

ИССЛЕДОВАНИЕ ЕСТЕСТВЕННОЙ МУТАБИЛЬНОСТИ МУТАНТОВ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ *PISUM SATIVUM* L.

К.К. Сидорова

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: sidorova@bionet.nsc.ru

Изучена естественная мутабельность индуцированных мутантов гороха (*Pisum sativum* L.) М7–М9-поколений по двум критериям – частоте клеток с перестройками хромосом в первых митозах меристематических клеток корешков проростков и по частоте видимых мутаций. Установлен более высокий уровень формообразовательного процесса у мутантных линий. Обсуждаются причины генетической нестабильности мутантов в связи с их генетико-физиологическими особенностями.

Введение

В литературе описано несколько случаев нестабильности мутантных линий, проявляющейся в повышенной частоте естественных мутаций. Так, Р.Л. Берг (1948) в своих исследованиях на *Drosophila melanogaster* отмечала повышенную (примерно в 2 раза) естественную мутабельность мутантных самцов по сравнению с немутантными. А. Назим (Nasim, 1974) наблюдал нестабильность у длительно культивируемых мутантных линий дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*: у двух мутантных линий дрожжей частота спонтанных мутаций была существенно выше по сравнению с нормальной линией.

Я. Тадзима (1977) в опытах с шелкопрядом *Bombyx mori* L. среди потомства мутантной формы «sable», возникшей в результате X-облучения, обнаружил большое разнообразие как в отношении поведения хромосом (расхождения), так и в отношении самого мутантного гена (высокая мутабельность в локусе *Pm1*). Автор наблюдал появление в одном поколении сразу трех и более исключительных фенотипов, принадлежащих к одной и той же группе множественных аллелей. Обнаруженное явление автор объясняет повторным возникновением мутаций на ранних стадиях дробления. На основании полученных данных автор сделал заключение, что нестабильность, введенная в геном какого-то организма, спо-

собна индуцировать в дальнейшем другие типы нестабильности, что и приводит к раннему увеличению генетической изменчивости. Работы по изучению нестабильности мутантов растений нам не известны.

Цель наших исследований заключалась в изучении естественной мутабельности мутантов гороха (*Pisum sativum* L.).

Материалы и методы

В опытах использовали мутанты гороха М7–М9-поколений, индуцированные из сортов Торсдаг и Ползунок воздействием на семена γ -лучами и химическими мутагенами ЭИ и ЭМС. Методика получения мутантов описана ранее (Сидорова, 1981). Проведен генетический анализ мутантов. Все включенные в опыт мутанты имели природу моногенных рецессивных мутаций с плеiotропным эффектом. Мутанты отличались полной пенетрантностью и ярко выраженной экспрессивностью. Каждый мутант и линии, созданные методом отбора нескольких типичных растений из сортов Торсдаг и Ползунок, предварительно изучали на константность до М7–М9-поколений и считали их гомозиготными линиями.

Естественную мутабельность мутантов оценивали по двум критериям: по частоте клеток с перестройками хромосом в первых митозах меристематических клеток корешков проростков и по частоте видимых мутаций.

Результаты исследований и обсуждение

Результаты цитологического анализа, проведенного на 14 мутантах гороха, показали, что у половины из изученных мутантов частота перестроек хромосом достоверно выше по сравнению с исходной формой Торсдаг (табл. 1).

Между типом мутанта и количеством клеток с перестройками хромосом взаимосвязь не прослеживается. Следует, однако, отметить, что

все мутанты с высоким количеством перестроек хромосом отличались низкой или очень низкой продуктивностью.

Во втором опыте у трех мутантов и исходной формы Торсдаг изучали частоту клеток с перестройками хромосом и частоту видимых мутаций (табл. 2 и 3).

По сравнению с исходной формой Торсдаг у двух мутантов – К3 и К10 – частота перестроек хромосом была выше. По частоте видимых

Таблица 1

Частота клеток с перестройками хромосом в первых митозах меристематических клеток корешков проростков у индуцированных мутантов гороха

