутанты на 22,3-67,7% превышают исходные сорта по

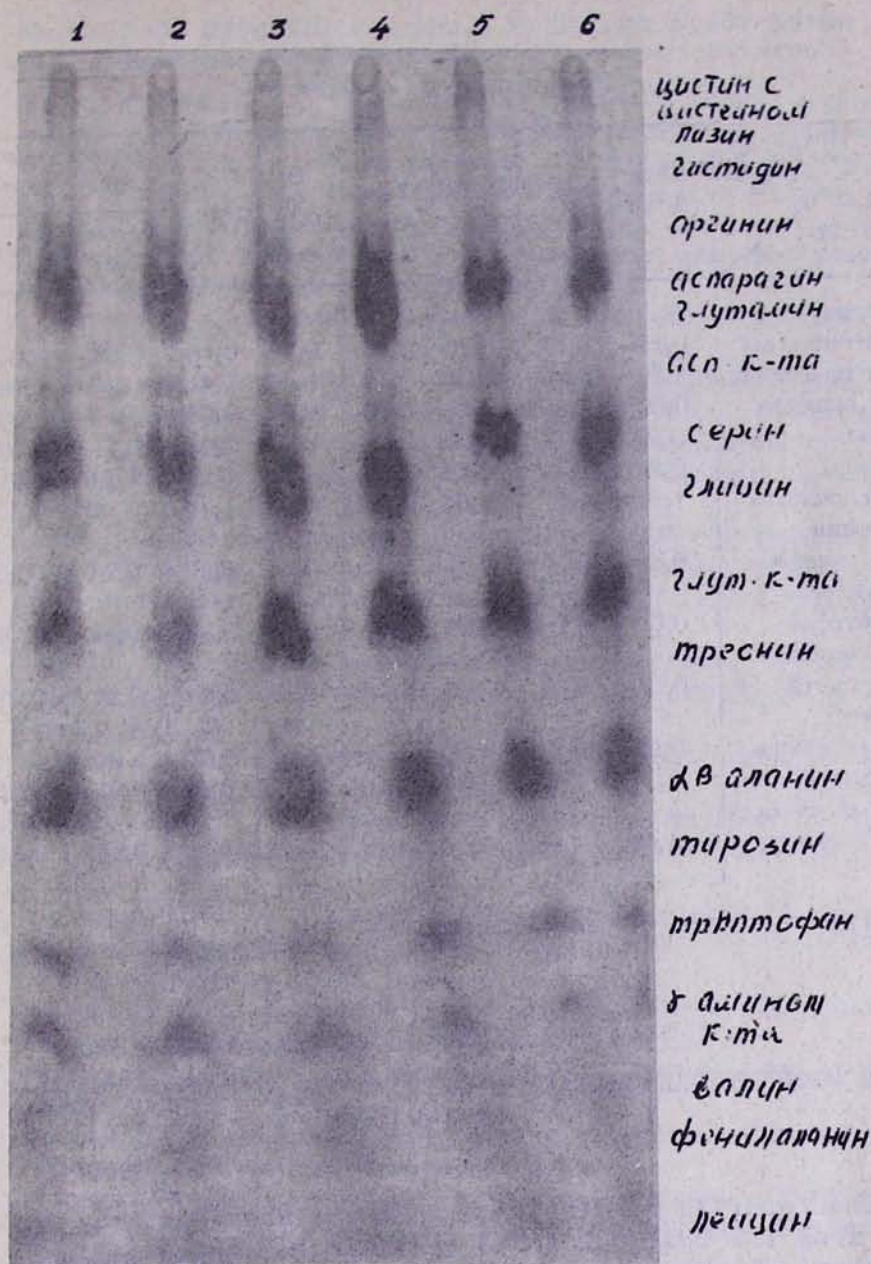


Рис. 2. Аминокислотный состав исходных сортов пшеницы и их мутантов: 1) Алты-Агач; 2) мутант 1-157; 3) мутант 2-158; 4) мутант 17-145; 5) мутант 18-146; 6) Везостая 1.

