

## ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ МУТАГЕННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ПРИМЕРЕ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Данным коллективом изучаются закономерности метода химического мутагенеза И.А. Рапопорта в области наследственной изменчивости. Исследования относятся к действию химических супермутагенов: этиленimina (ЭИ), нитрозозтилмочевина (НЭМ), диметилсульфата (ДМС), ионизирующих излучений – гамма-лучей и быстрых нейтронов. В качестве исходных были взяты сорта озимой пшеницы Мироновская 808 и сорт Пшенично-пырейный гибрид (ППГ) 186. Целью работы является исследование возможностей повышения эффективности мутагенных воздействий.

### Материалы и методы

Изучалось влияние супермутагенов ЭИ и НЭМ И.А. Рапопорта на сорта озимой пшеницы Мироновская 808 и ППГ 186. Основное внимание было уделено исходному сорту ППГ 186 как наиболее мутабельному и супермутагену ЭИ как наиболее эффективному при использовании диапазона его низких доз и в сочетании с высокомутабельным сортом ППГ 186.

### Результаты и обсуждение

Из всех сочетаний: исходный сорт – мутаген – доза наиболее эффективным оказалось действие ЭИ в диапазоне его низких доз, которые оказались оптимальными 0,01–0,04% (при экспозиции 24 часа) на высокомутабельный исходный сорт ППГ 186 [1]. Данный феномен подчёркивает, насколько важен правильный выбор сочетания этих трёх составляющих: химический мутаген – доза – исходный сорт. Например, сам по себе супермутаген НЭМ считается более эффективным, чем ЭИ. При нарушении этого «трёхстороннего союза» эффективность мутагенных воздействий падает.

То же можно сказать об исходном сорте. Бытует мнение, что для работ по индуцированному мутагенезу надо брать в качестве исходного селекционно наилучший сорт, так называемый

«потолок». В момент начала проведения данных экспериментов (60-е годы XX века) таким «потолком» был сорт Мироновская 808. Но наиболее мутабельным оказался сорт ППГ 186 при упомянутых низких оптимальных дозах воздействия ЭИ [1]. Поэтому в дальнейших исследованиях механизмов действия ЭИ на озимую пшеницу и в работах по мутационной селекции мы использовали в качестве исходного именно этот сорт, а не так называемый «потолок». Интенсивное использование сорта ППГ 186 в данных исследованиях означает возвращение сорта, давно сошедшего со «сцены», в селекцию, но уже на базе мутационной селекции. В дальнейших работах по мутационной селекции сорт имеет будущее.

Именно сочетание: ЭИ – диапазон доз 0,01–0,04 – исходный сорт ППГ 186 вызвало наибольшую частоту мутаций и наибольшее генотипическое и фенотипическое разнообразие мутантов, в том числе несущих хозяйственно-перспективные признаки, определяемые соответствующими мутациями [2]. Именно в этом сочетании химического мутагена, его доз, и исходного сорта были получены исключительно ценные мутации [3] и выявлены наиболее ценные новые признаки, не характерные для озимой мягкой пшеницы, и новые комплексы ценных признаков. Всё это в значительной степени интенсифицирует селекционный процесс и создание новых сортов, и получить это вне метода химического мутагенеза трудно, а чаще – невозможно.

Получив данный результат, мы понимали, что для дальнейших работ в области мутационной селекции важно иметь возможность прогнозировать наиболее эффективные воздействия мутагеном и получение высокой частоты и широкого разнообразия мутаций, в том числе определяющих хозяйственно ценные признаки и их комплексы, чтобы более целенаправленно выбрать материал, нужный селекционеру на данный момент. Ведь вполне возможно, что высоко-

коэффициентное сочетание химического мутагена, диапазона его доз и исходного сорта, обнаруженное нами, является не самым эффективным. Строить подобные прогнозы трудно в настоящее время, т.к. можно считать, что к ним пока не все пути найдены. Можно, тем не менее, опираться на некоторые косвенные показатели.