Морфологическая характеристика мутантов	Число клеток	
	всего проанализировано	с перестройками хромосом, %
Исходная форма Торсдаг (контроль)	1973	0,7 ± 0,19
Ранозацветающий скороспелый, продуктивность нормальная	3171	1,0 ± 0,18
Карлик, междоузлия укорочены, стебель утолщен. Листья и прилистники мелкие. Малопродуктивный	1928	1,0 ± 0,23
Компактный, междоузлия укорочены, стебель утолщен. Листья крупные, цветоносы длинные, толстые, очень позднеспелый и малопродуктивный	1742	1,9 ± 0,33*
Компактный, междоузлия укорочены, стебель упругий. Листочки мелкие. Продуктивность ниже сорта	1432	1,8 ± 0,35*
Хлорофилльный, листья бледно-зеленые с зеленым жилкованием. Продуктивность ниже сорта	1812	1,1 ± 0,24
Хлорофилльный, всходы светло-зеленые, позднее – светло-зеленые со слабым желтоватым оттенком. Продуктивность ниже сорта	1566	1,6 ± 0,32*
Листочки редуцированы в усы. Окраска стеблей и черешков желтая. Продуктивность ниже сорта	1494	0,9 ± 0,24
Компактный, междоузлия укорочены, стебель утолщен. Продуктивность нормальная	3071	1,2 ± 0,19
Компактный, междоузлия укорочены, стебель утолщен. Сильно развиты черешки листьев. Продуктивность ниже сорта	1616	0,7 ± 0,21
Слабооблиственный, междоузлия укорочены. Усы сильно развиты. Бобы уродливой формы. Продуктивность очень низкая	2028	0,6 ± 0,17
Низкорослый с тонким стеблем и укороченными междоузлиями. Листочки мелкие, скрученные. Бобы уродливой формы. Продуктивность очень низкая	2783	2,3 ± 0,28*
Полукарлик. Листочки очень мелкие, позднеспелый. Продуктивность низкая	2847	2,1 ± 0,27*
Ветвящийся карлик, листочки и бобы мелкие. Продуктивность низкая	3563	1,6 ± 0,21*
Хлорофилльный, светло-зеленый с желтым оттенком. Продуктивность ниже сорта	2849	1,5 ± 0,23*

* Разница по сравнению с контролем статистически достоверна.

Таблица 2

Частота клеток с перестройками хромосом в первых митозах меристематических клеток корешков проростков у мутантов гороха

Сорт, мутант	Проанализировано		Клетки с нарушениями хромосом, %	
	корешков	клеток	среднее по циклу	максимальное по циклу
Торсдаг, контроль	81	6343	0,36	0,73
Мутанты:				
К2	60	3886	0,28	0,60
К3	91	5831	0,94*	2,35*
К10	77	2381	1,90*	3,10*

* Разница по сравнению с контролем статистически достоверна.

Таблица 3

Частота видимых мутаций у мутантов гороха

Показатель	Сорт Торсдаг, контроль	Мутанты			
		К2	К3	К10	К169
Число изученных семей в М2	200	200	200	250	150
Число изученных растений в М2	5223	6210	7548	4500	2593
Семьи с хлорофилльными мутантами, %	0	1,5*	3,0*	0,8	1,3*
Семьи с хлорофилльными + морфологическими мутантами, %	0,5	2,5*	3,5*	2,8*	2,0*
Мутантные растения (хлорофилльные), %	0	0,06*	0,18*	0,04	0,27*
Мутантные растения (хлорофилльные + морфологические), %	0,02	0,23*	0,34*	0,24*	0,42*
Число типов мутантов	1	5	6	7	4

* Разница по сравнению с контролем статистически достоверна.

мутаций все мутанты существенно превысили исходную форму.

Аналогичные результаты по частоте видимых мутаций получены в опыте с мутантами, индуцированными из сорта Ползунок (рис. 1).

Таким образом, частота естественных мутаций у многих мутантных линий на порядок величин выше и спектр их шире, чем у исходной формы.

При обсуждении вопроса естественной мутабельности мутантов следует учесть их характерные генетико-физиологические особенности.

Во-первых, у мутантов нарушены коррелятивные связи между отдельными морфологическими признаками. Это объясняется изменением у мутантов спектра плейотропного действия мутантного гена. Большинство мутан-

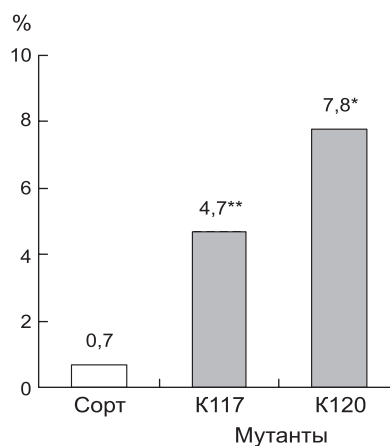


Рис. 1. Частота семей с мутантами (%) у сорта Ползунок и мутантных линий K117 и K120.

