



В. Б. ЕНКЕН



**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
МУТАГЕНЕЗА
В СЕЛЕКЦИИ
БОБОВЫХ
И ДРУГИХ
КУЛЬТУР**

В. Б. ЕНКЕН,

доктор сельскохозяйственных наук

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗА В СЕЛЕКЦИИ БОБОВЫХ И ДРУГИХ КУЛЬТУР

(Краткое пособие по самоопылителям)



ИЗДАТЕЛЬСТВО «КОЛОС»

Москва — 1967

В последние годы в селекции различных сельскохозяйственных культур во многих странах широко распространился экспериментальный мутагенез как метод, позволяющий изменять признаки и свойства растений и получать новые формы (мутанты) путем воздействия на наследственность растений физическими агентами и химическими веществами.

Работа посвящена применению экспериментального мутагенеза в селекции самоопылителей, преимущественно зернобобовых культур.

В брошюре рассказывается о достигнутых успехах в этой области, о новых мутантных сортах, о том, каким образом мутагены вызывают наследственные изменения в свойствах растений.

Автор описывает способы получения мутантов, особенности посева различных поколений, методы отбора, выделения и селекционного использования мутантов и приводит свою схему селекционного процесса.

Брошюра представляет собой пособие по использованию мутантов в селекции растений-самоопылителей.

Книга рассчитана на селекционеров, биологов, преподавателей и студентов сельскохозяйственных учебных заведений.

Таблиц 12, иллюстраций 10, библиографий 60.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Экспериментальный мутагенез как метод получения наследственно новых форм известен уже около 40 лет. Однако индуцированный мутагенез в селекции некоторые ученые в нашей стране начали использовать только с 1957 г.

За рубежом в последние 10—15 лет успешно развиваются работы в области теории и практического применения экспериментально полученных мутаций в селекции сельскохозяйственных растений. В СССР первые мутантные сорта переданы в государственное сортоиспытание в 1965 г. Многие селекционеры, работающие в самых разных районах нашей страны, начинают применять ионизирующие излучения и химические мутагены для создания новых форм культурных растений. Интерес к экспериментальному мутагенезу как методу получения наследственно измененных форм все время увеличивается.

В настоящей работе мы делаем попытку очень кратко осветить некоторые общие положения, связанные с использованием мутантов, изложить результаты работ некоторых селекционеров и главным образом дать методические и технические рекомендации для получения, выделения, учета и использования индуцированных мутантов в селекции растений-самоопылителей.

В качестве примеров берутся преимущественно зернобобовые культуры, с которыми автор работает много лет. Принципиальных различий в селекционном использовании индуцированных мутантов между колосовыми зерновыми, бобовыми и другими самоопыляющимися растениями нет.

В связи с ограниченным объемом останавливаться на применении индуцированного мутагенеза у перекрестноопыляющихся и вегетативно размножающихся растений мы не имели возможности, хотя методика и техника его использования в селекции их имеет специфиче

ские особенности. По той же причине основное внимание уделяется обработке мутагенами только семян, поскольку это наиболее распространенный и удобный прием.

Экспериментальный мутагенез — перспективный, относительно новый метод создания селекционного материала. В ряде случаев, используя этот метод, можно сократить сроки селекционной работы и облегчить получение желаемых исходных форм. Однако создание с помощью мутагенов многообразных исходных форм не уменьшает ведущего значения гибридизации. Гибридизация и индуцированный мутагенез — это два генетически принципиально разных и дополняющих друг друга метода создания новых форм. Мутанты очень часто используются как материал для гибридизации.

История индуцированного мутагенеза и его использование в селекции

Возможность искусственного получения наследственных изменений у живых организмов под воздействием ионизирующих излучений впервые была открыта на дрожжах советскими учеными Г. А. Надсоном и Г. С. Филипповым в 1925 г. Изменение наследственности под воздействием рентгеновых лучей в 1927 г. было показано на дрозофиле Г. Дж. Мёллером и на кукурузе в 1928 г. Л. Дж. Стадлером. Крупные отечественные селекционеры и генетики — А. А. Сапегин и Л. Н. Делоне в 1928—1934 гг., действуя на пшеницу рентгеновыми лучами, установили, что таким путем можно получить наследственно измененные формы (мутанты) с рядом хозяйственно ценных признаков, таких, как повышенная холодостойкость, засухоустойчивость и др. А. А. Сапегин признавал, что мутанты пшеницы имеют ценность в селекции как исходный материал для непосредственного отбора и гибридизации. Его работу «Рентгеномутации как источник новых сортов сельскохозяйственных растений», опубликованную в 1934 г., Н. П. Дубинин справедливо считает началом рождения селекции растений с использованием мутагенных воздействий.

Одним из первых отечественных ученых, занимавшимся экспериментальным мутагенезом у ярового ячменя и гороха, был А. Н. Лутков. Им написана обстоятельная статья «Мутации и их значение в селекции», опубликованная в капитальном труде «Теоретические основы селекции растений», изданном в 1935 г. под редакцией Н. И. Вавилова.

Селекционную ценность естественных и индуцированных мутантов ярового ячменя на основании своих работ в 1934—1935 гг. отмечал В. И. Дидусь (1938).

В нашей стране четкие положительные результаты по селекционной оценке индуцированных мутантов сои впервые были получены А. К. Лещенко. Воздействуя в 1931 г. рентгеновыми лучами на семена и цветущие ра-

стения сор. сорта Крушуля 9/3, она получила мутанты с самыми разнообразными признаками. Отдельные мутанты в Воронежской области, где был тогда районирован сорт Крушуля 9/3, оказались явно продуктивнее исходного сорта. Урожай их был больше в среднем на 1,7—6,0 ц с 1 га (или на 13—45%), чем у сорта Крушуля 9/3; созревали мутанты одновременно с ним или несколько раньше его и обладали более крупным зерном. К сожалению, по независящим от А. К. Лещенко обстоятельствам весь материал погиб и работу с мутантами она была вынуждена прекратить.

Следует отметить, что за рубежом применение экспериментального мутагенеза в селекции растений распространялось также довольно медленно. Это объяснялось слабой изученностью в то время механизма возникновения мутаций и незнанием условий, способствующих образованию жизнеспособных форм с ценными признаками. Крупный американский ученый Л. Стадлер, работая с индуцированными мутациями ячменя и кукурузы, получал с помощью рентгеновых лучей маложизненные формы. В 1928 г. он писал, что этот метод не представляет интереса для селекции.

В те же годы и шведские селекционеры, за исключением Н. Нильсона-Эле, относились скептически к индуцированному мутагенезу как методу создания ценных форм.

И только позднее в ряде стран работы, проведенные на горохе, ячмене, яровой пшенице, помидорах, фасоли, арахисе и других растениях, показали, что индуцированные мутации можно успешно использовать в селекции. Уже в 1954 г., обобщая итоги работ шведских ученых, применявших ионизирующие излучения в селекции, ведущий специалист страны А. Густафссон вместе с О. Тединым писал, что скептицизм Л. Стадлера, высказанный в его ранних работах, и сомнения некоторых других ученых были необоснованными. Авторы указали, что в Швеции среди индуцированных мутантов выделяются формы, отличающиеся повышенной продуктивностью, раннеспелостью, устойчивостью к болезням, увеличенным содержанием белка в семенах и другими полезными признаками.

Примером создания высокопродуктивного сорта путем непосредственного отбора крупных мутаций может быть сорт гороха Строл, который ежегодно значительно

превосходит по урожаю исходный сорт Клостер (Мюнтцинг, 1963).

За последние 5—10 лет интерес к теоретическим аспектам и использованию экспериментального мутагенеза в селекции растений повсеместно усилился. Это, в частности, хорошо видно на примере работ чехословацких ученых. Недавно около Брно было создано гамма-поле, которым могут пользоваться все селекционеры страны. В Ступице с 1961 г. работает специальная сельскохозяйственная опытная станция в области методики получения и практического применения индуцированных мутантов. Исследования ведутся с большим набором культур. Уже в 1965 г. на этой станции значительное количество мутантов проходило различные стадии селекционного процесса. В 1966 г. чешские ученые провели в Праге интересную конференцию, посвященную использованию индуцированного мутагенеза в селекции растений.

Многие страны уже ряд лет применяют экспериментальный мутагенез в селекции различных культур. Количество мутантных сортов, выращиваемых в производстве, быстро растет. К 1960 г. их было 7, к 1963 г. стало 13, а в 1966 г. на полях Швеции, ФРГ, ГДР, Чехословакии, Венгрии, Австрии, Индии, Японии и некоторых других стран уже возделывали 27 сортов (табл. 1).

Больше всего сортов, имеющих производственное значение, получено у ярового ячменя и зернобобовых культур. Эти сорта созданы при помощи ионизирующих излучений, поскольку химические мутагены стали использоваться в селекционной практике несколько позднее.

Многие опытные учреждения у нас и в других странах имеют перспективные мутанты и их гибридные формы. Они проходят сейчас различные стадии испытаний. Такие мутанты, помимо культур, указанных в таблице 1, созданы также у кукурузы, сорго, льна, люпина, сои, хлопчатника, вики, клевера, могоара, джута, табака и некоторых плодовых и декоративных растений.

К опытным учреждениям СССР, которые первыми (1957—1958 гг.) начали использовать индуцированные мутанты для целей селекции, можно отнести лишь немногие. Это Научно-исследовательский институт сельского хозяйства центральных районов нечерноземной зоны (Московская область), где в лаборатории пшенично-пырейных гибридов Г. Д. Лалченко с участием

**Сорта, полученные путем воздействия радиации
и возделываемые в производстве***

Культура	Сорт	Страна	Год
Яровой ячмень	Паллас	Швеция	1958
"	Мори	"	1961
"	Вена	Австрия	1959
"	Аллаш	ФРГ	1964
"	Импинала	Нидерланды	1964
"	Диамант	Чехословакия	1965
"	Ячмень Найлэна	США	1966
"	—	Япония**	1966
Озимый ячмень	Ютта	ГДР	1960
"	Пеннрад	США	1963
Овес	Флорад	"	1960
"	Алламо-Х	"	1961
"	Флорида-500	"	1965
Яровая пшеница	Пуса Сонора	Индия	1964
"	NR 836	"	1964
Рис	G-24	"	1964
"	—	Япония**	1965
Фасоль	Шеферс-Универсал	ФРГ	1950
"	Саннлак	США	1957
"	Спуэй	"	1960
"	Гретнот	"	1963
Горох	Строл	Швеция	1957
Соя	—	Япония**	1965
Горчица	Примекс	Швеция	1950
Рапс	Регия	"	1953
Арахис	NC4X	США	1959
Помидоры	Синга	"	1960

* Список составлен В. В. Хвостовой.

** Название сорта неизвестно.

сотрудников Института биофизики Академии наук СССР уже с 1957 г. проводит интересные работы, связанные с использованием индуцированного мутагенеза у пшенично-пырейных гибридов и сортов озимой пшеницы. Сейчас они располагают рядом хозяйственно ценных мутантных форм. В лаборатории зернобобовых этого института А. Г. Быковцем и А. Г. Дебелым созданы мутантные формы гороха, созревающие раньше исходных сортов и превышающие их по продуктивности. В Институте цитологии и генетики Сибирского отделения Академии наук СССР, где первым организатором и ру-

ководителем работ долго был П. К. Шкварников, помимо сортов, переданных в государственное испытание (авторы П. К. Шкварников, М. И. Кулик, Е. А. Соломко), имеются перспективные мутанты яровой пшеницы, помидоров, картофеля, гороха и сои.

Грузинская селекционно-опытная станция ведет работы с соей и фасолью. Получен ряд перспективных мутантов и гибридов между ними. Два мутантных сорта С. Г. Тедорадзе находятся в государственном испытании.

Украинский научно-исследовательский институт земледелия успешно ведет работы с кормовым люпином. Здесь В. И. Головченко уже создал три сорта, испытывающиеся на сортоучастках.

Институт генетики и физиологии Академии наук Узбекской ССР в Ташкенте в результате работ Ш. И. Ибрагимова, Р. И. Ковальчук и П. Пайзиева располагает хозяйственно ценными мутантами хлопчатника. Мутант № 1 по ряду признаков превзошел исходный сорт. В 1966 г. его испытывали на 11 участках госсортсети и в 1967 г. размножали в двух элитных хозяйствах на площади 150 га.

В Башкирском научно-исследовательском институте сельского хозяйства положительных результатов в области экспериментального мутагенеза у гороха достиг В. В. Хангильдин.

Научно-исследовательский институт овощного хозяйства (Московская область) располагает мутантами гороха и помидоров, превосходящими исходные сорта по урожайности и некоторым другим хозяйственно важным признакам (Квасников и Долгих, 1966).

На Кубанской опытной станции Всесоюзного института растениеводства из сорта сои Кубанская 276 нами было получено несколько мутантов, урожайность которых повышена вследствие увеличения числа бобов в кисти. Эти мутанты сейчас испытываются в трех пунктах страны.

