

В. О. БАБАЯН, Д. О. АВАКЯН

## К ВОПРОСУ ОБ ИЗМЕНЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ, ВЫРАЩЕННЫХ ИЗ НЕСПЕЛЫХ СЕМЯН

Уровень естественного мутирования растений, находящихся в фазе молочно-восковой спелости (15—25 дневные), достигает 9%, а при облучении—20%. Почти все мутации жизнеспособны. Уровень мутирования хромосом возрастает с уменьшением эмбрионального возраста семян.

Делается предположение, что метод посева неспелых семян может быть использован как для получения более высокого выхода жизнеспособных мутаций у пшеницы, так и в качестве удобной модели для генетических исследований.

Перспектива перестройки организмов по заданному плану—биоинженерия придает притягательность проблеме мутагенеза. И, конечно, исследования в области экспериментального мутагенеза—изучение механизма изменчивости, разработка методов изучения и получения мутаций (особенно по заданному плану), а также выявление и изучение объектов, удобных для этих исследований,— нужно считать весьма важными и необходимыми.

В решении проблемы мутагенеза немаловажную роль, как нам кажется, могут играть неспелые семена.

Многочисленные сообщения о более высокой изменчивости растений при посеве неспелых семян [2, 3, 5, 6, 11 и др.], а также исследования в области цитогенетики неспелых семян [1, 8, 12, 13, 14] показывают, вопреки некоторым возражениям [7, 9], что они могут быть применены для получения хозяйственно-ценных мутаций, а также для исследований в области экспериментального мутагенеза и других проблем генетики.

*Материал и методика.* Опыты ставились на озимой мягкой пшенице разновидности турцикум—сорт Арташати 42. Этот сорт выведен путем многократного отбора из аборигенной популяции, поэтому считается гомозиготным.

Исследования проводились в лаборатории радиационной генетики АН Армянской ССР на экспериментальной базе Отделения биологических наук, расположенной в предгорной зоне на высоте 1400 м над ур. м. Это зона полупустынь с жарким, сухим, континентальным климатом; почва типа киров. Однако почва экспериментальной базы не типична для этой зоны, она представляет собой тяжелые глинистые наносы. В общем вся предгорная зона, в том числе и экспериментальная база, при наличии орошения весьма благоприятна для возделывания пшеницы.

Данные учета изменчивости в  $M_2$  приводятся в табл. 1.

Таблица 1

Мутагенез во втором поколении семян, облученных лучами Рентгена

Возраст семян, дни	Доза облучения, Р	Разновидность в М <sub>1</sub>	Количество растений	В том числе мутаций				% мутаций
				меридионале	турцикум компактная форма	всего мутаций	% меридионале из общего количества мутаций	
7	0	турцикум	410	—	—	—	—	0,7±0,1
	400	турцикум	678	5	—	5	100	
15	0	турцикум	1807	17	34	51	33,3	2,8±0,37
		турцикум	1220	40	—	—	—	
		турцикум компактная форма	50	—	50	110	54,5	
		меридионале	20	20	—	—	—	
28	0	турцикум	1447	59	—	—	—	9,8±0,75
		турцикум компактная форма	127	—	87	156	44,2	
	булавовидность	10	10	—	—	—		
	400	турцикум	1588	10	160	—	—	
турцикум компактная форма		190	55	135	370	20,3		
меридионале		70	10	—	—	—		
41	0	турцикум	882	—	—	—	—	—
		турцикум	2017	5	—	—	—	
		турцикум компактная форма	—	—	50	55	—	

Сбор семян в разных фазах спелости производился следующим образом. В изолированном посеве (пространственная изоляция) подопытного сорта в период цветения отбирались наиболее типичные колосья, средняя часть которых цвела. На эти колосья надевался изолятор из кальки. Изолированные колосья убирались через 7, 15, 28, 41 дней. Указанные сроки соответствуют фазам зеленой, молочной, восковой и полной спелости. Спелые 41-дневные семена использовались в качестве контроля. Собранные семена хранились в снопиках, в комнатных условиях.

Осенью перед посевом снопики обмолачивались, отбирались зерна, наиболее характерные (по внешнему виду) для данной фазы спелости, проращивались и затем в наклонившемся виде облучались рентгенотерапевтическим аппаратом РУМ-11 (доза—400 р, мощность дозы 32 Р/м).

Облученные семена высевались в грунт в 3-х повторностях, по 240 зерен в каждом варианте. Уход обычный. Учет изменчивости М<sub>1</sub> производился в течение вегетации. Каждое растение было пронумеровано и убиралось в отдельности. Данные изменчивости уточнялись при изучении растений в лаборатории.

Все измененные формы, а также почти все остальные колосья были взяты и высеяны в отдельности для получения М<sub>2</sub> и выявления мутаций. Всего было высеяно 1716 семей. Из каждого колоса-семьи высевалось по 10 зерен в один ряд. Учет мутаций производился в течение вегетации и затем уточнялся в лаборатории после уборки.