продуктивности и на 7,3-22,2% по общему содержанию белка в зерне, то сбор белка зерна с единицы площади у них значительно выше. Мутанты превосходят исходные сорта также по сбору с единицы площади незаменимых аминокислот.

Таблица 4

Содержание свободных аминокислот в зерне мутантов пшеницы
/в мг на 1 г абсолютно сухого вещества/

Исходные сорта и мутанты Аминокислоты	Алты-Агач	1-157	2-158	17-145	18-146	Безостая 1	Превышение исходных сортов	
							Алты-Агач	Без.1
Цистин	+	+	+	+	+	+		
Лиз+гист+арг	0,15	0,15	0,20	0,16	0,18	0,16	0,05	0,04
Асп+глутамин	1,30	1,25	1,50	1,45	1,44	1,41	0,20	0,16
Асп.кислота	0,06	0,100	0,10	0,10	0,09	0,07	0,04	0,03
Серин	0,94	0,85	1,03	1,05	1,00	0,97	0,11	0,06
Глицин	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02	0,01	0,01
Глут.кислота	1,65	1,75	1,64	1,60	1,85	1,76	0,20	0,12
Треонин	+	+	+	+	+	+		
$\Delta\beta$ аланин	0,38	0,53	0,62	0,41	0,48	0,40	0,24	0,22
Тирозин	+	+	+	+	+	+		
Триптофан	0,09	0,08	0,08	0,07	0,07	0,08	0,02	0,01
γ аминок-масл. к-та	0,04	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04	0,01	0,01
Валин	+	+	+	+	+	+		
Фенилаланин	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	-	-
Лейцин+изол.	0,03	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,01	0,01
Сумма свободных аминокислот	4,68	4,93	5,30	4,97	5,24	4,96	0,62	0,34

Примечание. + следы аминокислот.

V. A. Avakian, H. M. Gevorkian

THE BIOCHEMICAL CHARACTER OF SOME WHEAT MUTANTS INDUCED BY X-RAYING

Summary

The received results show that the wheat mutants differ from the original sorts by their morphological and biochemical characters. They differ not only in the composition of protein but in the composition of aminoacids and the unchangable ones as well.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шкварников П. К. Значение искусственного получения мутаций в селекции сельскохозяйственных растений. Бюлл. МОИП, отд. биол., 70 /4/, 130, 1965.

2. Mac Key U. Mytation breeding in Europe Brook-haven Sym-
posia in biology, N 9. 1962.
3. Шкварников П. К., Черный И. В. Получение новых наслед-
ственных форм яровой пшеницы с помощью ионизирующих излучений.
В сб.: Радиация и селекция растений, М., Атомиздат, 69, 1965.
4. Шкварников П. К., Черный И. В., Дундук И. Г., Ермако-
ва М. Ф. Экспериментальный мутагенез – перспективный метод
получения форм хлебных злаков с повышенными хлебопекарными
качествами. Цитология и генетика, 1, 4, 1967.
5. Дубинин Н. П. Проблемы радиационной генетики, М., "Наука",
1961.
6. Майстренко О. И., Пальчикова Г. М. Изменчивость содер-
жания клейковины и ее хлебопекарных качеств в зерне внутриви-
довых гибридов мягкой пшеницы под влиянием гамма- и рентге-
новских лучей. В кн.: Влияние ионизирующих излучений на наслед-
ственность, М., "Наука", 1966.
7. Черный И. В. Изменчивость содержания и качества клейковины
у яровой пшеницы, вызванная радиацией. В сб.: Эксперименталь-
ный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использо-
вание в селекции. М., "Наука", 47, 1966.
8. Мунк Л. Генетическая изменчивость хлебных злаков по качеству
зерна и использование ее в селекции. Сельское хозяйство за ру-
бежом, № 9, 10, 1973.
9. Nelson O. New approaches to breeding for improved plant
protein, Austr, 1969, 41-54.
10. Конарев В. Г. Молекулярно-генетические аспекты и стратегия
улучшения растительного белка селекций. Вестник с.-х. науки,
4, 1974.
11. Сваминатхан М. и др. Пути повышения содержания белка и
его качества у зерновых и зернобобовых культур. Сельское хо-
зяйство за рубежом, № 9, 1970.
12. Брежнев Д. Д. Коллекция ВИР и резервы увеличения производ-
ства растительного белка. Вестник с.-х. науки, 3, 1973.
13. Swaminathain M. et.al. Mytations in plant Biceding II,
IAEA, Vienna , 1968.
14. Сальникова В. К. Селекция пшеницы на короткостебельность.
Сельское хозяйство за рубежом, 6, 1970.
15. Лукьяненко П. П., Жогин А. Ф. Использование индуцирован-
ных карликовых мутантов в селекции озимой пшеницы. Селекция
и семеноводство, 1, 1974.
16. Micke A. Genetic aspects of selection for protein after
mutation in diction Improving plant protein by nuclear
techniques Vienna, 1970.
17. Конарев В. Г. Биохимические и молекулярно-генетические пред-
посылки в селекции растений на белок. Вестник с.-х. науки, № 2,
96, 1973.
18. Конарев В. К. Молекулярная биология и некоторые проблемы
растениеводства. Вестник с.-х. науки, № 2, 7, 1972.
19. Ямалаева А. А., Гаврилюк И. П., Конарев В. Г. Геномный
анализ *Triticum activum* и *Triticale* по гистонам. Ге-
нетика, т. УШ, 8, 44, 1972.