тов характеризуются каким-то одним главным, легко различимым признаком, а также еще целым рядом измененных признаков, наследующихся вместе с главным (Найлэн, 1967; Gottschalk, 1968; Сидорова, 1973). В комплекс измененных признаков, как правило, входят признаки, определяющие продуктивность растения: длина стебля, число плодоносящих узлов, размеры листьев, число и размеры бобов и семян, длина вегетационного периода, содержание белка в зерне и др. Число измененных признаков у одного мутанта может быть от 3 до 10 и более (Сидорова, 1981). Согласно А. Мюнтцингу (1967), особенно часто встречается такая плейотропия, при которой гены, определяющие те или иные морфологические признаки, одновременно оказывают влияние на жизнеспособность особи. При этом в большинстве случаев жизнеспособность снижается, лишь в редких случаях плейотропия бывает связана с повышением жизнеспособности.

В этой связи интересно привести пример плейотропного действия мутантного гена, обуславливающего у гороха компактную форму стебля (Першина и др., 1973). Комплекс изменений у данного мутанта сравнительно большой и включает следующие признаки: высота и толщина стебля, длина и ширина цветоносов, размеры листочков, прилистников и бобов. Все вегетативные органы у мутанта имеют утолщенный и укороченный вид. Как показали исследования, у этого мутанта изменена форма клеток. Клетки у мутанта шире и короче по сравнению с исходным сортом Торсдаг. Этим и объясняется укорочение и утолщение вегетативных органов.

Вторая особенность мутантов заключается в том, что у большинства из них изменена гормональная система. Изучение взаимодействия между генной регуляцией роста и гормональной системой у мутантов осуществляется в двух направлениях: 1) изучение реакции мутантного фенотипа на экзогенное введение фитогормонов на растение; 2) анализ эндогенного содержания фитогормонов и ингибиторов роста в растениях исходных форм и мутантных.

Совместно с сотрудниками Института физиологии растений РАН проведена серия экспериментов по указанным двум направлениям с использованием большой коллекции мутантов гороха. Результаты этих исследований позво-

ляют утверждать, что мутации в большинстве своем приводят к нарушению фитогормонального баланса (Кефели и др., 1973; Чайлахян и др., 1977; Холодарь и др., 2001, 2002).

Третья особенность мутанта состоит в том, что у них изменена норма реакции. Обширные исследования по изучению мутантов гороха в разных экологических условиях проведены сотрудниками ИЦиГ СО РАН (Сидорова, 1969, 1981; Сидорова, Ужинцева, 1969; Бободжанов и др., 1970, 1975; Сидорова, Хвостова, 1971; Sidorova, Khvostova, 1972).

Установлена важная закономерность: при изменении условий внешней среды у одного мутанта возможны изменения отдельных признаков, входящих в плейотропный комплекс, в различных направлениях. В определенных условиях выращивания можно наблюдать ослабление или переход в скрытое состояние только некоторых признаков мутанта, в то время как другие признаки плейотропного комплекса остаются ярко выраженными (рис. 2).

Это подтверждают данные В.А. Бободжанова (1973) по изучению коэффициентов корреляции

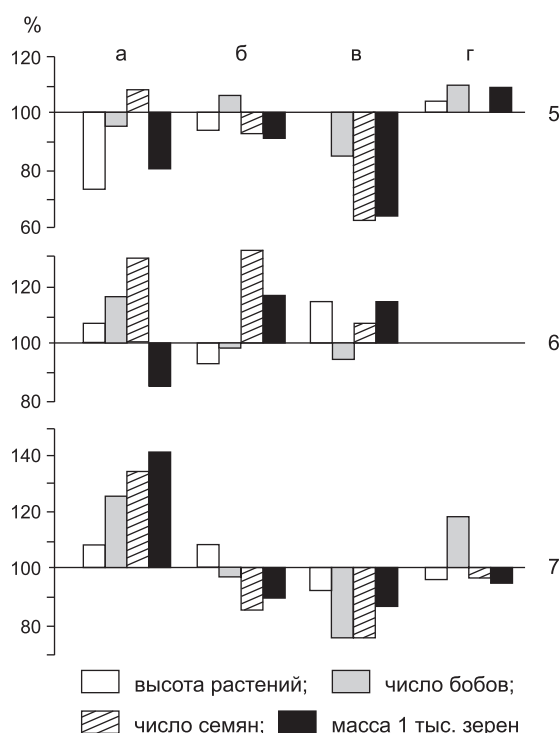


Рис. 2. Признаки продуктивности у мутантов гороха № 5, 6, 7 в Новосибирске (а), Тадж. ССР (б, в, г) соответственно, 800, 1100, 2500 м над уровнем моря, в % к исходному сорту.