В 1966 г. государственные испытания проходили семь сортов, созданных разными учреждениями путем отбора мутантов, возникших в результате воздействия ионизирующими излучениями (табл. 2).

Нет сомнений в том, что в ближайшие годы на сортоучастках появятся новые отечественные сорта, в создании которых были использованы индуцированные мутанты или их гибриды.

**Первые советские мутантные сорта, переданные
в государственное сортоиспытание в 1965-1966 г.**

Культура	Сорт	По каким признакам превосходит исходный сорт	В каком учреждении выведен
Соя	Универсал 1	Продуктивность, раннее созревание, повышенное содержание белка	Грузинская селекционно-опытная станция
асоль	Сапарке 75	Урожай зеленых бобов, химический состав, кустовая форма	То же
Хормовой люпин	Мутант 486	Продуктивность по зеленой массе и зерну	Украинский научно-исследовательский институт земледелия
о же	Киевский мутант	Продуктивность, по зеленой массе и зерну	То же
Хлопчатник	Мутант 1	Урожайность, длина волокна и его выход	Институт генетики и физиологии Академии наук Узбекской ССР
Помидоры	Луч 1	Раннеспелость, хорошие вкусовые качества плодов	Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Академии наук СССР
Картофель	Рентгеновский ранний	Раннеспелость, выравненность клубней, повышенное содержание крахмала	То же

Материальные основы наследственности и некоторые генетические понятия

Строение хромосом и ДНК. Исследования с помощью электронной микроскопии позволили установить сложнейшее строение клетки и образований, находящихся в цитоплазме. В ядре клетки имеются хромосомы, являю-

щиеся матеральными по-
сителями наследственно-
сти (рис. 1). Они претер-
певают циклы спирализа-
ции-деспирализации и хо-
рошо видны в определен-
ные периоды деления кле-
ток. Хромосомы различны
по форме и по своей фи-
зико-химической структу-
ре дифференцированы по
длине. Для каждого вида
организмов число и мор-
фология хромосом строго
постоянны. Причем в та-
ком наборе хромосом

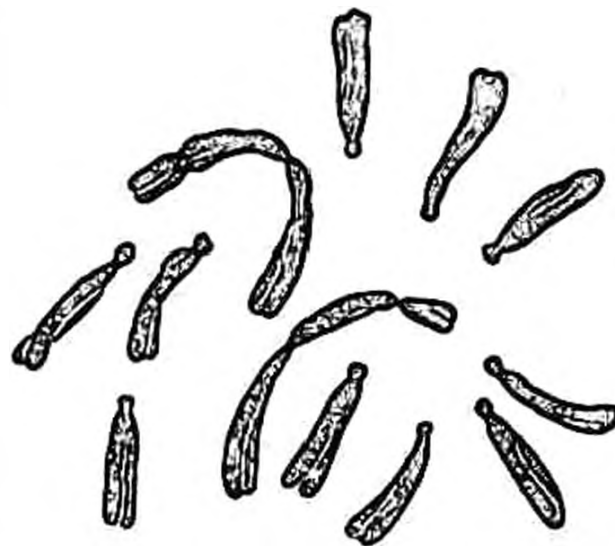


Рис. 1. Хромосомы конских бобов. Всего их 12. (По К. Д. Дарлинг-
тону и А. П. Вилли, 1955 г.).

одна половина их произошла от материнского органи-
зма, вторая — от отцовского. Сходные отцовская и мате-
ринская хромосомы называются гомологичными, а вся группа хромосом каждого из родителей гапло-
идным набором. Построены они в основном из нуклеи-
новых кислот и белков.

Наследственная информация сосредоточена в гигант-
ских молекулах дезоксирибонуклеиновой кислоты — ДНК. Функции переноса генетической информа-
ции от ядерной ДНК к цитоплазме, к ее структурным
органеллам выполняются рибонуклеиновой кис-
лотой — РНК.

Молекулы ДНК состоят из белков — нуклеотидов.
Каждый из них построен из трех частей: фосфорной
кислоты, углевода и азотистых оснований (аденин, ти-
мин, гуанин, цитозин). Фосфорная группа в молекулах
ДНК и РНК всех живых организмов одинакова. Для
ДНК свойствен углевод, точнее сахар дезоксирибоза,
для РНК — рибоза.

Как показали в 1953 г. американский ученый Уотсон
и английский Крик, молекулы ДНК представляют собой
две скрученных, подобно шнурку, нити, которые состоят
из многих тысяч скрепленных между собой нуклеотидов.
Каркас построен из фосфорной кислоты и сахара дезок-
сирибозы, от которого отходит азотистое основание.
С помощью водородных связей основания одной нити
ДНК связаны с основаниями второй спиральной нити
(рис. 2).

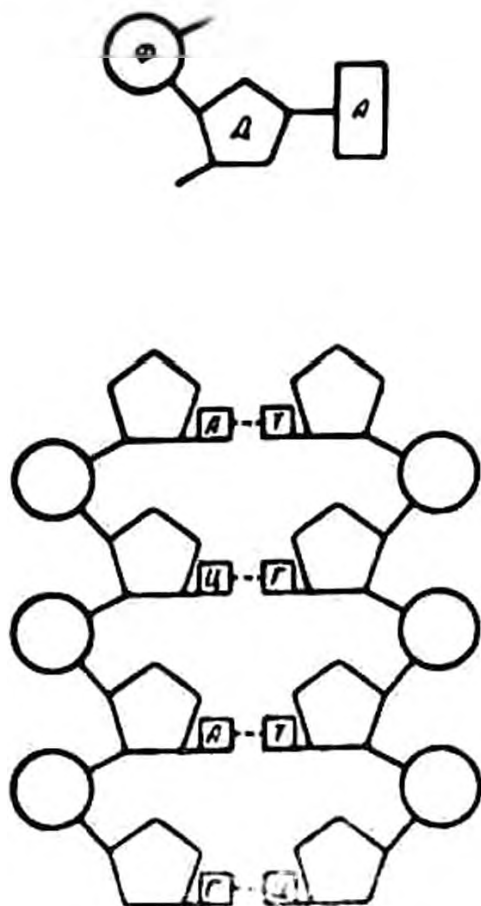


Рис. 2. Строение ДНК и фрагмент нуклеотида (вверху).

Азотистых оснований пять: аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц), тимин (Т) и урацил (У). Тимин свойствен только ДНК, а урацил — РНК. В зависимости от входящих в ДНК и РНК пар указанных оснований существуют пять типов нуклеотидов.

Сочетания азотистых оснований не случайны. Они всегда в противоположных нитях образуют пары. Аденин связан с тиминном, гуанин — с цитонном. Специфичность молекул ДНК, вся заключенная в ней наследственная информация, обуславливается именно последовательностью, порядком сочетаний пар указанных оснований. Таких сочетаний может быть 64. Это число превышает известный набор аминокислот, встречающихся в природе, которых всего 20. Бесконечное сочетание троек

по длине молекулы ДНК обеспечивает неисчислимо многообразие генетически управляющихся систем, подобно тому, как комбинация двух телеграфных знаков позволяет написать любое слово, фразу и большой текст. Изменение в комбинации пар азотистых оснований через сложнейшую цепь биохимических процессов приводит к появлению новых признаков живых организмов.

Понятие о гене. В современном представлении под геном понимаются мельчайшие участки — локусы хромосом, которые оказывают специфическое влияние на развитие отдельных признаков организма. Гены являются носителями информации, они управляют развитием всех морфологических и биологических признаков организмов. Химическая структура генов весьма устойчива и передается из поколения в поколение. Однако под влиянием факторов внешней и внутренней среды состояние генов может изменяться. Гены, как и хромосомы, у диплоидных организмов расположены попар-

но. При оплодотворении один ген приобретается от отца, другой от матери. Для каждого вида растительных и других организмов распределение генов в хромосомах точно зафиксировано.

Гены, влияющие на развитие одного и того же признака (иногда по-разному) и расположенные в идентичных точках гомологичных хромосом, называются аллельными. Каждая хромосома содержит один из аллельных генов или один аллель, ответственный за определенное проявление признака. Ген может быть представлен серией аллелей, но у одного диплоидного организма их не бывает больше двух. Примером двух аллелей является красная и белая окраска цветков у гороха, сои и некоторых других растений. В результате мутирования среди растений красноцветковой формы, у которой и в отцовской и в материнской хромосоме гены определяют только этот признак, может появиться растение с белым цветком. Это пример мутирования по одному рецессивному признаку. Аллельные гены могут мутировать больше, чем в два состояния. При этом образуется серия множественных аллельных генов. Каждый из членов серии множественных аллелей, видимо, имеет свойственную ему частоту мутирования. Если химическая структура аллельных генов одинакова, то организм по этому признаку гомозиготен, а если разная — то гетерозиготен.

При половом размножении гены воспроизводятся и рекомбинируются, т. е. перегруппировываются, при образовании гамет у гибридов, что ведет к новым сочетаниям признаков в потомстве.

Очень часто один ген влияет одновременно на развитие ряда признаков. Такое действие гена называется **плейотропным**. Плейотропия имеет большое значение в селекционной работе, так как один и тот же ген может сказаться на положительных и отрицательных признаках.

Один из мутантов сорта ярового ячменя Бонус отличался от исходной формы коротким, плотным колосом с длинным первым междоузлием. Оба эти признака контролировались одним геном. У декоративного растения водосбора имеется ген, который обуславливает развитие столь различных признаков, как красная окраска лепестков цветка, наличие антоциана в листьях, удлинённый стебель, увеличенный вес семян, прозрачность

семенной оболочки и темная окраска эндосперма. Приводя эту иллюстрацию плейотропного действия генов, А. Мюнтцинг (1963) отмечает, что часто наблюдаются факты, когда один ген, влияя на различные внешние признаки, одновременно снижает жизнеспособность растения.

Значительно реже мутантный ген с плейотропным действием повышает жизнеспособность.

Высота растений, размер семян, содержание белка и другие количественные признаки обычно зависят от ряда генов. Такие гены называются полимерными, а признаки — полигенными.

Признаки комбинируются независимо при гибридизации, когда гены, которые влияют на развитие этих признаков, находятся в разных хромосомах. Если же гены располагаются рядом или близко в одной хромосоме, то их признаки наследуются сцепленно. Это нередко мешает использовать в селекции формы, у которых нужные положительные признаки сцеплены с отрицательными.

Еще Г. Мендель в 1865 г. установил два состояния признаков: доминантное и рецессивное. Признак будет доминантен, когда он проявляется в гетерозиготном организме и оказывает подавляющее влияние на проявление соответствующего рецессивного признака.

Следовательно, если признак рецессивен, то внешне в фенотипе он не проявляется до тех пор, пока гены, которые его обуславливают, не будут находиться в обоих гомологичных хромосомах. Примером доминантных признаков являются у пшеницы безостость, у ячменя развитие фурок вместо остей, у фасоли и сои — красная окраска цветка. Соответственно рецессивными будут остистость или белая окраска венчика.

Доминантность бывает полной, если проявление рецессивного признака подавляется целиком, и не полной, когда выражение признака у гетерозиготной формы в той или иной степени является промежуточным. Это отчетливо видно в первом поколении гибридов, когда в скрещивании участвуют гомозиготные родители с доминантными и рецессивными признаками.

Генотип и фенотип. Вся сумма генов организма, его генетическая конституция, то есть вся совокупность наследственных особенностей, полученных от родителей,

представляет собой генотип растений. Генотип — это сложная система всех воспроизводящих компонентов клетки, заключенных главным образом в ядре. Наследуется не признак, как таковой, а определенные возможности проявления генотипа, его норма реакции на условия внешней среды. Каждому генотипу свойственна специфическая, присущая именно ему, норма реакции, то есть определенный размах и границы наследственной модификационной изменчивости. Весь комплекс морфологических и физиологических признаков, степень их выражения в разные периоды роста — это фенотип растений. Его проявление обусловливается результатом взаимодействий генотипических особенностей растительной формы с разными факторами внешней среды. Можно сказать, что генотип — это наследственная основа организма, реализуемая через цепь сложнейших биохимических реакций в фенотипе, то есть в многообразии различных признаков.

Возможности модификационной изменчивости тех или иных признаков растений у одной формы или одинаковых признаков у генетически разных форм варьируют очень сильно.

Изменение генотипа при гибридизации и мутагенезе. При скрещивании и мутагенных воздействиях у растений могут появляться одни и те же признаки. Отличить по фенотипу мутант от гибрида часто бывает очень трудно, даже невозможно. Но генетическая природа этих признаков, изменения, происходящие в генотипе, совершенно различны. Когда мы скрещиваем два сорта, то, как известно, соединяются гаплоидные наборы гомологичных хромосом родительских форм. При этом происходит рекомбинация генов, их перегруппировка при образовании гамет у гибридов. Это приводит в потомстве к новым сочетаниям признаков. Каждый селекционер знает, что получение гибридного сорта — процесс весьма длительный, так как нужное сочетание хозяйственно ценных признаков в гомозиготном состоянии возникает обычно весьма редко. При скрещивании плеiotропно действующие гены иногда обуславливают совместное появление и положительных и отрицательных свойств. То же наблюдается при сцеплении генов, находящихся в одной хромосоме, если один ген вызывает положительный эффект, а сцепленный с ним другой ген — отрицательный.