*Результаты и обсуждение.* Данные табл. 1 показывают значительную мутабельность неспелых семян, которая возрастает до высокой спелости, а затем резко снижается. Особый интерес представляет образова-

ние разновидности меридионале. Ее процент от общего числа мутаций в вариантах с облучением снижается от 100% у 7-дневных семян до нуля у 41-дневных. В вариантах без облучения (естественное мутирование) меридионале образуется лишь в потомстве 15—18-дневных семян.

Описанный эффект, особенно естественное мутирование, зависит от множества факторов. Поэтому мутагенные свойства незрелых семян пшеницы изучались и методами цитогенетики.

Семена заготавливались вышеуказанным способом в возрасте 5, 15, 25, 40 дней. Анализ проводился в клетках меристемы корешков методом давленных препаратов; фиксация—в смеси Карнуа, окраска—ацетолакмондом.

Прежде всего было определено начало митозов. Максимум митотической активности при температуре 24—25° наступил у спелых семян (40-дневных) через 30 час. после замачивания, у семян восковой спелости (25-дневных)—через 32 час., у семян молочной спелости (15-дневных) через 35 час; у семян зеленой спелости (5-дневных)—через 36 час. В эти сроки проводилась фиксация корешков (табл. 2).

Таблица 2

Уровень естественного мутирования клеток корешков разноспелых семян пшеницы

Возраст семян, дни	Количество просмотренных анафаз	Количество мутаций хромосом	Уровень естественного мутирования, $M \pm m$	Мутации хроматидного происхождения, % от общего числа мутаций
5	500	149	$29,80 \pm 2,05$	74,4
15	1000	122	$12,2 \pm 1,04$	92,2
25	1000	136	$13,6 \pm 1,07$	91,0
40	1000	16	$1,6 \pm 0,4$	100

Данные таблицы показывают, что естественный мутационный процесс клеток меристемы корешков незрелых семян в 8—18 раз выше, чем спелых.

Максимум изменчивости хромосом здесь совпадает с началом эмбриогенеза, а не с молочной и восковой спелостью как при мутировании растений (табл. 1).

Пшеница, как известно, относится к задержанному типу проявления цитогенетического эффекта. У незрелых 5-дневных семян эта особенность пшеницы нарушается почти на 25%.

Факты, приведенные в табл. 1 и 2, трудно поддаются интерпретации. Здесь мы можем делать лишь теоретические допущения.

Незрелые семена, например пшеницы, уже через 3 дня после оплодотворения способны прорасти, а это дает возможность на любой стадии эмбриогенеза прекращать дальнейшую дифференциацию и развитие зародыша и выращивать из него новое растение. Установлено, что дифференциация зародыша начинается уже через несколько часов после оплодотворения, к началу молочной (7 дней) спелости зародыш пшеницы имеет лишь зачатки органов будущего зародыша. Только к концу

молочной спелости (14—16 дней) образуются зачаточные листья и корешки. Окончательно сформированный зародыш мы встречаем к концу третьего десятка дней, а всю зерновку и того позже [4, 10]. Нужно полагать, что различная степень дифференциации зародыша, различная активность ростовых процессов, различное содержание воды и метаболитов в эндосперме, различная степень сформированности биологических структур зародыша и многие другие различия между эмбрионально разновозрастными семенами делают их не равнозначными перед действием внешних условий вообще и мутагенов в частности. У 3—7-дневных семян эндосперм почти отсутствует, а у молочновосковых он наполнен на  $1/3$ — $2/3$ . В это время еще не сформирован щиток, через который поступают из эндосперма в зародыш все питательные вещества. В результате мы имеем недостаточное, а главное ненормальное питание зародыша. Это может привести, с одной стороны, к интоксикации зародыша и образованию в его теле мутагенов, а с другой—к блокировке некоторых генов ввиду отсутствия или недостаточности соответствующих условий.

В связи с изложенным необходимо вернуться к уже цитированной работе Г. Б. Медведевой. Автор считает, что в сообщениях о высокой изменчивости неспелых семян допущены ошибки, что это либо результат гибридного расщепления, либо выщепления рецессива.

Позволим заметить, что если бы причиной высокой изменчивости являлась гибридизация, то растения, полученные из спелых семян, тоже должны были расщепляться, так как однолетняя изоляция не может предохранить гибридный организм от расщепления. В противном случае мы должны признать, что гибриды выше  $F_2$  не расщепляются. Почти то же можно сказать о выщеплении рецессива.