между отдельными признаками у мутантов и исходного сорта при выращивании их в разных экологических условиях.

Интересные результаты получены в опытах при изучении чувствительности мутантов к мутагенным факторам. Так, при облучении семян 12 мутантов рентгеновыми лучами (5 kR) отчетливо проявились различия в радиочувствительности мутантов по сравнению с исходной формой Торсдаг. Частота перестроек хромосом в первых митозах меристематических клеток корешков проростков у большинства мутантов (у 9 из 12) существенно превышала таковую исходной формы. Среднее по циклу (по всем срокам фиксации) количество клеток с нарушениями хромосом у исходной формы составило 19,6 %, у 3 мутантов она варьировала от 17,0 до 22,7 %, а у остальных 9 – от 29,6 до 46,8 %.

О чувствительности мутантов к мутагенным факторам также судят по показателям всхожести семян, количеству стерильных растений, продуктивности растений в М1. Результаты исследований, выполненных в этом направлении, подтверждают тот факт, что мутанты в основном более чувствительны к мутагенным факторам по сравнению с исходной формой. Повышенную чувствительность мутантов к мутагенным воздействиям, вероятно, можно объяснить нарушением у них репарационных систем, ответственных за восстановление нарушений в генетическом аппарате, возникающих под воздействием мутагенами.

Повышенный уровень естественной мутабельности у мутантных линий по сравнению с исходной формой можно объяснить следующими причинами.

1. В новой генотипической среде, свойственной мутантному генотипу, могут проявляться те мутации, которые не проявились в генотипической среде, свойственной исходной форме.

2. Повышение частоты естественных мутаций у мутантных линий может быть связано с изменением в новой генотипической среде спектра действия генов-модификаторов. Кроме того, мутации в самих генах-модификаторах оказывают плейотропный эффект на мутабельность других генов.

3. В мутантном генотипе может быть повышена частота вновь возникающих мутаций. Это обусловлено тем, что у мутантов изменены

очень важные регуляторные системы и фенотипически мутанты менее стабильны, чем исходная форма.

Результаты проведенных исследований подтверждают одно из положений эволюционной теории, сформулированное И.И. Шмальгаузен: «Накопление мутаций, разрушающих регуляторный аппарат организма, само способствует дальнейшему возникновению новых мутаций. Мутирование, не ограниченное отбором, автоматически ведет к повышению самой мутабельности» (Шмальгаузен, 1946, С. 91).

Таким образом, отбор мутантных форм автоматически (в силу повышенной мутабельности мутантов) ведет к повышению частоты мутаций и расширению спектра наследственной изменчивости, т. е. к усилению формообразовательного процесса. Подобная форма отбора, приводящая к значительному нарушению процессов онтогенеза, стабилизированных в течение предшествующей эволюции, и к резкому повышению изменчивости и формообразования, была названа Д.К. Беляевым (1972, 1979) дестабилизирующей. Им было высказано также предположение, что дестабилизирующий отбор играет, вероятно, большую роль не только в доместикации животных и растений, но и вообще в процессе эволюции. Результаты исследований, проведенных на мутантах гороха, – одно из подтверждений этого предположения.

Выражаю благодарность Т.М. Мищенко за участие в подготовке статьи к печати.

Литература

- Беляев Д.К. Генетические аспекты доместикации животных // Проблема доместикации животных. М.: Наука, 1972. С. 39–45.
- Беляев Д.К. Дестабилизирующий отбор как фактор изменчивости при доместикации животных // Природа. 1979. № 2. С. 36–45.
- Берг Р.Л. О взаимоотношении между мутабельностью и отбором в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биологии. 1948. Т. 9. № 4. С. 299–313.
- Бободжанов В.А. Эколого-генетическое изучение индуцированных мутантов гороха: Автореф. ... канд. дис. Душанбе: Институт физиологии и биофизики растений АН ТаджССР, 1973. 23 с.
- Бободжанов В.А., Сидорова К.К., Насыров Ю.С.

