

УДК633.11 .575.24 .631.528

ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГАММА-ЛУЧЕЙ НА ХРОМОСОМНЫЙ АППАРАТ КЛЕТКИ НА ПРИМЕРЕ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ

© Н.Н. Назаренко

Ключевые слова: пшеница; мутаген; хромосомные aberrации; спектр; частота.

Данное исследование было проведено для установления характера действия гамма-лучей и взаимосвязи между природой мутагена и хромосомными aberrациями на клеточном уровне. Сухие семена 8 сортов пшеницы мягкой озимой были облучены гамма-лучами в дозах 100, 150, 200, 250 Гр. Исследована частота и спектр хромосомных aberrаций. Установлена взаимосвязь между методом получения сорта, природой мутагена и изменениями на клеточном уровне, выраженная в виде уменьшения частоты aberrаций при действии того же мутагена, что и при создании сорта.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ aberrаций, вызванных воздействием гамма-лучей, является одним из наиболее исследованных и точных методов установления факта разового или хронического воздействия ионизирующего излучения на растение [1–3]. Анализ широко применяется как для установления загрязнения радионуклидами окружающей среды и его уровня, опасности данного загрязнения, так и для установления оптимальных доз радиации при направленной работе с растительным материалом [1; 4–6].

Достоинства метода продолжают оставаться быстрой, объективностью полученных результатов, надежностью и способностью интегрально оценивать влияние самых различных по природе мутагенов [2; 7].

Целью данного исследования являлось выявление возможных последствий воздействия мутагенным фактором на исходный материал, полученный как методами классической, так и мутационной селекции в плане специфичности возникновения хромосомных aberrаций и установление (при обнаружении связи) особенностей влияния повторного действия тем же или качественно иным мутагеном. В отличие от стандартных исследований с повторным действием на тот же растительный материал – в данном случае использовались уже зарегистрированные сорта, что дает возможность оценить именно особенности реакции полученного генотипа, без влияния последствий самого мутагенного воздействия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для облучения использовали сухие семена следующих сортов пшеницы мягкой озимой (далее в скобках метод получения сорта): Фаворитка, Ласуна, Хуртовьяна (облучение исходного материала гамма-лучами), линия 418, Колос Мироновщины (гибридизация), Сонечко (химический мутагенез, НДММ, 0,005 %) и Калинова (химический мутагенез, ДАБ 0,1 %), Волошкова (термомутагенез). Дозы гамма-лучей – 100, 150, 200, 250 Гр.

Цитологический анализ проводили стандартным методом на временных давленных препаратах, окрашенных ацетокармином. Проводили мацерацию тканей 45 % раствором уксусной кислоты [5; 8].

Математическую обработку полученных результатов проводили по методу дисперсионного анализа, достоверность разницы средних оценивали по критерию Стьюдента, группировку по характеру воздействия проводили методом кластерного анализа [9]. Использовали стандартный инструментальный программ Statistic 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя частоты хромосомных aberrаций (табл. 1), можно сделать вывод, что все варианты со статистической достоверностью отличались друг от друга и от контроля.

Для упрощения схемы статистического анализа варианты были разбиты на группы по видам мутагена, и изучалась сначала существенность отличия от контроля варианта с наименьшей дозой мутагена, а потом отличия вариантов внутри группы. Частота хромосомных aberrаций варьировала от 7,06 до 46,23 %. Она была статистически более низкой у сортов, полученных с помощью гамма-лучей, чем у других. Наивысшая частота aberrаций (табл. 1) характерна для сортов, полученных с помощью рекомбинантной селекции без применения гамма-лучей.

Что касается спектра хромосомных aberrаций (табл. 2), то картина неоднозначна, хотя можно отметить, что гамма-облучение вызывает большее количество мостов, нежели фрагментов, но для сортов, полученных с помощью гамма-лучей, эта специфичность существенно меньшая, а иногда отсутствует, особенно при низких дозах.

В общем, при увеличении дозы мутагена специфика действия гамма-лучей становится все менее заметной. Увеличение частот таких aberrаций, как микроядра и отстающие хромосомы, связано исключительно с линейным ростом дозы. Также увеличивается удельный вес комплексных aberrаций. При переходе от дозы 200 Гр. к дозе 250 Гр. нарушается линейная зависимость