Мутации возникают вследствие химических изменений в генах или различных структурных нарушений в хромосомах. Есть данные, показывающие, что большинство мутаций, вызванных ионизирующим излучением, связано с хромосомными перестройками — аберрациями. После того, как было установлено строение ДНК, под мутациями генов стали понимать изменение в количестве, строении и расположении нуклеотидов. Общее разнообразие мутаций зависит главным образом от молекулярных перестроек. В итоге появляются наследственно новые формы-мутанты, у которых могут изменяться любые свойства и они становятся хуже, что бывает чаще, или лучше, чем у исходного сорта.

В результате мутирования может быть нарушено плейотропное наследование признаков или сцепление между генами. Это имеет большое положительное значение, так как нарушается связь между положительными и отрицательными признаками.

Под воздействием химических и физических мутагенов у растений могут возникать внехромосомные мутации преимущественно пластидного типа. В последние годы, помимо хромосом, ДНК обнаружена в пластидах и митохондриях клеток.

Экспериментальный мутагенез как метод селекции

Естественный, или спонтанный, мутационный процесс в природе, как известно, идет непрерывно. Возникающие мутанты и их гибриды являются исходным материалом для естественного отбора, они — основа эволюции. Спонтанные мутации для существования вида или другого таксона могут быть вредными, безразличными или полезными. Многие сорта создавались путем прямого отбора естественных жизнеспособных мутантов. Например, так был получен первый безалкалоидный сорт люпина.

Обычно экспериментальные мутации плейотропны, они обладают комплексом измененных признаков. Многие мутанты характеризуются каким-нибудь одним главным измененным признаком, которому сопутствуют другие.

Частота встречаемости индуцированных мутаций. Рядом исследований показано, что в общем эксперимен-

тально получаемые мутанты качественно не отличаются от естественных. Вместе с тем в эксперименте наблюдается очень сильное увеличение частоты возникновения мутаций. По разным данным, индуцированные мутации возникают в 10—100 и более раз чаще, чем естественные. На частоту возникновения экспериментальных мутаций сильно влияют степень мутабельности сорта, эффективность мутагена, его дозы или концентрации, а также условия внешней среды. Можно считать, что в зависимости от указанных факторов во втором поколении насчитывается 0,2—7% и более мутантных растений от общего числа их в этом поколении. Семей, содержащих один и более мутантов, бывает 6—40%. Реже количество их увеличивается до 60—80%. При воздействии весьма активными химическими мутагенами число семей с мутантами может достигать даже 100%.

Среди общего количества мутантов формы, превосходящие исходные сорта по нужным признакам, встречаются гораздо реже. Однако высказывание Г. Штуббе (1966) о том, что только очень малая доза экспериментально полученных мутантов пригодна для селекции, верно лишь относительно.

В многочисленных опытах лаборатории экспериментального мутагенеза Института цитологии и генетики Сибирского отделения Академии наук СССР при воздействии на разные сорта яровой пшеницы различными видами излучений и этиленимином семей, содержащих мутанты, было в разных вариантах от 6,4 до 37%, и в том числе с улучшенными отдельными признаками — 1,9—15,6% (Шкварников, 1966) *.

К группе практически ценных следует причислить мутанты, которые превосходят исходные сорта по отдельным или нескольким хозяйственно полезным признакам. К ним можно отнести: скороспелость, повышенную устойчивость к болезням, полеганию, неблагоприятным условиям климата, крупносемянность, увеличенное число бобов в кисти или зерен в колосе.

* Если в тексте нет ссылки на источник, то это значит, что приведенные цифровые данные были получены в Институте цитологии и генетики Сибирского отделения Академии наук СССР научными сотрудниками лаборатории генетических основ селекции растений: К. К. Сидоровой по гороху, И. И. Герасименко по сое, Р. И. Гриценко по яровому ячменю и В. И. Молиным по яровой пшенице.

улучшенные технологические качества зерна (развариваемость, увеличенное содержание белка или масла, улучшенная клейковина) и др.

В конечном счете, так же как и при гибридизации, селекционеры отбирают лишь единичные лучшие мутанты для скрещивания или испытаний.

Крупные и малые мутации. Все мутации по фенотипическому проявлению можно разделить на крупные и малые. Это деление не всегда связано с особенностями и степенью изменения наследственного вещества.

Между крупными и малыми мутациями нельзя установить четких ни генетических, ни фенотипических границ. Распределение мутаций, как и всякая группировка, определяется субъективным подходом и методом выделения.

К группе крупных мутаций практически относят формы с хорошо выраженными измененными признаками. Их обычно выделяют во втором поколении по отдельным растениям, явно отличающимся от общей массы растений исходного сорта следующими признаками: периодом вегетации, размером и формой листьев, стеблей, бобов, колосьев, строением куста, высотой, устойчивостью к болезням и т. д. Часто именно такие жизнеспособные мутанты с улучшенными хозяйственно ценными признаками используют селекционеры путем отбора. Но надо отметить, что крупные мутации, превышающие по урожаю исходные формы, встречаются весьма редко, поскольку у них обычно нарушен генный баланс.

В последнее время крупные мутации с ценными свойствами широко используют в скрещиваниях.

Среди крупных мутаций иногда встречаются формы с признаками, не свойственными данному виду. Например, в нашей лаборатории получен вполне жизнеспособный продуктивный мутант сои, имеющий в листе 5—9 листочков вместо трех, характерных для культурной сои (рис. 3).

К группе малых мутаций причисляют растения, отличающиеся от исходных сортов весьма небольшими наследственными изменениями. Их трудно заметить на отдельных растениях. Такие мутанты могут быть выделены, как правило, только по целой семье, часто с применением различных методов учета в поле или лаборатории. Малые мутации обычно незначительно изменяют

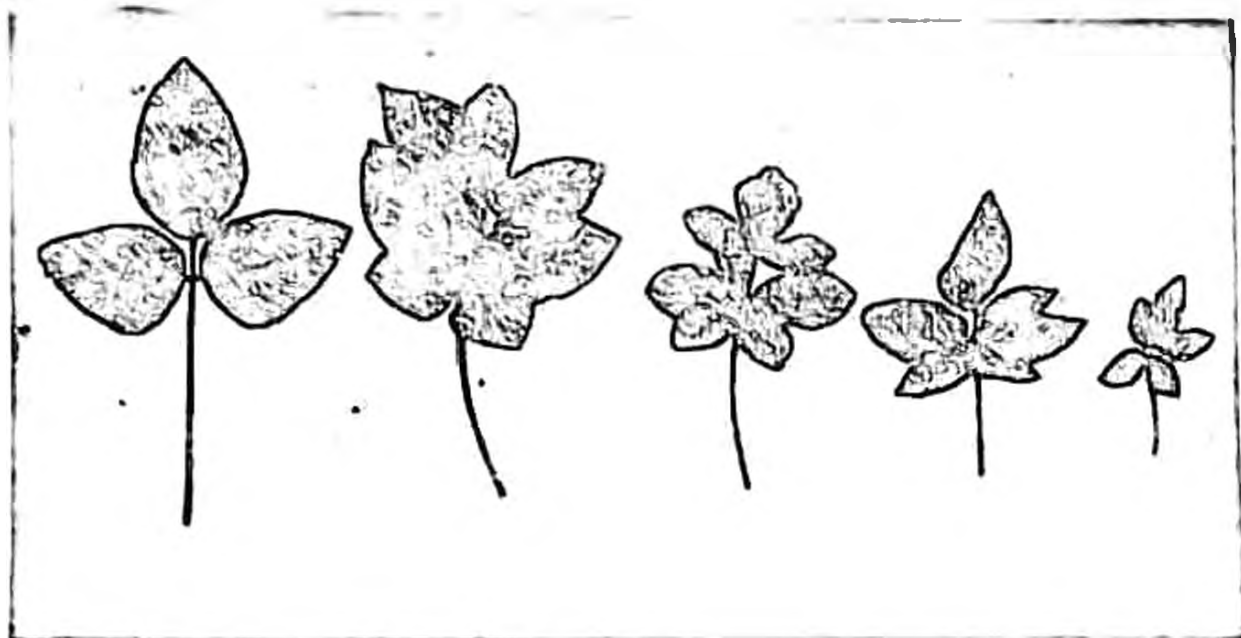


Рис. 3. Крупная мутация сои. Вместо трех листочков в листе, свойственных сое, мутант имеет от 5 до 9 листочков:
слева—лист исходного сорта Кубанская 276; остальные листья мутанта (ориг.).

количественные и, в частности, хозяйственно ценные признаки. Например, несколько укрупнены семена, незначительно увеличено число семян на растении, изменена толщина или прочность стебля, а также содержание или качество различных полезных веществ.

Впервые значение малых мутаций и их относительно широкое распространение было установлено Э. Бауром еще в 1924 г. Ряд ученых считают, что эволюция основана главным образом на малых мутациях.

Если среди крупных мутаций много слабо или совсем нежизнеспособных форм, то среди малых чаще встречаются формы с хорошей жизнеспособностью и повышенной продуктивностью. Возникают они в большем числе случаев, чем крупные.

Крупные мутации обычно привлекали для непосредственного отбора форм, превосходящих исходные сорта по тем или иным признакам. Именно так было получено за рубежом большинство сортов, внедренных в производство, а у нас переданных в государственное испытание. Но ориентироваться на отбор только крупных мутаций было бы неправильно.

Исследования последних лет показывают, что в селекции перспективны малые мутации. Справедливо указал Х. Гауль (1965), что, чем сильнее изменяются растения в результате мутации, тем больше вероятность

снижения их жизнеспособности. И наоборот, чем слабее выражена мутация в свойствах и признаках, тем вероятнее получение форм с хорошей или повышенной жизнеспособностью. На основании опытов, проведенных в ФРГ с колосовыми культурами, этот ученый приходит к выводу, что можно отобрать малые мутации, превышающие исходные сорта по урожаю на 5%. Надо полагать, что на других культурах и сортах при иных мутациях, условиях среды и большем объеме работ указанная цифра будет заметно повышена.

Внутри линий, выделенных по крупным мутациям, нередко идет расщепление форм по малым мутациям с полезными признаками. Например, В. С. Можяевой (1966) внутри мутантных линий озимой пшеницы Эрек-тонд 72, появившейся в результате крупной мутации, были отобраны новые линии с большей продуктивностью (урожай зерна — 100—147% от контроля), зимостойкостью и лучшим качеством зерна. Отсюда она делает вывод, что индивидуальный отбор внутри мутантных линий в ряде случаев дает возможность получить более ценные формы, чем первоначально выделенные мутанты и исходный сорт. То же мы наблюдали на мутантах сои и яровой пшеницы.

Применение мутантов для гибридизации. В последние годы мутанты все шире используются для гибридизации. Скрещивание мутантов, обладающих нужными признаками, между собой, а также с исходными или другими сортами — это перспективный путь получения гибридных популяций для последующего отбора желаемых форм.

Плотноколосые, голозерные и раннеспелые мутанты ярового ячменя в опытах Ф. Шольца (ГДР) дали гибриды, превосходящие по урожаю родительские формы. В Чехословакии Я. Лекеш показывал нам в 1965 г. свои мутанты ярового ячменя, полученные из распространенного раннеспелого пивоваренного сорта Валтички с исключительно прочной соломиной, а из сорта Словенский 802 — устойчивые к некоторым расам мучнистой росы и сохранившие высокие пивоваренные свойства. Естественно, что скрещивание этих мутантов между собой и с исходными сортами представляет большой практический интерес.

В. С. Можяева (1966) получила гибриды озимой пшеницы между продуктивным мутантом спельтоидно-

го типа, устойчивым к основным грибным болезням, с исходным сортом Пшенично-пырейный гибрид 186. Среди них были отобраны формы с пшеничным типом колоса, улучшенным зерном и значительно меньшим поражением твердой головней. В другом ее скрещивании того же исходного сорта с прочносоломистым мутантом выщепились продуктивные гибриды, весьма устойчивые к полеганию.

Межмутантные гибриды фасоли, существенно превышавшие по урожаю родительские формы, получил С. Г. Тедорадзе (1966). Скрестив лучшие мутанты сорта сон Имеретинская, он вывел после отбора в течение четырех поколений сорт Чудо Грузии 74, превосходящий исходный сорт по урожаю, крупности семян и другим свойствам.

Когда мутант обладает хозяйственно ценными признаками, то эти признаки легче ввести в исходный сорт без сложных расщеплений, так как генотипы сорта и мутанта родственны. Скрещивание мутантов яровой пшеницы из сорта Новосибирская 7 в опытах, проведенных И. В. Черным, в большинстве случаев давало несложное расщепление.