В наших опытах применялась двойная изоляция—пространственная и местная. Посев производился по семьям, т. е. применялись все меры предосторожности. И тем не менее, мы наблюдали изменчивость (табл. 1), в которой явно вырисовываются элементы закономерности в появлении разновидностей меридионале. Разновидность меридионале, как известно, отличается от разновидности турцикум лишь окраской колоса. По всем остальным систематическим признакам эти разновидности сходны. Кроме того, они принадлежат к одному экотипу. Поэтому трудно установить, имеем ли мы дело с мутацией доминантного гена красной окраски колоса разновидности турцикум или с выщеплением рецессива, которое происходит в результате посева неспелыми семенами.

Однако будь то мутация или выщепление рецессива, в обоих случаях следует обратить внимание на это явление, ибо если это мутация, то неспелые семена дают возможность изучать некоторые закономерности мутационного процесса. Если же это выщепление рецессива, то и это является весьма интересным свойством и дает возможность широкого применения их в гибридологии и гибридизации.

Обобщая литературный материал и изложенные экспериментальные данные, можно утверждать, что при посеве неспелых семян наблюдается более высокая изменчивость растений.

Вышеизложенное дает основание рекомендовать неспелые семена как для получения более высокого выхода жизнеспособных мутаций у пшениц, так и в качестве удобной модели для генетических исследований, особенно в области мутагенеза и гибридологии. Закономерность в появлении разновидности меридионале (табл. 1) и смещение момента возникновения мутаций (табл. 2) дают основание предполагать, что неспелые семена применимы и при исследованиях по управляемому мутагенезу.

Станция шелководства  
МСХ АрмССР

Поступило 26.VI 1972 г.

Վ. Հ. ԲԱԲԱՅԱՆ, Դ. Հ. ԱՎԱԿՅԱՆ

### ԽԱԿ ՍԵՐՄԵՐԻՑ ԱՃԵՑՐԱԾ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՓՈՓՈԽԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՀԱՐՑԻ ՄԱՍԻՆ

#### Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հետազոտվել է խակ սերմերից աճեցրած բույսերի բնական և ինդուկցված փոփոխականությունը:

Փորձի համար օգտագործվել են ճառագայթված (400 n) և չճառագայթված 7, 15, 28, 41 օրվա (հաշված ծաղկման օրից) փափուկ ցորենի սերմերը (Արտաշատի 42):

Մուտացիաների հաշվարկը կատարվել է  $M_2$ -ով:

Ամենից մեծ թվով մուտացիաներ հայտնաբերվել են 15—28 օրվա հասակ ունեցող սերմերում՝  $9,8 \pm 0,75\%$  բնական մուտացման ժամանակ և  $20,5 \pm 0,94\%$  ունեցող ճառագայթահարման ժամանակ (հասուն սերմերում համապատասխանաբար 0 և  $2,7 \pm 0,36\%$ ):

Ապացուցվել է, որ խակ սերմերի ցածր զոդայով (400 n) ճառագայթահարման դեպքում նկատվում են մեծ թվով կենսունակ մուտանտներ: Մուտացիոն փոփոխականությունների հաճախականությունը արմատիկների մերիստեմային բջիջներում էմբրիոնալ հասակի փոքրացմանը զուգընթաց բարձրանում է:

Մուտացիոն փոփոխականությունների դրսևորման հաճախականության համապատասխանությունը բույսերում և բջիջներում բացատրվում է նրանով, որ մուտացման պրոցեսը 5—15 օրական սերմերի թույլ գերզգայնություն ունեցող սաղմում հանգեցնում է վերջիններիս ոչնչացմանը:

Առաջադրվում է խակ սերմերի օգտագործման հնարավորությունը իրեն ազդեցիկ են սաբանական ուսումնասիրությունների հարմար մոդել:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян Д. О., Бабаян В. О. Биологический журнал Армении, 20, 7, 1967.
2. Агинян А. А. Издательство С.-Х. науки МСХ Арм. ССР, Ереван, 1958.
3. Агинян А. А., Бабаян В. О. Изв. АН АрмССР, 6, 3, 1953.

4. Александров В. Г., Александрова О. Г. Ботанический журнал, 24, 5—6, 1939.
5. Бабаян В. О. Агробиология, 5, 1963.
6. Виноградова Е. И. Селекция и семеноводство, 2, 1951.
7. Дубинин Н. П., Щербаков В. К. ДАН СССР, 159, 3, 1964.
8. Зеленов А. Н. Доклады ТСХА, вып. 136, 1968.
9. Медведева Г. Б. Генетика, 12, 1966.
10. Модилевский Я. С., Бейлис Р. А. Журнал Ин-та Ботаники АН УССР, 13—14, 1937.
11. Трухинова А. Т. Агробиология, 6, 1965.
12. Файнброн Б. Д. Доклад ТСХА, вып. 2, 1961.
13. Kato V. 135, 9, 251, 1960.
14. Mericle Z. W. and Mericle R. P. 44, 9, 1957.