Таблица 1

Частота хромосомных aberrаций М₁ пшеницы мягкой озимой

Вариант	Митозы, шт.	Хромосомные aberrации		Митозы, шт.	Хромосомные aberrации	
		шт.	%		шт.	%
		Фаворитка			418	
Контроль	984	19	1,93 ± 0,31	962	11	1,14 ± 0,11
Гамма-лучи, 100 Гр.	1006	71	7,06 ± 0,74*	992	161	16,23 ± 1,14*
Гамма-лучи, 150 Гр.	1004	139	13,85 ± 1,09*	1056	245	23,20 ± 1,19*
Гамма-лучи, 200 Гр.	943	230	24,43 ± 1,53*	747	228	30,52 ± 1,57*
Гамма-лучи, 250 Гр.	466	126	27,06 ± 1,48*	586	247	42,15 ± 1,89*
		Ласуныя			Хуртовина	
Контроль	1056	15	1,42 ± 0,19	1034	12	1,16 ± 0,11
Гамма-лучи, 100 Гр.	979	88	8,99 ± 0,78*	1012	100	9,88 ± 0,89*
Гамма-лучи, 150 Гр.	1012	158	15,62 ± 1,06*	981	147	14,99 ± 1,03*
Гамма-лучи, 200 Гр.	810	198	24,45 ± 1,53*	1011	228	22,56 ± 1,45*
Гамма-лучи, 250 Гр.	399	98	24,56 ± 1,54	742	193	26,01 ± 1,63*
		Сонечко			Волошкова	
Контроль	1026	8	0,78 ± 0,04	1003	31	3,09 ± 0,34
Гамма-лучи, 100 Гр.	1010	194	19,20 ± 1,14*	1000	213	21,30 ± 1,24*
Гамма-лучи, 150 Гр.	1003	288	28,70 ± 1,31*	1007	332	32,97 ± 1,39*
Гамма-лучи, 200 Гр.	888	342	38,51 ± 1,85*	560	266	47,5 ± 1,98*
Гамма-лучи, 250 Гр.	411	190	46,23 ± 2,04*	478	198	41,43 ± 1,81*
		Калинова			Колос Мироновщины	
Контроль	1047	9	0,86 ± 0,11	909	10	1,10 ± 0,13
Гамма-лучи, 100 Гр.	1000	192	19,20 ± 1,14*	1019	179	17,56 ± 1,04*
Гамма-лучи, 150 Гр.	937	269	28,70 ± 1,31*	890	215	24,16 ± 1,23*
Гамма-лучи, 200 Гр.	817	315	38,51 ± 1,85*	738	243	32,93 ± 1,65*
Гамма-лучи, 250 Гр.	459	212	46,19 ± 2,04*	510	196	38,43 ± 1,84*

Примечание: * – статистически достоверно при $t_{0,05}$.

и частично происходит, наоборот, падение частоты перестроек даже до более низкого уровня, чем при предыдущей дозе. Это более характерно для сортов, созданных с помощью гамма-лучей и при термомутагенезе (также для этих сортов характерна большая частота спонтанных перестроек в контроле – следствие меньшей стабильности полученного генотипа).

Специфика генотипа проявляется в разной частоте хромосомных aberrаций при равных дозах гамма-лучей и в разном соотношении мостов и фрагментов. Более низкая частота перестроек при действии дозы в 250 Гр., вероятно, связана с повышенной элиминацией клеток с поврежденным хромосомным аппаратом (что косвенно подтверждается крайне плохой всхожестью и выживанием данного варианта в полевых условиях).

При повышении дозы мутагенов возрастало также количество клеток с двумя и более перестройками. Зависимость при этом в целом линейная.

По результатам трехфакторного анализа (к схеме добавили варианты с химическим мутагенезом, которые здесь не представлены) выявлено, что на частоту хромосомных aberrаций влияет, прежде всего, фактор «доза», потом фактор «генотип», затем фактор «природа мутагена». На изменение спектра aberrаций влияет прежде всего фактор «природа мутагена». При этом прослеживается, что повторное воздействие мутагена той же природы (к примеру, гамма-лучей на сорта, полученные с помощью действия этого мутагенного фактора) приводит к существенному уменьшению частоты перестроек. В целом, общая частота хромосомных

перестроек коррелирует со значением дозы в пределах 0,7–0,8.

По результатам кластерного анализа была выявлена четкая специфика проявления взаимодействия способа получения генотипа и природы мутагенного фактора. Выявлено четыре различные группы сортов: созданные при помощи гамма-лучей Фаворитка, Ласуныя, Хуртовина, созданные при действии химических мутагенов Калинова, Сонечко и созданные с помощью рекомбинантной селекции – Колос Мироновщины, линия 418 и полностью отдельно – сорт Волошкова (термомутагенез). Таким образом, этот метод группировки окончательно подтвердил вывод о том, что влияние мутагенного фактора в значительной степени определяется тем, было ли оказано действие этим фактором на генотип исходного материала, даже при наличии значительного числа поколений с момента получения исходной формы для данного сорта.