Среди гибридов появились формы, сочетавшие такие признаки родителей, как раннеспелость и высокую устойчивость к полеганию, или устойчивость к полеганию с хорошими хлебопекарными качествами, раннеспелостью и урожайностью. Вместе с тем в комбинации, где родительскими формами являлись мутанты, выделенные из разных сортов, наблюдалось сложное расщепление (Шкварников, 1966). Можно сказать, что, как и при гибридизации сортового материала, чем более генетически родственны мутанты, тем менее сложно будет расщепление, тем проще и скорее можно получить константные формы.

Гибридизация мутантов, имеющих одинаковые положительные признаки, может привести к усилению этих признаков — к трансгрессии их.

Нередко мутанты, помимо ценных признаков, обладают и отрицательными. Устранение последних часто возможно путем гибридизации.

Успех, а иногда и неудачные результаты скрещивания будут зависеть от генов, обуславливающих те или иные признаки, от их взаимодействия в гибридном генотипе.

Представляет большой интерес усиление наследственного многообразия путем сочетания в одной и той же гибридной комбинации мутационной и комбинационной изменчивости. Сотрудники Института цитологии и генетики Сибирского отделения Академии наук СССР Е. А. Соломко и Н. Д. Тарасенко воздействовали ионизирующими излучениями и химическими мутагенами на семена картофеля, которые являются гетерозиготными. Во всех вариантах среди растений, выращенных из семян, обработанных мутагенами, в первом поколении наблюдалась значительно большая изменчивость по морфологическим и количественным хозяйственно ценным признакам, чем там, где семена не были обработаны мутагенами. При сочетании гибридной и мутационной изменчивости удалось отобрать значительно больше сеянцев с измененными признаками, представляющими практический интерес. Например, в одном из опытов на сорте Камераз I в контроле выделены как хозяйственно ценные 9,4% сеянцев, а в опытных сериях 17,2—24,4%. То же было отмечено и у других сортов или гибридов (Шкварников, 1966).

Путем индуцированного мутагенеза, по имеющимся пока немногочисленным данным, можно получить мутанты, у которых отрицательные признаки диких или примитивных форм будут устранены или ослаблены. Используя мутагены, как считает А. Хагберг (1966), в результате разрыва хромосом можно нарушить блоки генов одной хромосомы, в которых сцеплены полезные и вредные признаки, и повысить частоту комбинаций. В этом важное преимущество мутагенеза перед гибридизацией (по Хвостовой, 1966). Х. Куккук (1965) из вида пшеницы маха, характеризующейся очень ломким колосом и зерном, плотно заключенным в колосовые чешуи, отчего вымолачивалось только 23% его, получил мутанты инфлятного типа с прочным колосовым стержнем и вымолачиваемым (на 71%) зерном. Из полбы им выделены мутанты, которые обмолачиваются гораздо легче, чем исходные формы.

Следовательно, с помощью индуцированного мутагенеза появляется возможность использовать в скрещиваниях дикие и примитивные формы, обладающие теми или иными полезными признаками, освободившись от таких отрицательных и явно доминантных признаков, как растрескиваемость плодов или бобов, ломкость колоса.

осыпаемость зерна, трудность обмолота, склонность к полеганию, или ослабив их.

Использование экспериментального мутагенеза для нарушения генетических связей между положительными и отрицательными признаками является важной особенностью этого метода.

Надо отметить, что путем воздействия мутагенами удается получить гаплоидные формы растений. Это достигается в результате стимулирования развития яйцеклетки без оплодотворения под воздействием опыления пылью, облученной высокими дозами.

О направленности мутаций. Возможность получения мутантов с заранее заданными признаками — самая важная и вместе с тем наиболее трудная проблема экспериментального мутагенеза. Несмотря на многочисленные попытки и некоторые обнадеживающие результаты, ученые до сих пор не могут разработать методики, пользуясь которой, можно было бы получить мутант с нужными свойствами. В известной степени возможно предвидеть возникновение желаемой мутации из сорта, если мы уже знаем, какие типы мутаций дает генетически близкий сорт.

Сведения о специфичности влияния разных мутагенов на отдельные участки хромосом пока весьма ограничены.

Как показывают работы, проведенные в Швеции Дж. Мак-Кеем, у мутантов яровой пшеницы спельтоидный тип колоса часто возникает при потере определенного участка в одной из хромосом, а скверхеды — при удвоении того же участка. В этой стране путем удвоения числа генов, определяющих синтез фермента амилазы, стараются улучшить сорта ярового ячменя для пивоварения.

В опытах В. В. Хвостовой и ее сотрудников у озимой пшеницы эректоидные низкорослые формы возникали гораздо чаще под действием быстрых нейтронов, чем под влиянием этиленмина невысокой концентрации. Имеются данные о влиянии степени влажности семян во время мутагенного воздействия на спектр мутации. Так, у люпина растения, выросшие из семян, подвергнутых воздействию рентгеновых лучей, при повышенной влажности давали более эффективные мутации, чем при низкой (Глэдстоунс и Френсис, 1965, по Найлэну, 1967).

Вероятность получения многоколосых форм озимой пшеницы, по данным Н. С. Эйгес (1966), резко возросла с увеличением концентрации этиленмина: при 0,01 и 0,02% эти формы отсутствовали, а при концентрации 0,06—0,09% количество таких мутантов было 33—42%.

В общем изменение дозы или концентрации одного и того же мутагена может заметно сказываться на спектре мутаций.

В опытах Л. Эренберга, А. Густафссона и У. Лундквист (1961) при 10% воды в семенах у ячменя мутантов эректоидного типа возникло в 30 раз больше, чем при влажности 15—20%.

Интересные высказывания о возможности получения направленных мутаций, выраженных в фенотипе, мы находим у Ш. Ауэрбах (1966). По ее мнению, самое большое, на что можно рассчитывать в экспериментальном мутагенезе — это доля увеличения желаемых мутаций. Тогда для отбора одной-двух нужных мутаций можно будет исследовать несколько сот, а не тысячи организмов.

В пределах возможного увеличения общей мутабельности желательно получать больше мутаций с нужным фенотипом.

Мутирование — сложное явление, в котором химические изменения ДНК — только начало процесса. Его завершение — появление новых форм с наследственно измененными признаками. Промежуточные процессы, обуславливающие реализацию мутантов в фенотипе, определяют, какие мутации, возникшие в генотипе, будут реализованы в новых признаках мутанта. Конечный результат зависит не только от первичных изменений ДНК под влиянием мутагена, но и в еще большей мере от последующей цепи биохимических и физиологических процессов.

Вмешательство в эти процессы онтогенеза и, в частности, изменение развития тканей, несущих мутации (внутрисоматический отбор) возможно путем подбора различных факторов внешней среды. К ним относятся, судя по ограниченным данным Н. Ф. Батыгина и В. Н. Савина (1966), и особенности питания растений в первом поколении.

Влияние наследственных особенностей исходного сорта на индуцированную мутационную изменчивость

Изучение мутационного процесса у видов в естественных условиях и в опыте показывает, что у различных форм варьирует как общая частота возникновения мутаций, так и возможность мутационной изменчивости разных генов и разных аллелей одного гена. Однако значение генетических особенностей исходных сортов или форм как фактора, влияющего на специфичность мутационной изменчивости и частоту мутирования, за рубежом специально почти не изучается; мало работ и у нас. Вместе с тем удачный выбор исходного материала для получения ценных мутаций столь же важен, как и правильный подбор родительских форм при гибридизации. Обычно селекционер, прежде чем создать сорт, в течение ряда лет оценивает гибриды многих комбинаций, используя при этом различные родительские формы. Для получения нужных мутантов в ряде случаев тоже придется устанавливать специфичность мутирования нескольких сортов.

Для характеристики сортов по их мутабельности надо ввести в селекционную практику два понятия — два термина — общая сортовая мутабельность и полезная сортовая мутабельность. Под первым следует понимать все фенотипически проявляющиеся мутации. Под вторым — лишь жизнеспособные мутации, превосходящие исходный сорт по отдельным или нескольким хозяйственно важным признакам. Такие мутации могут быть использованы для гибридизации или для непосредственного отбора. Сорта можно условно делить на мутабельные, промежуточные и не склонные к мутированию.

Показателем сортовой мутабельности, видимо, удобнее всего считать число мутантных случаев на 100 семей, поскольку при этом принимаются во внимание не только одинаковые мутанты в разных семьях, но и разные мутанты в одной семье.

Работы, проведенные в нашей лаборатории, показывают, что каждому сорту присущи свои особенности выражения мутаций — их частоты и спектра, хотя мутагены с разным механизмом действия и изменяющиеся

факторы внешней среды, конечно, будут модифицировать сортовую мутационную изменчивость.

Различия сортов и видов достоверно могут проявиться только при равных условиях и однотипных мутагенных воздействиях. Но это не значит, что сорт в известной степени не может сохранять свойственную ему мутабельность при разных условиях. Так, сорт ярового ячменя Винер несколько лет близ Новосибирска и под Москвой дает мало мутаций, помимо хлорофильных. В опытах нашей лаборатории у определенных сортов сои, гороха и ячменя в течение ряда лет возникает относительно много мутантных форм, у других, наоборот, мало.

Мутирование контрастных и близких сортов. Сорта, относящиеся к разным подвидам и видам, то есть, как правило, генетически далекие, в наших опытах явно различались как по количеству мутантов, так и по их спектру.

Малокультурная форма гороха (абиссинский вид) под воздействием гамма-лучей имела в M_3 (1964 г.) семей с мутантами 16,7, а под воздействием этиленмина — 13,3%, причем и в том и в другом случае спектр был весьма бедный. Вместе с тем у посевного гороха сорта Торсдаг в первом случае семей с мутациями было 78,5 и во втором — 73,5%; многообразие мутантов оказалось несравненно больше.

У карликовой формы сои, относящейся к корейскому подвиду, суммарное количество мутантов в M_3 (1965 г., Усть-Каменогорск) было меньше в 4 раза, а мутантных типов меньше в два с половиной раза, чем у сои Амурская бурая 57, принадлежащей к маньчжурскому подвиду. Столь же большие различия по мутационной изменчивости наблюдались и у двух сортов мягкой пшеницы Цезиум 74 и карликовой Теремок.

Каждому виду или другому эколого-географическому таксону меньшего ранга должны быть свойственны характерная специфичность и возможность индуцированной мутационной изменчивости. Чем полиморфнее будет вид, тем, естественно, больше должен быть размах его мутирования.

При изучении мутационной изменчивости у генетически родственных сортов наблюдаются сходные результаты по образованию как общего количества мутантов, так и отдельных их типов. Так, у двух кормовых сортов

сои, очень близких по происхождению и комплексу морфо-биологических признаков, — Амурская 262 и Амурская бурая 57 в 1965 г. (Усть-Каменогорск) количество семей с мутантами в M_3 при облучении семян гамма-лучами (7 кр) оказалось почти одинаковым: 27,0 и 29,5%. То же можно сказать и о типах выделенных мутантов. У Амурской 262 их было двенадцать, а у Амурской 57 — тринадцать. Характерно, что большинство типов оказалось одинаковым примерно с равным количеством мутантов по каждому из них.

Аналогичные результаты получены у двух других генетически родственных зерновых сортов сои. То же наблюдалось на сортах гороха. Сорта пшеницы Теремок, гороха Торсдаг и сои Амурская 57 можно отнести к мутабельным. Тогда как сорт пшеницы Цезиум 74, абиссинская форма гороха и карликовая форма сои не были склонны к мутированию. Следует отметить, что такие различия в мутационной изменчивости указанных сортов гороха и сои наблюдаются и в опытах других лет.

Приведенные данные являются иллюстрацией следующего общего положения, сформулированного нами в соответствии с законом Н. И. Вавилова о гомологических рядах в наследственной изменчивости и на основании изучения общей сортовой мутабельности разных сортов гороха, сои, бобов, яровой пшеницы и ячменя. Чем ближе сорта и другие эколого-географические таксоны по своим генотипам, тем больше должно быть сходства в частоте и спектрах их индуцированных мутаций при однотипных мутагенных воздействиях и условиях внешней среды. Наоборот, чем менее генетически родственны сорта, тем значительнее они будут различаться по индуцированной мутационной изменчивости.

Если мы знаем специфику мутирования какого-либо сорта, то, исходя из этой общей закономерности при однотипных мутагенных воздействиях и условиях среды, можно предвидеть и у других генетически родственных сортов возникновение более или менее близкой мутационной изменчивости как по частоте, так и по спектрам мутаций. Следовательно, изучив мутационный процесс у типичных представителей тех или иных эколого-географических групп или сортотипов, мы с достаточной долей вероятности вправе предвидеть возможность появления нужных нам мутантов у других форм этих таксонов. Естественно, что в тех случаях, когда близость

по морфологическим и биологическим признакам не будет основываться на генетическом родстве, такие предсказания не оправдаются.

Использование культурных и примитивных форм.

Для получения хозяйственно ценных мутантов в качестве исходного материала, как правило, используют культурные сорта с хорошо выраженными нужными признаками. Это и понятно, поскольку из таких сортов гораздо легче получить мутанты, представляющие непосредственную селекционную ценность. Различия между сортами по полезной сортовой мутабельности, естественно, бывают очень большими (табл. 3).