- Изучение индуцированных мутантов гороха в разных экологических условиях // Изв. АН Тадж. ССР. Отд. биол. наук. 1970. № 2 (39). С. 87–93.
- Бободжанов В.А., Сидорова К.К., Насыров Ю.С. Особенности проявления мутантных признаков в зависимости от воздействия внешних условий // Докл. АН ТаджССР. 1975. Т. 18. № 8. С. 49–51.
- Кефели В.И., Ложникова Е.Н., Хлопенкова Л.И. и др. Активность фитогормонов и природных ингибиторов в мутантах гороха, различающихся по высоте стеблей // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1973. № 5. С. 681–687.
- Мюнтцинг А. Генетика. Общая и прикладная. М.: Мир, 1967. 610 с.
- Найлэн Р.А. Природа индуцированных мутаций у высших растений // Генетика. 1967. Т. 3. № 3. С. 3–22.
- Першина Л.А., Хвостова В.В., Сидорова К.К. Действие мутантного гена на строение и развитие компактного мутанта у гороха (*Pisum sativum* L.) // Онтогенез. 1973. Т. 4. № 6. С. 628–632.
- Сидорова К.К. Экологическое изучение мутантов гороха // Физиология и биохимия сорта. Тр. 3-й конф. физиологов и биохимиков растений Сибири и Дальнего Востока. Ч. 1. Иркутск, 1969. С. 58–61.
- Сидорова К.К. Изучение закономерностей экспериментальной мутационной изменчивости у высших растений на примере *Pisum sativum* L.: Автореф. ... докт. дис. Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО АН СССР, 1973. 43 с.
- Сидорова К.К. Генетика мутантов гороха. Новосибирск: Наука, 1981. 169 с.
- Сидорова К.К., Ужинцева Л.П. Экологическое изучение индуцированных мутантов гороха // Генетика. 1969. Т. 5. № 8. С. 46–51.
- Сидорова К.К., Хвостова В.В. К изучению экологии мутантного гена // Теория химического мутагенеза. М.: Наука, 1971. С. 147–154.
- Тадзима Я. Стабильность и нестабильность генетических систем на примере шелкопряда // Проблемы экспериментальной биологии. М.: Наука, 1977. С. 122–131.
- Холодарь А.В., Сидорова К.К., Шумный В.К. Уровень индолил-3-уксусной кислоты и гиббереллинов в корнях симбиотических мутантов гороха (*Pisum sativum* L.) // Генетика. 2001. Т. 37. № 11. С. 1517–1521.
- Холодарь А.В., Сидорова К.К., Шумный В.К. Влияние синтетического ауксина 2.4-Д на уровень индолил-3-уксусной кислоты у сортов и суперклубеньковых мутантов гороха (*Pisum sativum* L.) // Докл. АН. 2002. Т. 386. № 2. С. 283–285.
- Чайлахян М.Х., Ложникова В.Н., Хлопенкова Л.П. и др. Реакция карликовых мутантов гороха на действие гиббереллина и природных ингибиторов // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1977. № 4. С. 485–494.
- Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. (Теория стабилизирующего отбора). М.; Л.: Акад. наук СССР, 1946. С. 91.
- Gottschalk W. Simultaneous mutation of closely linked genes: A contribution to the interpretation of «pleiotropic» gene action // Mutations in Plant Breeding. II. Vienna: IAEA, 1968. P. 97–109.
- Nasim A. UV-induced replicating instability in *Schizosaccharomyces pombe* // Mutat. Res. 1974. V. 22. № 1. P. 25–31.
- Sidorova K.K., Khvostova V.V. Investigation of the ecology of the mutant gene // Induced Mutant and Plant Improvement. Vienna: IAEA, 1972. P. 277–284.

A STUDY OF NATURAL MUTABILITY IN PLANTS: A CASE OF *PISUM SATIVUM* L.

K.K. Sidorova

The Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: Sidorova@bionet.nsc.ru

Summary

Natural mutability of the induced M7-M9 mutants of pea (*Pisum sativum* L.) was studied by two criteria – frequency of cells with chromosomal aberrations in the first mitoses of radicle meristem cells and frequency of visible mutations. Higher level of natural mutability of mutant lines was established. The reasons of genetic instability of mutants in relation with their genetical-physiological characters are discussed.