*Возможности прогноза эффективности мутагенных воздействий при выборе исходного сорта*

Возможно, в качестве исходных лучше брать сорта и образцы, созданные методом отдалённой гибридизации, как было в нашем исследовании [4], в связи, как надо полагать, с исходным гетерозиготным состоянием по каким-либо генам, которые в результате мутаций переходят в гомозиготное состояние, после чего наступает экспрессия этих генов. Однако это предположение может относиться только к генам, переходящим от доминантного гетерозиготного состояния к рецессивному гомозиготному. Переход к гомозиготному доминантному состоянию мутантного признака не выявляет. В этом случае превалировать в спектре должны были бы рецессивные гомозиготные мутации. Однако во втором поколении после обработки семян мутагеном мы выделяем главным образом доминантные мутации, которые могут быть как гомозиготными, так и гетерозиготными по мутантным генам. Большая часть рецессивных мутаций на самом деле обнаруживается в более поздних поколениях при переходе этих мутаций в гомозиготное состояние. В связи с этими наблюдениями вопрос о прогнозировании исходного сорта требует дальнейших исследований в мутационной селекции.

*Возможности прогнозирования эффективности мутагенных воздействий по данным первого поколения (M1)*

Имеется более реальная возможность прогнозирования эффективности мутагенных воздействий по показателям первого поколения. Например, в наших работах наблюдалось превышение по росту растений в M1 после обработки семян ЭИ над контролем, где семена замачивались в воде. Превышение составляло 10–15% [1] и более при дозах 0,01–0,04% ЭИ, что соответствовало наибольшей частоте мутаций и наибольшему их разнообразию во втором поколении M2 и последующих поколениях. Исходя из этого мы теперь знаем, что если в M1 в каких-либо вариантах имеется так называемый стимуляционный эффект, то во втором поколении (M2) в этих же вариантах можно ожидать наиболее значи-

тельный эффект мутагена в отношении высокой частоты и широты спектра мутационных изменений, в том числе селекционно ценных.

С увеличением диапазона доз до 0,05–0,08% наступало плавное снижение кривой высоты растений пшеницы в M1. Оно было более заметным при ещё более высоких дозах ЭИ 0,09–0,12% [5]. При этом снижалась частота мутационных изменений и сужалась широта спектра мутаций в M2.

Итак, в M2 наибольшая частота мутаций соответствовала дозам ЭИ 0,01–0,04% [1], т.е. тем дозам, при которых в M1 было наибольшее превышение роста растений над контролем. Стимуляционный эффект в M1 состоял не только в превышении роста растений, но и в увеличении размера колоса, числа зёрен в колосе на 10–15% и более по отношению к контролю, в увеличении фертильности и озернённости колоса, повышении продуктивной кустистости и повышении жизнеспособности на 20–30%. На основе всего этого мы пришли к заключению, что M1 играет большую роль в мутационной селекции с точки зрения возможности прогнозирования эффективности мутагенных воздействий. До сих пор в мутационной селекции роль M1 не дооценивалась. На этом основании мы полагаем, что данное превышение в M1 было вызвано не только стимуляционным эффектом физиолого-биохимического порядка, но и генетическим эффектом – гетерозисом, связанным с гетерозиготностью по мутантным генам. Мы пока не знаем, какого эффекта здесь больше – физиологического и биохимического (стимуляционного) или генетического (гетерозисного). Здесь может помочь интеграция генетиков с физиологами и биохимиками растений. Диапазон доз ЭИ 0,01–0,04% соответствовал не только самой высокой частоте мутаций, но и самому широкому разнообразию мутационного спектра и большому количеству ценных мутаций. На основании всего этого можно полагать, что M1 представляет собой хранилище не только большого числа мутантных генов в гетерозиготном состоянии, но и их большого разнообразия до выявления их в M2 и M3. Подобный эффект действия ЭИ в дозах 0,01–0,04% мы наблюдали и в других экспериментах с ЭИ. Таким образом, намечается возможность прогнозирования наибольшей эффективности мутагена по критерию влияния его доз на основе стимуляционно-гетерозисного эффекта низких доз в M1.

В вариантах со средними дозами 0,05–0,08% было отсутствие стимуляционно-гетерозисного эффекта, менее высокая частота мутаций и мень-

шее их разнообразие [5] по сравнению с низкими дозами 0,01–0,04%. В средних дозах ЭИ в М2 были выделены мутанты, несущие селекционно ценные мутации, хотя и в меньшем числе.