Таблица 3

Хозяйственно ценные мутанты у разных сортов гороха в M_2 (семена обработаны 0,03%-ным этиленглилем, данные 1964 и 1966 гг.)

Типы мутантов	Торсдаг	Рамонский 77	Фаленский 42	Абиссинский форма 42	Ползунок
Скороспелые (на 3—6 дней)	+	+	+	+	+
Высокорослые, с повышенным числом бобов, более скороспелые	+	+	+	+	+
С более крупными бобами	+	+	+	—	—
Высокорослые, скороспелые, хорошо облиственные	+	+	+	—	—
Среднепоздние, продуктивные по зеленой массе	+	+	+	—	—
Позднеспелые, высокорослые с повышенным числом бобов, имеют налет на листьях	+	+	—	—	—
Высокорослые, с повышенным числом бобов	+	+	—	+	+
С полустамбовым стеблем	+	+	—	—	—
С фасцированным стеблем	+	Стерильные +	—	—	—

Два высококультурных зерновых сорта гороха Торсдаг и Рамонский 77, обладая широким спектром, дали сравнительно большое количество мутантов, которые по одному или нескольким признакам превосходили исходный сорт. К числу их относятся мутантные формы высокорослые, с повышенным числом бобов, с более крупными семенами, хорошо облиственные, продуктивные по зерну, менее склонные к полеганию, скороспелые и др.

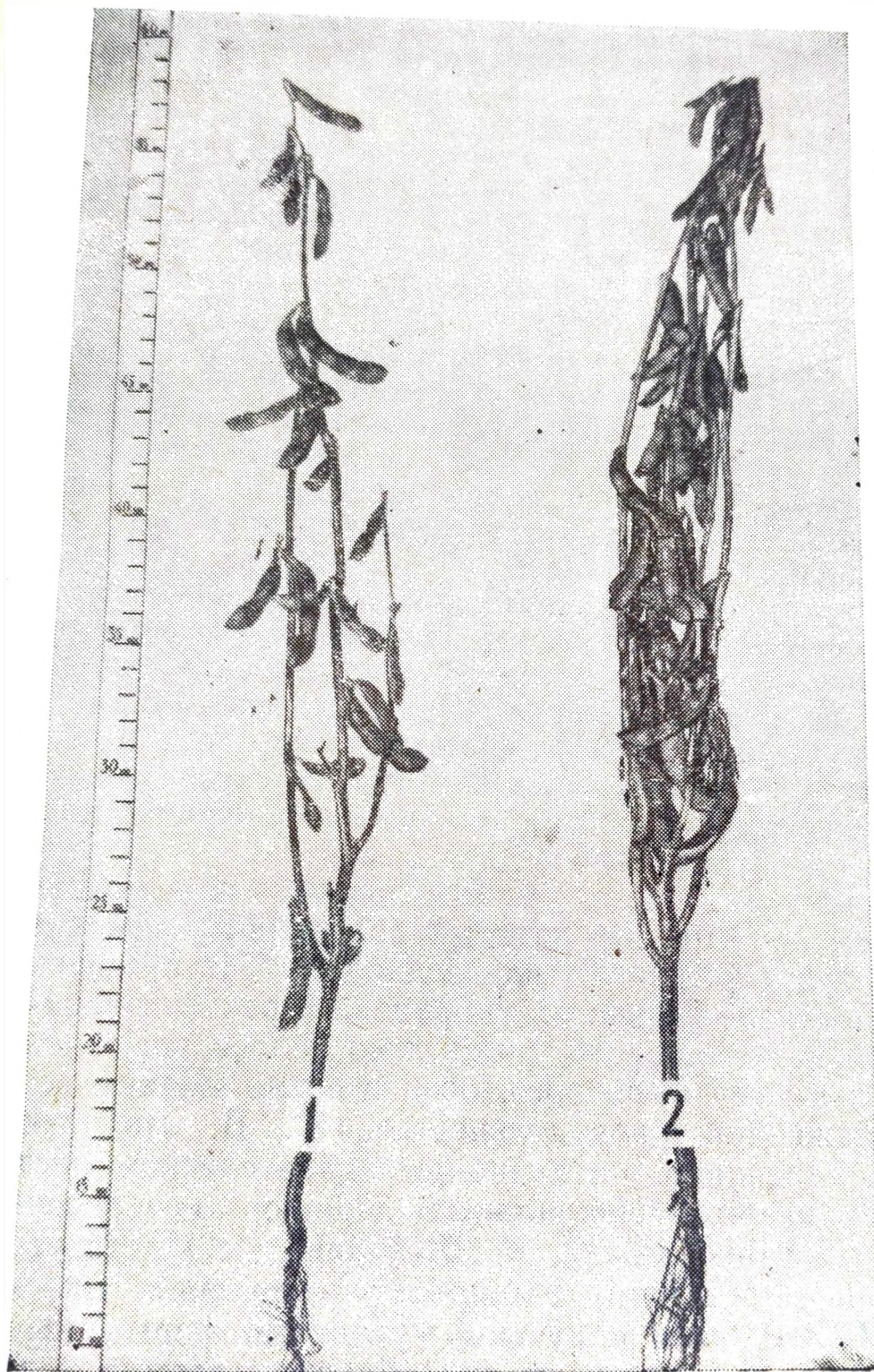


Рис. 4. Пример возможности отбора крупной продуктивной мутации:

1 — исходный сорт сои Кубанская 276; 2 — продуктивный мутант Т-11 с повышенным числом бобов в кисти. Получен под воздействием гамма-лучей (ориг.).

Карликовый сорт Ползунок и низкорослая малопродуктивная примитивная абиссинская форма имели только мутанты с такими полезными признаками, как большая скороспелость и повышенный рост с увеличенным числом бобов. Никакого практического интереса они не представляют. Вместе с тем некоторые мутантные формы сорта Торсдаг и Фаленский 42 успешно испытываются в нашем институте и в других пунктах. Описание хозяйственно ценных мутантов сорта Торсдаг показано в таблице 4.

Из высококультурного сорта сои Кубанская 276 были выведены продуктивные мутанты. Их испытывают 2 года близ Уссурийска, Краснодара и г. Бельцы (Молдавия). У некоторых мутантов повышена урожайность вследствие увеличения числа бобов в кисти (рис. 4). Это один из случаев, когда мутагенез имеет преимущество перед гибридизацией.

Следует отметить, что создание многоцветковых гибридов сои при скрещивании малоцветковых форм ранее нам никогда не удавалось и мы не встречали описания в литературе таких фактов. С помощью экспериментального мутагенеза в очень короткий срок (за 3 года) мы получали многоцветковые мутанты, то есть потенциально продуктивные формы, как из сорта Кубанская 276, так и из других малоцветковых сортов.

Путем мутагенеза, как отмечалось выше, можно получать мутанты, у которых признаки примитивных форм будут устранены или ослаблены. Из промежуточных пшенично-пырейных гибридов, характеризующихся, как известно, большой рыхлостью колоса, приближающегося к типу пырейного, относительно мелким зерном и пониженной продуктивностью, Г. Д. Лапченко и П. П. Бережным в Научно-исследовательском институте земледелия центральных районов нечерноземной зоны (Немчиновка), В. М. Шепелевым в Институте цитологии и генетики Сибирского отделения Академии наук СССР были получены мутантные формы пшеничного типа. Некоторые из них обладают такими хозяйственно ценными признаками, как плотность колоса, крупное зерно и повышенная продуктивность. Этот материал используется для непосредственного отбора и гибридизации (рис. 5).

В наших многолетних опытах был случай, когда дикая соя, судя по характеру наследования признаков,



Рис. 5.

Слева — исходная форма промежуточного пшенично-пырейного гибрида Мн-2 (2л-56); *справа* — мутанты из Мн-2 с пшеничным типом колоса, повышенной зимостойкостью и увеличенным содержанием белка (до 19%) (фото П. П. Бережного, Немчиновка, 1956 г.).

несколько естественных мутантов. У некоторых из них растрескивались бобы, были более крупные семена светлой окраской. У примитивного образца слабого подвида с полегающим стеблем возникали естественные мутанты с повышенным числом цветков в spike и прочным стеблем, один из которых явился родоальником хорошо известного сорта ВНИИМК 9186.

Сортовые различия в мутировании по количественным признакам. Наблюдения над мутационной изменчивостью отдельных количественных признаков у некоторых сортов сои, бобов и гороха позволили нам отметить, что выражение измененных признаков у мутантов (как средних для основной массы, так и их границ для большинства случаев) было сопряжено со средней величиной признака у исходных сортов (Енкен, 1965). Это представление подтвердилось анализом мутантов в М сортах гороха, сои.

Таблица 4

**Характеристика мутантов сорта гороха Торсдаг
с хозяйственно важными признаками
(1962—1965 гг., Новосибирск)**

Типы мутантов	Превосходит исходный сорт по признакам	Частота встречаемости в сорте	Выделены при воздействии мутагенами*
Высокорослые с повышенным числом бобов	Урожаю зерна на 10—18 %	Сравнительно часто	ЭМС; ЭИ; γ -лучи
С крупными бобами и крупными семенами	Весу 1000 семян на 30—40 г (исходный сорт 180—190 г)	То же	ЭИ
С увеличенным числом бобов на плодоножке	Числу бобов (3 вместо 2)	Редко	ЭИ
С полуштамбовым стеблем	Устойчивости к полеганию	Часто	ЭИ; ЭМС; γ -лучи
Скороспелые	Созреванию на 3—5 дней раньше	Сравнительно часто	γ -лучи ЭИ; ЭМС
Ультраскороспелые	Созреванию на 8—10 дней раньше	Очень редко	γ -лучи

* ЭМС — этилметансульфонат, ЭИ — этиленмин.

Следует отметить, что приводимые в таблице 5 данные получены не в специальном опыте, где бы мы могли четко отделить мутационную изменчивость от модификаций и показать генетически обусловленный размах границы мутирования каждого сорта (при воздействии

гамма-лучами). Но и они, как нам представляется, отражают сортовые различия по фенотипическому выражению мутирования некоторых количественных признаков.

Фенотипически высота мутантов у карликового сорта гороха Ползунок изменялась в пределах 10—40 см. У абиссинской формы, средняя высота которой составляла 51 см, большинство мутантов было значительно выше. Высота их колебалась в пределах от 21 до 60 см. В других опытах с этими сортами мутанты, полученные под воздействием таких химических мутагенов, как этиленимин и этилметансульфонат, ни разу не отличались высокорослостью, хотя в единичных случаях по отношению к исходному сорту увеличение могло быть существенным. Среди мутантов среднерослого (107 см) сорта Торсдаг, высота, как правило, варьировала от 61 до 130 см, а у наиболее высокого (140 см) сорта Фаленский 42 от 91 до 150 см.

Аналогичная зависимость наблюдалась между высотой исходных сортов и их мутантов у сои. В общем чем выше был сорт, тем вероятнее в этих опытах оказалась возможность появления высокорослого мутанта, и наоборот.

Сопряженность между крупностью семян у исходных сортов и их мутантов достаточно ясно видна на сортах сои (табл. 5). Возможность отбора форм с очень

Таблица 5

Изменчивость крупности семян у мутантов M_2 различных сортов сои (семена облучены γ -лучами в дозе 7 килорентген, 1965 г., Усть-Каменогорск)

Сорт	Средний вес семян исходного сорта (в г)	Распределение веса 1000 семян у мутантов по классам (в %)					
		классы веса 1000 семян (в г)					
		80—90	91—100	101—110	111—120	121—130	131—140
Амурская бурая 57	114	16	21	26	25	8	23
Амурская 262	132	2	6	9	24	28	21
Амурская 42	141	—	—	1,4	4,1	7	16
Амурская 41	158	1,8	1,8	—	3,6	7	13
Карлик	166	—	—	2,2	—	6,1	—

Сорт	Распределение веса 1000 семян у мутантов по классам (п. 3)						Число мутантных растений
	классы веса 1000 семян (в г)						
	141—150	151—160	161—170	171—180	181—190	191—200	
Амурская бурая 57	—	—	—	—	—	—	101
Амурская 262	6	1	—	1	—	—	112
Амурская 42	28	16,8	16,7	5	—	—	72
Амурская 41	16	18	21,5	12,5	1,8	—	46
Карлик	13	13	24	15,2	9,2	4,3	46

мелкими семенами была весьма велика среди мутантов сорта Амурская бурая 57, характеризующегося низким весом 1000 семян. Среднесемянных и крупнесемянных мутантов здесь не было. Близкие результаты дал другой сорт — Амурская 262, но у него уже были среднесемянные мутанты. У сорта Амурская 41 и Карлик проявилась возможность получить формы с довольно крупными семенами.

В опыте с соей у сотрудника лаборатории И. М. Базавлука наблюдалась зависимость между белковостью исходных сортов и характером мутационной изменчивости.