ВЫВОДЫ

Частота и (отчасти) спектр хромосомных aberrаций зависят от особенностей получения генотипа объекта и природы мутагена. В случае получения генотипа методом облучения повторное облучение данного генотипа менее эффективно по частоте перестроек, которые косвенно связаны с последующей частотой мутаций [7]. Также при этом происходит размывание специфичности действия данного фактора в спектре перестроек (соотношение мосты – фрагменты). В общем случае

Таблица 2

Спектр хромосомных aberrаций

Вариант	Фрагменты (одинарные + двойные)		Мосты (хромосомные + хроматидные)		Фрагмен- ты / мосты	Другие (микроядра, отстающие хромосомы)		Две и более	
	шт.	%	шт.	%		шт.	%	шт.	%
Фаворитка									
Контроль	4,00	21,05	14,00	73,68	0,29	1,00	5,26	1,00	5,26
Гамма-лучи, 100 Гр.	17,00	23,94	51,00	71,83	0,33	3,00	4,23	5,00	7,04
Гамма-лучи, 150 Гр.	28,00	20,14	101,00	72,66	0,28	10,00	7,19	21,00	15,11
Гамма-лучи, 200 Гр.	67,00	29,13	152,00	66,09	0,44	11,00	4,78	38,00	16,52
Гамма-лучи, 250 Гр.	52,00	41,27	71,00	56,35	0,73	3,00	2,38	34,00	26,98
Линия 418									
Контроль	6,00	54,55	5,00	45,45	1,20	0,00	0,00	2,00	18,18
Гамма-лучи, 100 Гр.	58,00	36,02	101,00	62,73	0,57	2,00	1,24	6,00	3,73
Гамма-лучи, 150 Гр.	81,00	33,06	143,00	58,37	0,57	21,00	8,57	31,00	12,65
Гамма-лучи, 200 Гр.	64,00	28,07	132,00	57,89	0,48	32,00	14,04	38,00	16,67
Гамма-лучи, 250 Гр.	101,00	40,89	132,00	53,44	0,77	14,00	5,67	52,00	21,05
Сорт Ласуны									
Контроль	4,00	26,67	11,00	73,33	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00
Гамма-лучи, 100 Гр.	42,00	47,73	46,00	52,27	0,91	0,00	0,00	8,00	9,09
Гамма-лучи, 150 Гр.	71,00	44,94	79,00	50,00	0,90	8,00	5,06	22,00	13,92
Гамма-лучи, 200 Гр.	82,00	41,41	104,00	52,53	0,79	12,00	6,06	31,00	15,66
Гамма-лучи, 250 Гр.	43,00	43,88	38,00	38,78	1,13	17,00	17,35	41,00	41,84
Сорт Хуртовина									
Контроль	7,00	58,33	5,00	41,67	1,40	0,00	0,00	0,00	0,00
Гамма-лучи, 100 Гр.	43,00	43,00	52,00	52,00	0,83	5,00	5,00	7,00	7,00
Гамма-лучи, 150 Гр.	69,00	46,94	74,00	50,34	0,93	4,00	2,72	14,00	9,52
Гамма-лучи, 200 Гр.	112,00	49,12	114,00	50,00	0,98	2,00	0,88	29,00	12,72
Гамма-лучи, 250 Гр.	101,00	52,33	89,00	46,11	1,13	3,00	1,55	41,00	21,24
Сорт Сонечко									
Контроль	6,00	75,00	2,00	25,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Гамма-лучи, 100 Гр.	53,00	27,32	135,00	69,59	0,39	6,00	3,09	6,00	3,09
Гамма-лучи, 150 Гр	50,00	17,36	209,00	72,57	0,24	29,00	10,07	28,00	9,72
Гамма-лучи, 200 Гр	58,00	16,96	243,00	71,05	0,24	41,00	11,99	43,00	12,57
Гамма-лучи, 250 Гр	48,00	25,26	116,00	61,05	0,41	26,00	13,68	64,00	33,68
Сорт Волошкова									
Контроль	16,00	51,61	13,00	41,94	1,23	2,00	6,45	5,00	16,13
Гамма-лучи, 100 Гр.	101,00	47,42	108,00	50,70	0,94	4,00	1,88	18,00	8,45
Гамма-лучи, 150 Гр	142,00	42,77	174,00	52,41	0,82	16,00	4,82	35,00	10,54
Гамма-лучи, 200 Гр	108,00	40,60	143,00	53,76	0,76	15,00	5,64	67,00	25,19
Гамма-лучи, 250 Гр	47,00	23,74	136,00	68,69	0,35	15,00	7,58	43,00	21,72
Сорт Калинова									
Контроль	2,00	22,22	7,00	77,78	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00
Гамма-лучи, 100 Гр.	80,00	41,67	112,00	58,33	0,71	0,00	0,00	29,00	15,10
Гамма-лучи, 150 Гр	100,00	37,17	164,00	60,97	0,61	5,00	1,86	42,00	15,61
Гамма-лучи, 200 Гр	112,00	35,56	193,00	61,27	0,58	10,00	3,17	64,00	20,32
Гамма-лучи, 250 Гр	81,00	38,21	127,00	59,91	0,64	4,00	1,89	37,00	17,45
Сорт Колос Мироновщины									
Контроль	5,00	50,00	5,00	50,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Гамма-лучи, 100 Гр.	73,00	40,78	101,00	56,42	0,72	5,00	2,79	12,00	6,70
Гамма-лучи, 150 Гр	81,00	37,67	122,00	56,74	0,66	12,00	5,58	18,00	8,37
Гамма-лучи, 200 Гр	92,00	37,86	138,00	56,79	0,67	13,00	5,35	32,00	13,17
Гамма-лучи. 250 Гр	78,00	39,80	116,00	59,18	0,67	2,00	1,02	28,00	14,29