Таким образом, по стимуляционно-гетерозисному эффекту в М1 после обработки семян мутагеном, в данном случае ЭИ, мы можем заранее, ещё до М2, М3 и более поздних поколений, определить наиболее эффективные дозы и сосредоточить внимание именно на них в селекционных работах.

В этом же ключе можно опробовать действие других мутагенов на высшие растения, в нашем случае на озимую пшеницу. Возможно, в каждом отдельном случае с разными мутагенами на разных культурах можно увидеть подобную связь между первым, вторым и последующими поколениями. Во всех случаях к исследованию надо привлекать разные дозы мутагена. На данный момент, очевидно, критерий, включающий дозы мутагена, определяющие наличие стимуляционно-гетерозисного эффекта в М1, может служить показателем наибольшей эффективности мутагена в отношении частоты мутационных изменений и их генотипического разнообразия в М2 и последующих поколениях.

Мы пришли к этому методическому решению в отношении мутационной селекции, получив ряд поколений хемомутантов и сопоставив их с М1. Таким образом, на сегодняшний день прогнозом эффективности химического мутагена можно считать наличие стимуляционно-гетерозисного эффекта в М1 после обработки семян. Мы счастливо попали как бы на «золотую жилу», эмпирически использовав сочетание исходного сорта, химического супермутагена и диапазона его доз, которое оказалось высокоэффективным по данным, в том числе и более поздних поколений. О том, что можно прогнозировать эффект воздействия химическим супермутагеном, исходя из его доз в М1, мы тогда ещё не знали. Теперь стоит задача опробовать этот тест на других культурах и других исходных сортах. Это составит большое исследование не одного коллектива.

Предлагаемый тест прогноза эффективности химического супермутагена, исходя из наличия стимуляционно-гетерозисного эффекта в М1, прост и вполне доступен для исследователей. Использование его несомненно повышает эффективность мутационной селекции и ускоряет создание новых сортов. Но, очевидно, есть и другие способы повышения эффективности воздействия химическим мутагеном и повыше-

ния эффективности мутационной селекции. Мы полагаем, что у метода химического мутагенеза есть не менее значимое, а, возможно, и ещё более значимое будущее и его потенциальные стратегические возможности ещё будут воплощаться в фундаментальных и прикладных исследованиях.

*Прогноз эффективности мутагенных воздействий на основе их специфичности*

В более поздних поколениях, после М1, начиная с М2 и М3, намечается прогноз, который оправдывает себя благодаря наличию специфичности в действии химического мутагена [6]. Специфичность состоит, с одной стороны, в возникновении широкого разнообразия хемомутантных признаков, соответствующих определённым мутагенным воздействиям. Носителями этого разнообразия являются хемомутанты нашей коллекции. На основе этого разнообразия мы прогнозируем наличие в коллекции многих нужных признаков, и в этом прогнозе мы ни разу не ошиблись. С другой стороны, ещё один прогноз мы строим исходя из специфичности воздействия супермутагеном, касающегося разного соотношения признаков, выражающегося в разных типах мутантов, при воздействии разными мутагенными факторами и разными дозами мутагена [6]. Например, в наших исследованиях наблюдалось следующее: при самых низких (из опробованных нами) оптимальных дозах ЭИ (0,01–0,04%) был самый широкий спектр мутационных изменений (генных мутаций) и мутантных типов растений (до 50-ти и более). Однако в спектре преобладали определённые типы: высокопродуктивные, высокожизнеспособные – адаптивные мутанты с высокими хлебопекарными свойствами, с устойчивостью к мучнистой росе и жёлтой ржавчине, пыльной и твёрдой головне, снежной плесени.

В средних дозах мутагена преобладали мутанты, несущие мутации, определяющие содержание белка в зерне в количестве 15–18%, мутанты с сизым восковым налётом на колосе, листе и солоmine, мутанты с опушенным колосом. Последние признаки являются маркерными для других ценных признаков. Мутационный спектр в вариантах со средними дозами был более узким по сравнению с низкими дозами и соответствовал 10–15 типам мутантов.