Содержание белка до 39—40% у мутантов в M_2 сорта Амурская 42, полученных путем облучения семян γ -лучами в дозе 7 килорентген, повышалось только у единичных форм (1,7%), а у более белкового сорта Амурская 262 мутантов с таким содержанием белка было уже 8,4%, и некоторые достигали 41—44%. У последнего сорта амплитуда изменчивости по содержанию белка оказалась заметно шире, чем у первого.

Во всех приведенных случаях наблюдалась зависимость между средним выражением признака у исходных сортов и характером его изменчивости у мутантов. В работе К. Фрея (1965), посвященной мутационной изменчивости количественных признаков у овса, тоже показано, что сдвиги в среднем у популяции мутантов были связаны с исходными сортами. Если мы учтем по всем анализированным сортам количество мутантов, у ко-

торых выражение признаков снижается или увеличивается в сравнении с проявлением их у исходных сортов, то увидим, что чаще у большего числа мутантов изученных сортов проявление признака уклоняется в сторону снижения. Вместе с тем возможность усиления признаков у мутантов (имеются в виду абсолютные цифры) в наших опытах была тем вероятнее, чем сильнее эти признаки оказывались выраженными у исходных сортов. Например, более высокорослые и крупносемянные мутантные формы нетрудно было получить из среднерослых и среднесемянных сортов, тогда как низкорослые и мелкосемянные сорта таких мутантов не давали.

В какой степени указанная зависимость распространена, сейчас трудно сказать. В опыте Дж. Мак-Кея (1954) появление скороспелых мутантов у позднеспелого сорта ярового ячменя Клок 2 наблюдалось гораздо чаще, чем позднеспелых; у очень раннего сорта Сэм соотношение мутантов было противоположным. У него не обнаружили ни одной формы с более ранним созревaniem.

Аналогичные результаты получил Р. Брок, изучая у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (1966) мутационную изменчивость периода вегетации и веса растений. Он пришел к выводу, что у индуцированных мутантов появляется больше форм, у которых выражение признака снижается, в том случае, если у исходной формы он развит сильно. Когда же признак развит слабо, то легче получить его усиление. Эта мысль, высказанная в докладе на симпозиуме по экспериментальному мутагенезу в ГДР в 1966 г., вызвала возражение. Такие расхождения в оценке направления мутирования количественных признаков, надо полагать, обуславливались недостаточной исследованностью этого вопроса и тем, что разные авторы работали с генетически различным материалом.

Ограниченность возможностей индуцированного мутирования генотипа по количественным признакам и эффективность ступенчатого мутагенеза хорошо продемонстрирована Г. Штуббе (1966). В результате многолетних экспериментальных работ он показал, что из дикой формы помидоров с величиной плодов крупной смородины путем неоднократного облучения рентгеновыми лучами и отборов наиболее крупных плодов, можно постепенно получить культурный, хотя и мелкоплодный сорт.

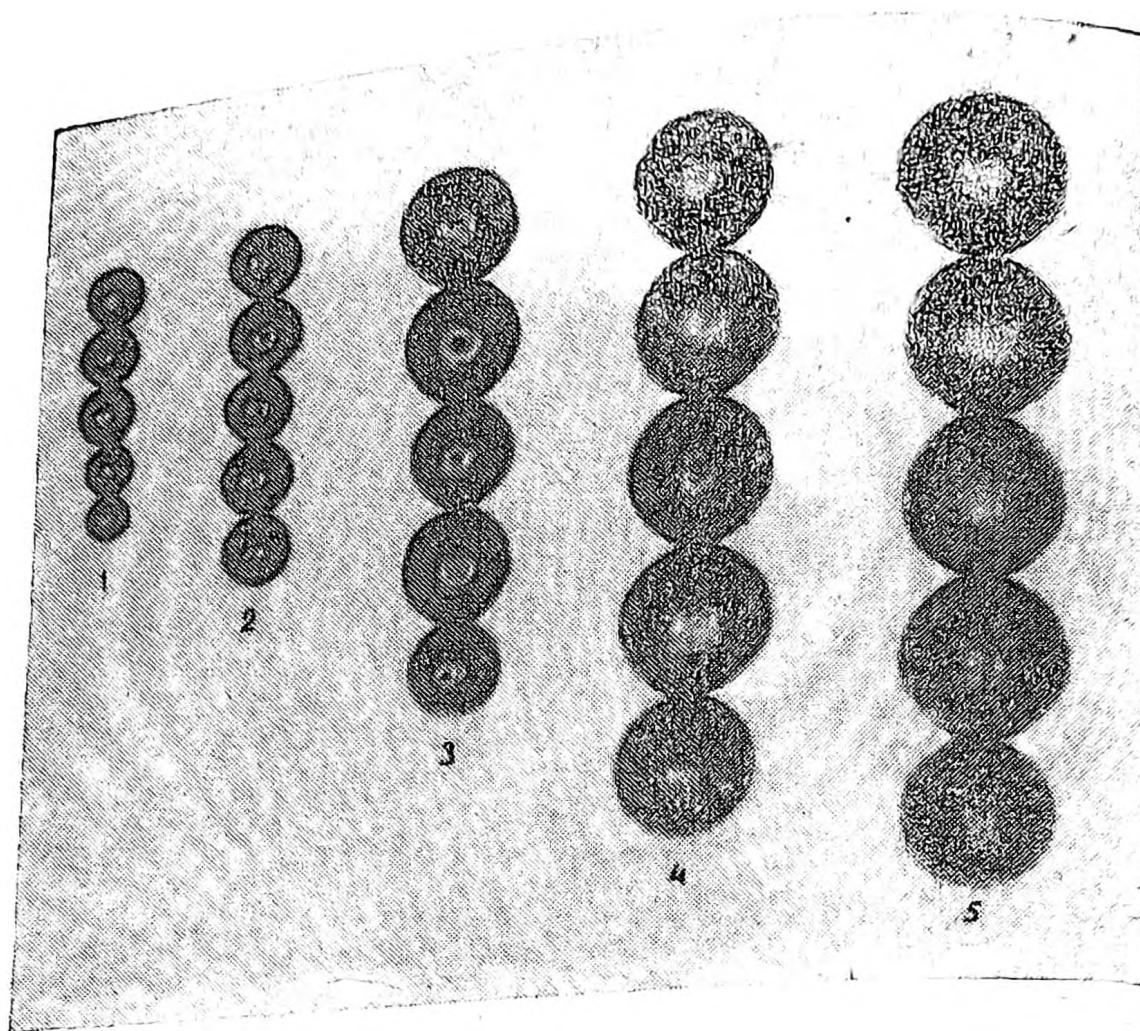


Рис. 6. Увеличение плодов дикой формы помидоров в результате нескольких последовательных облучений и отборов:
1—исходная форма дикого помидора; 2—5—мутанты (по Г. Штуббе, 1966 г.).

У исходной формы вес плода равнялся всего 1,1 г, после первого облучения и отбора наиболее крупные плоды весили 1,8 г, после второго облучения и отбора — 5,4 г, после третьего — 11,3 и после четвертого — 17 г, то есть были выделены формы по крупности, равные мелкоплодному культурному сорту Фрюе Либе (рис. 6). Следовательно, чем крупнее становилась мутантная форма, тем больше в ее генотипе появлялось возможностей образовывать новые индуцированные мутации с укрупненными плодами.

Здесь мы видим ту же генетически обусловленную зависимость, отмеченную нами для разных сортов сои и гороха, между степенью выраженности количественного признака у исходного сорта и возможностями его дальнейшего увеличения путем индуцированного мутагенеза. Работами С. И. Алиханяна и его сотрудников показано на микроорганизмах, что при действии одним

мутагеном в конечном счете достигается предел, выше которого новых изменений признака не происходит. Применение же других мутагенов позволяет получать мутанты с еще большим увеличенным проявлением нужного признака.

Надо полагать, что у разных сельскохозяйственных растений проявление тех или иных количественных признаков (усиление или ослабление их) под воздействием различных мутагенов у индуцированных мутантов может быть разное, а иногда и вовсе отсутствует. Приведенные материалы мы рассматриваем как предварительные.

Мутагены и их действие

Мутагены делятся на две большие группы: физические и химические. Для получения индуцированных мутаций в селекции вначале использовались только рентгеновы лучи. В последние годы все шире стали применять гамма-лучи. Обработку растительных объектов быстрыми нейтронами для селекционных целей по техническим причинам проводят практически редко. Эти и некоторые другие излучения объединяются под названием физических мутагенов. В настоящее время все шире начинают использовать в качестве мутагенов различные химические вещества.

Ионизирующие излучения

Гамма- и рентгеновы лучи относятся к коротковолновым излучениям. Им свойственна высокая энергия излучения, низкая линейная потеря энергии (ЛПЭ), а в связи с этим и большая проникающая способность в ткани живых организмов.

Биологическое действие гамма- и рентгеновых лучей может существенно изменяться под влиянием различных внешних факторов. Если облучают семена, то их радиочувствительность и мутационный эффект модифицируются в зависимости от влажности, температуры, степени зрелости, выполненности, условий созревания и других факторов, влияющих на физиологическое состояние семян.

Физическое и биологическое действие гамма- и рентгеновых излучений на растения в общем достаточно близки.

Для биологических исследований и селекционной работы в качестве источника гамма-лучей обычно используются кобальт-60 (Co^{60}) и цезий-137 (Cs^{137}).

Иногда для селекционных целей применяют нейтроны. Они не имеют никакого электрического заряда и легко проникают в ткани живых организмов. Мутагенное действие быстрые нейтроны оказывают преимущественно в момент облучения. Их влияние мало зависит от факторов внешней среды. Тепловые нейтроны вызывают наведенную радиоактивность в самой клетке. Они дают относительно много мутаций.

Сравнение действия рентгеновых лучей и быстрых нейтронов при дозах, убивающих половину растений, показывает, что нейтроны дают более высокую стерильность и вызывают мутации с частотой в 10—100 раз большей, чем рентгеновы лучи.

В опытах И. В. Черного (1966) с двумя сортами яровой пшеницы разные дозы (от 1 до 15 кр) гамма-лучей от всего числа растений во втором поколении индуцировали мутантов у сорта Цезиум 111 — 2,3—8,2%, а быстрые нейтроны (при дозах от 100 до 1000 рад) — 3,4—10,1%.

У сорта Лютесценс 758 гамма-лучи соответственно дали мутировавших растений 3,2—17,1%, а быстрые нейтроны — 5,8—19,5%.

В общем по числу мутантов относительно более эффективными оказались быстрые нейтроны.

Высоким мутагенным эффектом обладают также ультрафиолетовые лучи (УФ), но они плохо проникают в ткани и поэтому ими можно пользоваться для облучения пыльцы. УФ меньше вызывают хромосомных нарушений, чем ионизирующие излучения. Они могут индуцировать точковые мутации.

Возникновение мутаций под воздействием излучений — явление случайное, не направленное.

Измерение излучений и механизм их действия. Энергия, попадающая на объект (семена или части растений), называется дозой облучения. Измеряется она в рентгенах (р). Один рентген способен в 1 куб. см воды при 0 градусов образовать всего одну электростатическую единицу.

Дозы облучения измеряют обычно в тысячах рентген (килорентген, кр). Далеко не все количество энергии попадает в облучаемую ткань. Биологическое действие

ионизирующих излучений зависит от количества энергии, поглощенной живой тканью, измеряемой в радах. Это очень маленькая величина. Учет энергии в радах весьма сложен, и практически количество энергии, падающей на поверхность облучаемого объекта, определяют в рентгенах. При этом принимается, что доза в воздухе гамма- или рентгеновых лучей в рентгенах примерно соответствует дозе в радах в мягких тканях или в воде.

Чтобы оценить действие излучений, надо знать и мощность дозы, т. е. дозы в рентгенах или радах за определенное время. Путем перемножения величин, характеризующих мощность дозы в единицу времени, и время облучения, устанавливают суммарную дозу.

Существует понятие относительной биологической эффективности (ОБЭ). Для гамма- и жестких рентгеновых лучей ОБЭ близка и принимается за единицу. ОБЭ может существенно меняться в зависимости от того, что облучают и каковы условия во время облучения.

Относительная биологическая эффективность нейтронов в 10—40 раз выше, чем у гамма- и рентгеновых лучей. Вследствие таких различий в относительной биологической эффективности и критическая доза для гамма- и рентгеновых лучей в рентгенах будет примерно в 10 и более раз выше, чем для нейтронов в радах.

Вода — это неотъемлемая часть всего живого. Под действием излучений в воде возникают свободные радикалы OH , HO_2 и H . Они химически весьма неустойчивы и вступают во взаимодействие с органическими веществами клетки, то есть действуют химически. При этом происходит, главным образом, реакция окисления — присоединение кислорода и отдача водорода. Изредка бывают обратные восстановительные реакции.

Физико-химическая стадия действия ионизирующих излучений заканчивается образованием свободных радикалов. В последующей химической фазе свободные радикалы вступают во взаимодействие с растворенными в воде различными веществами. Неустойчивость радикалов резко снижается при очень низкой температуре.