частота также линейно зависит от дозы мутагена, что согласуется с предыдущими исследованиями [4–5].

Для гамма-лучей значительно более характерно в общем случае хромосомная перестройка по типу «мост».

С помощью факторного анализа установлено, что приоритет по факторам следующий – фактор «доза», потом фактор «генотип», затем фактор «природа мутагена».

ЛИТЕРАТУРА

1. Гераськин А.С., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С. Влияние раздельного радиоактивного и химического загрязнения на выход цитогенетических нарушений в интеркалярной меристеме ярового ячменя // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 4. С. 364-368.
2. Дем'яненко В.В., Логвиненко В.Ф., Семерунь Т.Б. Вивчення цитогенетичної активності мутагенних чинників на прикладі озимої пшениці // Физиология и биохимия культурных растений. 2005. Т. 37. № 4. С. 313-318.
3. Lifang W., Zengliang Y. Radiobiological effects of a low-energy ion beam on wheat // Radiat Environ Biophys. 2001. V. 40. P. 53-57.
4. Корогодина В.Л., Пантелеева А., Ганичева И. Влияние мощности дозы гамма-облучения на митоз и адаптивный ответ клеток первичных корней проростков гороха // Радиационная биология. Радиоэкология. 1998. Т. 38. № 5. С. 643-649.
5. Назаренко Н.Н. Частота и спектр хромосомных нарушений в клетках корневой меристемы проростков пшеницы под действием мутагенов // Вісник ХНАУ. Сер.: Біол. 2007. №3. С. 82-89.
6. Adlera I., Carereb A., Eichenlaub-Ritterc U. Gender differences in the induction of chromosomal aberrations and gene mutations in rodent germ cells // Environmental Research. 2004. V. 17. P. 53-59.
7. Manual on mutation breeding / IAEA. Vienna, 1977. P. 87-105; 117-124.
8. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М., 1988. 271 с.
9. Клекка У.Р. Дискриминантный анализ. Факторный, дискриминантный, кластерный анализ. М., 1989. 186 с.

Поступила в редакцию 3 апреля 2015 г.

Nazarenko N.N. SPECIFICS OF GAMMA RAYS ACTION ON THE CHROMOSOMES CELLS AT WINTER WHEAT SAMPLE

This study was carried out to determine gamma rays effect and interaction between mutagen nature and chromosomal aberrations on cells level. Dry seeds of 8 varieties of winter wheat were irradiated by gamma rays in doze 100, 150, 200 and 250 Gr. The frequency and spectra of chromosomal aberration have been investigated. Relationships between method of variety breeding, nature of mutagen factor and changes on cell level have been identified. It expressed as a decrease in the frequency of aberrations by the action of the same mutagen when varieties had been created.

Key words: wheat; mutagen; chromosomal aberrations; spectrum; frequency.

Назаренко Николай Николаевич, Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепропетровск, Украина, кандидат биологических наук, доцент кафедры селекции и семеноводства, e-mail: nik_nazarenko@ukr.net

Nazarenko Nikolai Nikolaevich, Dnepropetrovsk State Agrarian-Economic University, Dnepropetrovsk, Ukraine, Candidate of Biology, Associate Professor of Plant Breeding and Seed Department, e-mail: nik_nazarenko@ukr.net