20. Козьмина Н. П., Ильина В. И., Наумова А. Т. Новый микрометод определения клейковины в зерне пшеницы. Селекция и семеноводство, 6, 1961.
21. Княгиничев М. И. Изменчивость белка и ее значение для селекции пшеницы. Социалистическое растениеводство, 21, 1937.
22. Майстренко О. И., Трошина А. В., Лысенко Р. Г. Улучшенный микрометод оценки клейковины по набухаемости в растворе молочной кислоты для селекционно-генетических исследований. Тр. ВНИИЗ, вып. 50-51, 105, 1964.
23. Черный И. В. Изменчивость содержания и качества клейковины у яровой пшеницы. Генетика, № 4, 1965.
24. Авакян В. А., Никогосян Е. Е. Изменчивость содержания клейковины и ее хлебопекарных качеств в зерне мутантов пшеницы. В сб.: Экспериментальный мутагенез растений, Изд. АН Арм. ССР, 1974.
25. Авакян В. А., Никогосян Е. Е. Характеристика качества зерна у мутантов пшеницы. Биол. журнал Армении, 1974.
26. Алиханян С. И. Селекция промышленных микроорганизмов. М., "Наука", 1968.
27. Густафсон А. Мутационная теория и ее применение в селекции растений. Сельскохозяйственная биология, 3, 1, 1968.
28. Дубинин Н. П. О некоторых узловых вопросах современной теории мутагенеза. Генетика, т. 2, 7, 1966.
29. Дубинин Н. П. Генетика и сельское хозяйство. В кн.: Практические задачи генетики в сельском хозяйстве, М., "Наука", 1971.
30. Хвостова В. В. Ионизирующие излучения в селекции растений. Вестник АН СССР, 5, 1966.
31. Хвостова В. В., Можаяева В. С., Черный И. В. Экспериментальный мутагенез у пшеницы. Генетика, т. У, П, 1969.
32. Хвостова В. В., Тарасенко Н. Д. Проблема специфичности экспериментального мутагенеза у высших растений. Успехи современной биологии, 69, 3, 1970.
33. Шкварников П. К. Использование радиации в селекции растений /современное состояние и перспективы/. В сб.: Радиация и селекция растений, "Атомиздат", 17, 1965.
34. Шкварников П. К. Современные задачи исследований по экспериментальному получению и практическому использованию мутации у растений. Генетика, 6, 1966.
35. Штуббе Г. О. О связях между естественным и искусственно полученным многообразием форм и о некоторых экспериментальных исследованиях культурных растений по эволюции. Генетика, 11, 1966.
36. Пасхина Т. С. Современные методы биохимии, М., 1964.
37. Завадская И. Г., Горбачева Г. И., Мамушина Н. С. Количественное определение углеводов резорциновым, анилин-фталатым методом с помощью бумажной хроматографии. В сб.: Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений, М., 1962.