При отсутствии и недостатке кислорода в момент облучения ткани растений становятся менее чувстви-

тельными к облучению. Видимо, да во время облучения зависит характер и направление самых первых мгновенно протекающих физико-химических реакций, а это сказывается на последующих биохимических процессах в тканях растений. Имеется ряд химических веществ, повышающих радиоустойчивость живых тканей.

Действие излучений на растения и хромосомы. Низкие дозы в несколько сот (200—500) рентген, как известно, часто стимулируют ростовые процессы и в ряде случаев увеличивают урожай. Вместе с тем, с повышением доз наблюдается лучевое поражение растений: появляются нарушения в развитии растений — угнетается рост, возникают различные деформации органов и уродства, затягивается появление генеративных органов или они отсутствуют. Все эти изменения, возникающие в первом поколении, называются **морфозами**. Надо иметь в виду, что они не наследуются. При очень высоких дозах семена могут полностью терять полевую всхожесть.

В живой клетке наиболее чувствительны к облучению хромосомы, радиоустойчивость цитоплазмы гораздо выше. Ионизирующие излучения вызывают различные нарушения в хромосомах. Возникают разрывы в одном или нескольких местах. Иногда часть хромосомы теряется. Могут соединяться части разных хромосом. В итоге возникают клетки с измененным или дефектным набором хромосом.

Можно выделить две большие группы изменения хромосом, два типа мутаций: структурные и точковые. К структурным мутациям относятся все многообразные изменения, вызываемые различными нарушениями и перестройками хромосом: перераспределение участков хромосом (**транслокация**), выпадение какой-либо части из середины хромосомы (**нехватка**), удвоение участков (**дупликация**), поворот хромосомного участка на 180° (**инверсия**).

Если перестройка хромосом достаточно крупная, то при должном навыке их легко обнаружить под микроскопом.

Точковые мутации возникают в результате химических или микроструктурных изменений в том или ином локусе хромосом. Их не удастся обнаружить даже под электронным микроскопом. О возникновении таких

мутаций можно судить только по новым измененным признакам.

Ряд работ показывает, что появление перестроек, возникающих в хромосомах под воздействием ионизирующих излучений и химических мутагенов, и точковых мутаций взаимно не связано. Уменьшение количества перестроек хромосом существенно не снижает частоты возникновения видимых мутаций.

Следует отметить, что по фенотипу нет определенной грани между мутациями, обусловленными внутримолекулярными изменениями хромосом и структурными перестройками.

Радиочувствительность. Излучения действуют на растения по-разному, в зависимости от вида излучения, его дозы, наследственных особенностей сорта и физиологического состояния облучаемой части растения. Одним из важнейших показателей реакции растений на облучение является радиочувствительность. Под радиочувствительностью растений принято понимать степень нарушения различных процессов и поражение тканей в результате влияния одной и той же дозы радиации. Внутри вида по радиочувствительности наблюдается значительная сортовая изменчивость. Генетически обусловленные различия по радиочувствительности между культурами весьма велики. Семена лилии не выживают при дозе 2 кр гамма- или рентгеновых лучей, а многие представители крестоцветных выдерживают дозу в 40—50 раз большую. Для капусты и льна критические дозы, то есть дозы, при которых сохраняется и плодоносит 30—40% растений, равны 80—100 кр.

В первом приближении можно считать, что большинство видов пшеницы и ячменя близки по радиочувствительности. Овес и просо несколько менее чувствительны. Среди зерновых бобовых к облучению наиболее устойчив пут. Среднее положение занимает соя, фасоль, горох, вика, весьма чувствительны бобы. Примером значительной внутривидовой изменчивости может быть горох. По нашим данным, относительно высока устойчивость к облучению у темноокрашенных форм типа пелюшек, промежуточное положение занимают желтосемянные пищевые сорта и наиболее чувствительны морщинистые зеленозерные овощные формы.

У одного и того же сорта радиочувствительность изменяется в зависимости от разных факторов, влияющих

на физиологическое состояние семян. В разные периоды вегетации она тоже далеко не одинакова.

Радиочувствительность зрелых семян меньше, чем наклюнувшихся. По данным Л. Стадлера (1930), покоящиеся семена при облучении высокими дозами рентгеновых лучей переносят дозу в 15—20 раз большую, чем прорастающие. Степень зрелости семян также существенно сказывается на их радиочувствительности. Семена двух сортов ярового ячменя в экспериментах нашей лаборатории, убранные в фазе молочной спелости, потом подсушенные и облученные весной следующего года гамма-лучами в дозе 8 кр, взошли на 30 и 45% и имели соответственно 13 и 34% клеток с хромосомными нарушениями. Семена, убранные в восковой спелости, всходили на 86 и 93% и имели 5 и 16% клеток с хромосомными перестройками.

В опытах Н. Н. Нуждина и других семена ярового ячменя Харьковский 306 при облучении дозой 12 кр гамма-лучей в молочной спелости взошли на 29%, в тестообразной спелости — на 80%, и полной спелости на 92%.

На радиочувствительности семян сказывается изменение их физиологического состояния в связи с различным содержанием воды во время облучения. По данным Л. Эренберга, с увеличением влажности семян ячменя от 8 до 20% чувствительность к рентгеновым лучам снижалась. То же явление, но при иной влажности семян, наблюдал Р. Калдекотт. По данным этих авторов, с увеличением влажности свыше 20%, когда усиливается набухание, чувствительность всегда резко повышалась.

По мнению Л. Эренберга, в процессе набухания в семенах появляются защитные вещества (растворенные углеводы, белки и др.). Вместе с тем, когда в семенах начинаются ростовые явления, в них возникают новые биологические процессы, возможно деление клеток, что приводит к повышению радиочувствительности. Высушенные проростки семян чувствительнее сухих семян, находящихся в стадии покоя.

Температура, при которой проводится облучение, сказывается довольно сильно на химических процессах, протекающих в семенах, что приводит к изменению конечного результата.

Многочисленные опыты показывают, что хранение облученных гамма-лучами семян в течение 1—6 месяцев

и более в лабораторных условиях обычно снижает их всхожесть, энергию прорастания и приводит к увеличению числа хромосомных нарушений, причем у разных культур и сортов эти процессы протекают далеко не одинаково. Хранение облученных семян усиливает повреждающий эффект.

Работы С. И. Янушкевич (1963) и других показывают, что условия выращивания семян, предшествующие облучению, существенно сказываются на радиочувствительности. Семена одного и того же сорта, выращенные в степных засушливых условиях, были менее радиочувствительными, чем семена, полученные в условиях увлажнения. На радиоустойчивости сказывается агротехнический фон, на котором выращивали семена, подвергавшиеся затем облучению.

Все изложенное говорит о том, что, помимо наследственных особенностей сорта, на радиочувствительность очень сильно влияют многие факторы внешней среды, сказывающиеся в конечном счете на физиологическом состоянии и химическом составе облучаемых семян. Каковы причины радиоустойчивости разных сортов, видов и культур, пока единого мнения нет. Видимо, здесь могут иметь значение и отдельные факторы и комплексы их.

Знание радиочувствительности семян во время их облучения важно для подбора оптимальных доз, при которых повышается возможность получения мутаций с хозяйственно ценными признаками.

Дозы облучения. До последнего времени было широко распространено мнение, что для получения большого количества мутаций надо применять высокие дозы. В частности, такого мнения придерживается Х. Гауль (1965). Он считает, что большие дозы способствуют увеличению эффективности работы, связанной с получением мутаций.

Исследования П. К. Шкварникова (1961), И. В. Черного (1966) и других показывают, что хотя при высоких дозах среди выживших растений и увеличивается суммарное количество мутаций, но это не приводит к увеличению числа хозяйственно ценных форм. Кроме того, при критических или близких к ним дозах много растений гибнет, а среди них, естественно, могут быть ценные мутантные формы. Вот почему в настоящее время применяют в общем средние или пониженные дозы.

Критические дозы гамма- и рентгеновых лучей при обработке сухих семян для большинства полевых культур колеблются от 5—7 кр до 80—100 кр. По сводке составленной С. А. Валуевой (1960), и другим данным критические дозы в тысячах рентген составляют для овощного гороха 5—8, бобов 7—8, фасоли 8—25, зернового гороха 10—15, соя, чины, вигны и чечевицы 12—20, кормового гороха (пелюшки) 15—20, арахиса 25, нута 25—40, люпина 20—60, яровой пшеницы и ярового ячменя 15—20, проса 25—30, льна 80—100. Эти дозы в связи с большим неравенством условий выращивания, различиями в радиочувствительности сортов и по другим причинам лишь с известным приближением отражают радиочувствительность видов и их внутривидовую изменчивость.

Судя по литературным источникам и нашим данным, как ориентировочные можно рекомендовать такие дозы гамма- и рентгеновых лучей в тысячах рентген: бобы 3—4, арахис 4—7, горох овощной 3—5, фасоль 5—7, соя 5—8, горох зерновой 5—10, горох кормовой (пелюшки) 10—15, люпин 14—16, нут 15—20, яровой ячмень и яровая пшеница 5—10, овес 10—15. Для конкретных сортов и условий целесообразно подбирать дозы, которые лишь незначительно снижают всхожесть и мало угнетают рост растений.

Иногда для накопления мутаций практикуется неоднократное облучение семян, взятых с растений первого поколения. По данным В. Гофмана, у растений, выращенных из семян, которые в течение трех лет облучали перед посевом, мутаций было в 3 раза больше, чем при однократном облучении. Делается это так. Со всех или части растений M_1 берут 1—3 семени. Их объединяют в один образец и вновь подвергают мутагенному воздействию. Остальные семена высевают для отбора мутаций в M_2 . Так повторяют 2—3 года.

Хроническое гамма-облучение в различные периоды роста или в течение всей вегетации проводят на специально организованных гамма-полях. Источником облучения является кобальт, заключенный в специальном устройстве. Пользоваться высокими дозами нецелесообразно, так как они угнетают растения и вызывают значительное количество перестроек в хромосомах. При облучении яровой и озимой пшеницы в опытах А. В. Пухальского (1966), проведенных на гамма-поле, доза в

2,5—4 рентгена в час вызывала гибель растений, доза 1,5—2 рентгена — сильное угнетение их, доза 0,6—1,5 рентгена — среднее и доза 0,3—0,6 рентгена — слабое угнетение.

Полезные мутации, как правило, возникали при небольших дозах — 0,3—0,6 рентгена в час. При таких дозах за период вегетации почти не нарушается митоз и могут возникать малые мутации с полезными признаками.

Частичное снижение повреждающего эффекта. Метод частичного снятия повреждающего эффекта высоких доз предложен Р. А. Найлэном и С. Ф. Конзаком (1961). Он заключается в следующем. В контейнере перед самым облучением семена в марлевых мешочках обкладывают достаточным количеством сухого льда (углекислоты). В результате во время облучения поддерживается температура -78° . Вследствие этого в значительной мере подавляется действие возникающих свободных радикалов.

После облучения семена немедленно помещают на 1 минуту в дистиллированную воду с температурой $+60^{\circ}$. Воды в сосуд наливают много, а мешочки с семенами встряхивают, чтобы непосредственно около семян в течение одной минуты температура была именно $+60^{\circ}$. Температуру в сосуде с семенами поддерживают на нужном уровне, подливая горячую воду. Через минуту семена помещают на 1 час 30 минут в хорошо прокипяченную (бескислородную) дистиллированную воду с температурой $+32-34^{\circ}$. Сосуд с водой должен находиться в термостате с такой же температурой. После этого семена подсушивают и хранят до посева.

Обрабатывая таким образом семена ячменя дозой 80 кр, американские исследователи во втором поколении выявили очень много жизнеспособных мутантов, хотя обычно ячмень погибает при дозе 25—30 кр.

В опыте К. А. Эльшуни и В. В. Хвостовой (1966) с яровой пшеницей Лютесценс 62, а затем и с ячменем Винер при облучении дозой 10 кр и применении указанного метода нарушений в хромосомах получили значительно меньше, а мутаций больше, чем в контроле без указанной обработки семян. Еще сильнее частичное снятие повреждающего эффекта сказалось на яровой пшенице при такой летальной дозе, как 40 кр. Без обработки все погибло. Вместе с тем при облучении с

применением указанной методики в первом поколении (M_1) взошло 49% высеванных семян, при этом выжило 79% растений. Во втором поколении с проверкой в M_3 семей с мутациями у Лютеценс 62 было 40%, то есть мутации возникали очень часто, причем ряд из них представлял хозяйственную ценность.

Важно то обстоятельство, что большинство мутаций, полученных авторами при дополнительной обработке, оказались рецессивными и константными. В третьем поколении (M_3) они не давали расщепления. Вместе с тем у мутаций, связанных с транслокациями, в M_3 наблюдается расщепление.

При облучении быстрыми нейтронами в высоких дозах дополнительная обработка не оказала никакого влияния ни на частоту мутаций, ни на процент хромосомных перестроек.