В вариантах с самыми высокими дозами ЭИ – 0,09–0,12% (из опробованных) в спектре чаще встречались мутанты, несущие мутации, определяющие неполегаемость и ещё более высокое содержание белка в зерне – до 25%. Мутационный спектр был самым узким и соответство-

вал 4–6 типам мутантов. При выборе мутантов, содержащих эти признаки в вариантах с высокими дозами мутагена, нужно быть готовым к тому, что соответствующие мутанты несут одновременно такие нежелательные признаки, как пониженная жизнеспособность, пониженная фертильность, отсутствие константности [7]. Поэтому мутанты, полученные при действии высоких доз мутагена, но обладающие такими ценными признаками, не могут быть так прямо и непосредственно использованы в селекции как мутанты, полученные при действии низких доз.

*Возможности прогнозирования ценных признаков на основе нерасщепляющихся в M2 мутантных семей*

Этот прогноз проистекает из M2 после обработки семян мутагеном. Наши прежние наблюдения показывают, что при низких дозах мутагена в 6–10% случаев возникают однородные семьи, в которых отсутствует расщепление признаков [8]. Характерная черта этих семей состоит в том, что мутанты – выходцы из этих семей, как правило, несут ценные признаки и их редкие комплексы: высокая стабильная продуктивность, выносливость к неблагоприятным внешним условиям, устойчивость к фитопатогенам, высокие хлебопекарные свойства, высокое содержание белка в зерне, а также комплексы этих признаков, включая новые, не характерные для озимой мягкой пшеницы. В последующих поколениях для мутантов из этих семей характерны также высокая константность и однородность. Эти семьи представляют большую селекционную ценность. Поэтому данный вид прогноза себя вполне оправдывает. Растения из этих семей представляют собой как бы готовые сорта в миниатюре и требуют передачи на Госсортоиспытание и дальнейшего внедрения только для размножения. Они не нуждаются, или почти не нуждаются, в селекционной доработке.

Как можно объяснить этот феномен нерасщепляющихся семей в M2? И.А. Рапорт объяснял это возможным мутокроссинговером в соматических тканях, благодаря которому возникала ранняя гомозиготность в генеративных тканях. Возможно, здесь присутствует переход от гетерозиготного состояния к гомозиготному в результате мутаций генов, находящихся в гетерозиготном состоянии. Но здесь важно и другое: в нашем материале отсутствует расщепление не только внутри отдельных мутантных семей в M2 [8]. Одно-

родными оказываются все семьи M2 – потомства всего растения M1, т.е. химерность, обычно присутствующая в M1, в данном случае отсутствует. Данный феномен можно объяснить или недоразвитием зачатков колосьев в зародыше семени, которое подвергается действию мутагена (обычно таких зачатков бывает около 5), или, если зачатки колосьев развиты, внутрисоматическим отбором, в результате которого остаётся только один зачаток колоса [8]. Во всяком случае, однородность всех семей M2 (семья в генетике – потомство одного колоса), т.е. однородность по мутации (мутациям) всего растения M1, здесь имеет место. Прогноз эффективности мутагена по наличию таких нерасщепляющихся однородных семей и потомств всех колосьев данного мутантного растения M1 в значительной степени ускоряет селекционный процесс и создание новых сортов, учитывая также высокую селекционную ценность этих семей. В этом случае в руках селекционера оказываются семена не с одного мутантного растения с ценным признаком (или с ценными признаками), но семена, представляющие потомство всех колосьев M1, т.е. в руках селекционера вместо 7–10 г семян может быть 200 г и более – до 1 кг семян. Начало размножения ценного материала с такого количества семян значительно ускоряет размножение по сравнению с началом размножения с 7–10 г. Если же на M2 материал посеять разреженно, то при возросшей кустистости количество ценных семян возрастает ещё более.

Таким образом, имеется возможность прогноза получения ценного выигрышного материала по наличию и количеству в M2 нерасщепляющихся однородных мутантных семей, а также однородного потомства всего мутантного растения M1 при отсутствии его химерности и необходимости расхимеривания в M2.

Прогнозирование эффективности мутагенных воздействий возможно по маркерным признакам, которые удаётся установить в процессе исследований и наблюдений.

В наших исследованиях такими признаками были:

опушение колоса у мутантов. Сильное опушение указывало на устойчивость к пыльной и твёрдой головне. Среднее и слабое опушение связано со светлым высокостекловидным зерном и устойчивостью к пыльной и твёрдой головне;

сильный восковой налёт и интенсивно сизая окраска колоса и стебля связаны с устойчивостью к твёрдой головне и засухоустойчивостью;

красная окраска колоса – с устойчивостью к твёрдой головне и выносливостью к комплексу неблагоприятных условий среды.

### Выводы

Прогноз эффективности мутагенных воздействий, основывающийся на химическом мутагенезе, возможен. Он может базироваться на результатах и данных всех представленных здесь исследований:

а) преимущественном избрании в качестве исходного сорта, созданного с использованием метода отдалённой гибридизации, основывающегося на опыте данных исследований;

б) характере кривой M1, где имеется стимуляционно-гетерозисный эффект;

в) специфичности действия разных доз химического мутагена в отношении соотношения разных типов нужных наследственных изменений и учитывая опыт при изучении последующих поколений мутантов, начиная с M3;

г) наличии и количестве однородных нерасщепляющихся мутантных семей в M2 и отсутствии химерности мутантного растения M1;

д) наличии маркерных признаков, связанных с определёнными свойствами мутантов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Эйгес Н.С. Мутагенный эффект разных концентраций этиленimina на озимой пшенице // Генетика. – 1966. – № 3. – С. 131–141.
2. Эйгес Н.С. Коллекция хемомутантов озимой пшеницы // Природа. – М., 1997. – № 1. – С. 26–35.
3. Эйгес Н.С. Изучение мейоза у мутантов озимой пшеницы, полученных при действии этиленimina // Химический мутагенез и создание селекционного материала. – М.: Наука, 1972. – С. 230–243.
4. Эйгес Н.С. Роль генотипа озимой мягкой гексаплоидной пшеницы, созданного на основе отдаленной гибридизации, в индуцированном мутагенезе // Тезисы докладов Международной конференции «Проблемы интродукции растений и отдаленной гибридизации», посвященной памяти Н.В. Цицина. РАН. РАСХН. Совет Ботанических садов России. ГБС. – М., 1998. – С. 508–510.
5. Эйгес Н.С., Блиникова Е.А. Характер мутационной изменчивости у озимой пшеницы под влиянием этиленimina // Генетика. – 1973. – 9, № 3. – С. 14–19.
6. Eiges N.S. The historical role of Iosif Abramovch Rapoport in genetics. Further studies using chemical mutagenesis // Russ. J. of Genet. Appl. Research. – 2013. – 3, № 4. – P. 316–324.
7. Эйгес Н.С., Мартынюк В.В. Жизнеспособность, константность и фертильность мутантов озимой пшеницы, полученных при действии этиленimina // Химический мутагенез и создание селекционного материала. – М.: Наука, 1972. – С. 220–230.
8. Эйгес Н.С. Изучение нерасщепляющихся мутантных семей у озимой пшеницы, полученных при действии этиленimina // Генетика. – 1973. – 9, № 2. – С. 5–8.

### EIGES N.S., VOLCHENKO G.A., VOLCHENKO S.G.

*Federal Budget State Establishment Scientific N.M. Emanuel Institute of biochemical physics,  
Russian Academy of Sciences,*

*Russia, 119334, Moscow, Kosygin str., 4, e-mail: volchenkos@mail.ru*

### STUDY THE POSSIBILITIES OF PROGNOSIS THE EFFECTIVENESS OF MUTAGENIC INFLUENCES ON THE EXAMPLE OF WINTER WHEAT

**Aim.** To establish the possibility of prognosis the effectiveness of mutagenic influences on winter wheat. **Methods.** Chemical mutagenesis. Use of chemical mutagen ethyleneimine on highmutability variety PPG 186. **Results.** The possibility of prognosis the effectiveness of mutagenic influences on the basis of various indicators. **Conclusions.** The indicators found of mutagenic influences: the choice of the initial variety; the nature of the curve of M1 with extrapolation on the M2 and on the next generations; specificity of mutagenic influences; the presence of similar non-scissile (stable) in M2 families without chimeras in M1; in presence of marker signs.

**Keywords:** chemical mutagenesis method, supermutagen ethyleneimine, generations, winter wheat, the efficiency of mutagenesis treatment, prognosis.