Ту же методику по снятию повреждающего эффекта мы применили на сорте сои Хабаровская 4, воздействуя на сухие семена дозой 30 кр гамма-лучей. Судя по первому поколению, результаты оказались тоже весьма положительными (табл. 6).

Таблица 6

Частичное снятие повреждающего эффекта на сое
(M_1 , гамма-лучи, 1966 г.)

Вариант	Число высеянных семян	Количество взошедших растений (в %)	Высота растений перед уборкой (в см)	Вес 1000 се- мян (в г)	Число семян на 1 расте- ние
Контроль	250	63	80	168	78
8 кр	500	68	95	200	83
30 кр (в воде 45 мин.)	282	33	94	184	71
30 кр (в воде 90 мин.)	308	36	81	205	66

Доза в 30 кр для сои является практически летальной, вместе с тем при дополнительной обработке всходы образовались примерно у трети высеванных семян и у половины от числа взошедших в контроле. Развитие этих растений и их продуктивность были хорошими; у них лишь несколько затянулось созревание (рис. 7).

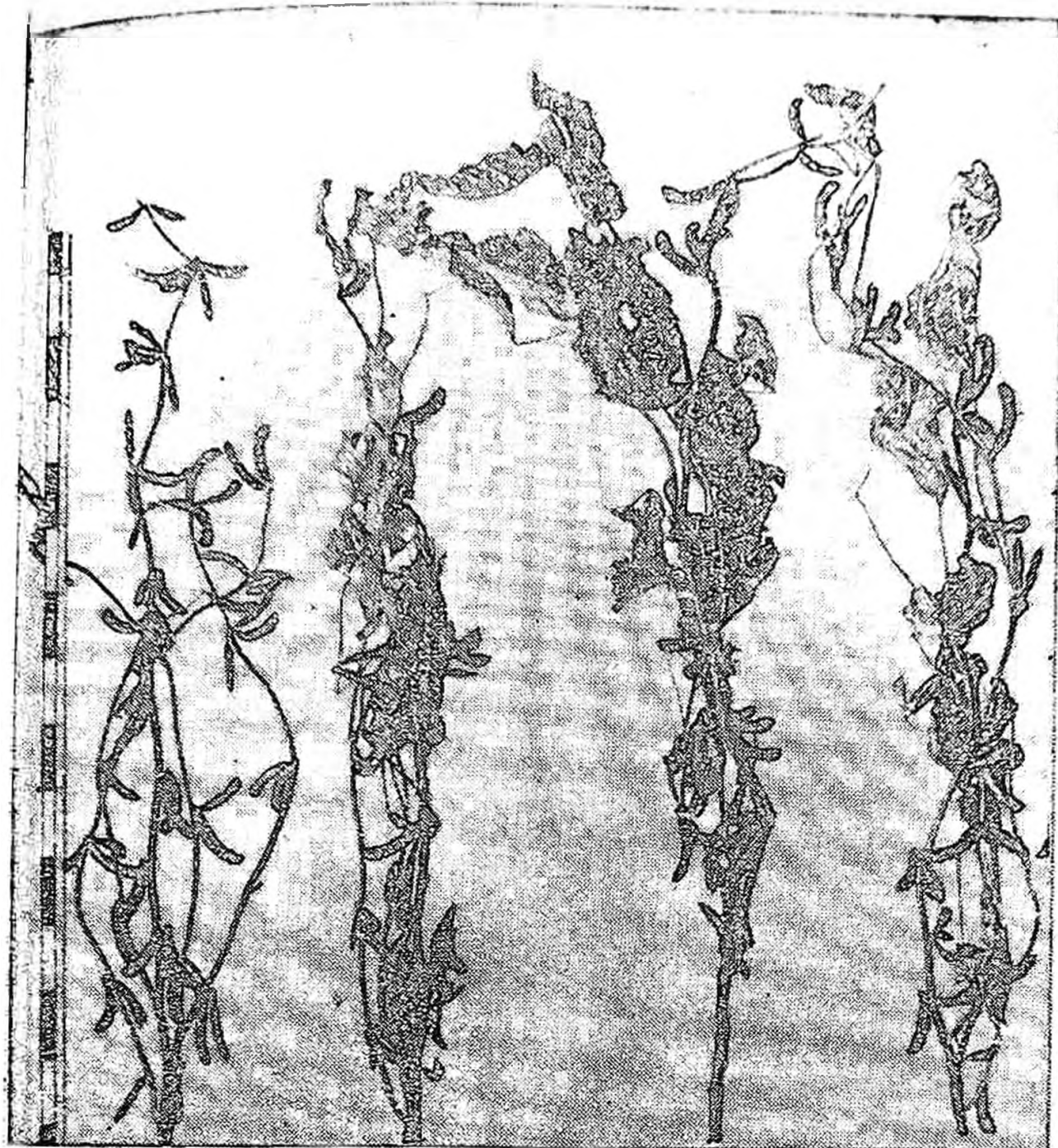


Рис. 7. Положительное влияние частичного снятия повреждающего эффекта на сое в первом поколении:

первый слева — контроль (семена не облучались); второй слева — облучено гамма-лучами в дозе 8 кр; третий и четвертый слева — облучено гамма-лучами в дозе 30 кр с частичным снятием повреждающего эффекта (ориг.).

А. Конгер (1963) и другие исследователи считают, что уменьшение повреждающего эффекта связано с тем, что низкая температура, повышая жесткость среды внутри зародышей, уменьшает подвижность радикалов, образующихся в семенах под воздействием облучения. Перепад температуры от -78° до $+60^{\circ}$ способствует рекомбинации сохранившихся радикалов. Замачивание в бескислородной воде препятствует образованию

перекисных радикалов и, видимо, предотвращает переход потенциальных разрывов в истинные.

Возможность частичного снятия повреждающего эффекта гамма- и рентгеновых лучей, надо полагать, повысит результативность использования их в селекции.

Химические мутагены

Возможность получения мутаций под влиянием химических веществ впервые была установлена Г. Штуббе в 1930 г. и В. В. Сахаровым в 1932 г. Высокомутагенный эффект этиленимина (ЭИ) и некоторых других химических веществ открыл И. А. Рапопорт (1946, 1948). Еще в 1948 г. были получены положительные результаты при использовании этиленимина на пшенице, горохе и других культурах (Зоз, 1966). Ш. Ауэрбах и И. Робсон (1946) выяснили, что иприт вызывает мутации и дает перестройки хромосом, как это происходит при ионизирующих излучениях. К числу распространенных и эффективных мутагенов относится этилметансульфонат (ЭМС), мутагенное действие которого на растениях открыто французским ученым Х. Эсло (1958).

Химические мутагены у нас в стране и за рубежом стали приобретать все большее значение в селекции совсем недавно — около 10 лет назад. Этому способствовала, в частности, положительная оценка этиленимина и этилметансульфоната и некоторых других химических мутагенов, данная шведскими учеными Л. Эренбергом, А. Густафссоном и У. Лундквист (1958, 1961) и другими исследователями, а также работы американских ученых, получивших у растений под воздействием химических соединений большое количество мутаций.

В Институте химической физики Академии наук СССР И. А. Рапопорт открыл несколько новых активных химических мутагенов. Из них в первую очередь надо назвать N-нитрозометилмочевину (НММ), N-нитрозоэтилмочевину (НЭМ), диметилсульфат (ДМС), 1,4-бисдиазоацетилбутан. Химические мутагены по специфичности действия стоят друг от друга дальше, чем используемые в селекции виды ионизирующих излучений.

На основании двухлетнего изучения мутагенного эффекта этиленимина на озимой пшенице Пшенично-пырейный гибрид 186 и сравнения полученных данных с

действием гамма-лучей, Н. С. Эйгес (1964) отмечает, что этиленимин эффективнее гамма-лучей в 4—6 раз. При этом спектр мутаций, полученных под действием этиленимина, заметно отличался от спектра, вызываемого гамма-лучами. Этиленимин часто давал мутанты с прочной соломиной и продуктивным колосом при отсутствии эректоидов и скверхедов, характерных для мутантов, возникших под влиянием гамма-лучей.

В ряде других работ отмечается высокая мутагенная эффективность этиленимина, превосходящая физические мутагены в 1,5—6 раз.

На нескольких сортах гороха и фасоли Н. А. Соболев (1966) показал высокую активность этиленимина, диметилсульфата и диэтилсульфата. У фасоли отобраны формы с более высоким прикреплением нижнего боба и хорошей продуктивностью.

При комбинированном действии этиленимина с другими химическими или физическими мутагенами удалось получить эффект, значительно превосходящий суммарный (Бартошевич, 1966). В общем этиленимин является эффективным мутагеном, вызывающим относительно много полезных мутаций.

Вместе с тем имеются данные о том, что мутагенный эффект этиленимина на помидорах, горохе, яровой пшенице был ниже мутагенного эффекта гамма-лучей или равен ему. По сообщению В. В. Хвостовой, во втором поколении помидоров семей с мутантами под влиянием этиленимина было 28%, а гамма-лучей — 52%.

В наших опытах с сортом гороха Торсдаг процент семей с мутантами составлял: под действием гамма-лучей — 69, этиленимина — 58, этилметансульфоната — 51. При этом существенных различий в количестве типов возникающих мутантов не обнаружено. Но вместе с тем наблюдались заметные различия по частоте встречаемости отдельных типов мутантов, в том числе и с хозяйственно полезными признаками (Енкен, Сидорова, 1966).

Весьма отчетливый пониженный мутагенный эффект этиленимина в сравнении с гамма-лучами был получен в опытах с двумя сортами яровой пшеницы (табл. 7).

По обоим сортам как число мутантов, так и количество их типов было явно больше при воздействии гамма-лучей. Облучение семян с последующим замачиванием в растворе этиленимина определенно снизило

Образование мутантов яровой пшеницы в зависимости от мутагена и сорта (Мз. 1964 г., Усть-Каменогорск)

Мутагены и дозы	Число изученных семей		Количество семей с мутантами (в %)	
	Теремок	Цезиум 74	Теремок	Цезиум 74
Гамма-лучи, 10 кр	413	700	36,9	4,4
Гамма-лучи, 10 кр + этилен-имин 0,02 %-ный	300	769	23,6	2,4
Этиленимин 0,02 %-ный	992	890	7,7	1,7
Этиленимин 0,04 %-ный	1079	1272	5,9	0,9
Контроль	416	418	0,5	0,2

выход мутантов. При обработке семян этиленимином количество мутантов было меньше, чем при облучении семян гамма-лучами, у сорта Теремок в 5,6 раза и у Цезиум 74 в 2 раза.

Можно привести еще пример, когда этиленимин не имел преимуществ перед физическими мутагенами. В опытах И. В. Черного (1966) при облучении гамма-лучами в дозах от 1 до 15 кр получили по сорту Цезиум 111 в среднем 20% семей с мутантами, а у Лютесценс 758 — 33,4%. При использовании быстрых нейтронов в дозах от 100 до 1000 рад у первого сорта семей с мутантами найдено 22,9%, а у второго — 36,9%. В варианте с этиленимином при концентраций 0,1% и экспозиции 6, 12, 18 и 24 часа соответственно получено семей с мутантами 22,2% для первого менее мутабельного сорта и 27% для второго.

Приведенные данные показывают, что возможны случаи (причины которых пока не ясны), когда этиленимин оказывается менее эффективным, чем гамма-лучи. С. И. Макарова (1966) на основании работ с озимой пшеницей отмечает, что нитрозометилмочевина и нитрозоэтилмочевина дают очень высокие мутагенные эффекты. Под влиянием этих соединений происходит торможение роста и очень большое количество хромосомных перестроек. Это наблюдали и другие исследователи. В опытах Б. Шарма (1965), проведенных в Московской сельскохозяйственной академии имени К. А. Тимирязева на сорте гороха Крупноплодный Г-20, в среднем по

всем дозам было показано, что диэтилсульфат и особенно нитрозометилмочевина вызывали значительно больше мутаций, чем гамма-лучи и быстрые нейтроны. Но при этом спектр форм с положительными мутациями был шире в варианте с этиленимином и диэтилсульфатом, чем с нитрозоэтилмочевинной (табл. 8).

Таблица 8

Частота появления мутантов гороха в M_2 под влиянием различных мутагенов

Мутагены (среднее по разным дозам и концентрациям)	Количество (в %)			Спектр положительных мутаций
	мутантов к числу растений в M_1	семей с мутантами	мутантных случаев на 100 семей	
Контроль	0,2	3	3	1
Гамма-лучи	3,1	16,2	19,2	5
Быстрые нейтроны	2,5	14,8	20,2	10
Этиленимин	4,9	28,1	37,2	15
Диэтилсульфат	10,6	51,9	84,3	15
Нитрозометилмочевина	24,0	—	105,2	10

В этом опыте отчетливо наблюдается закономерное нарастание количества семей с множественными мутациями при увеличении эффективности мутагена. При воздействии гамма-лучами их было только 19,2%, а после обработки семян нитрозометилмочевинной 105,2%. Следовательно, чем больше мутаген вызывает мутаций, тем чаще встречаются два и более мутанта разных типов в одной семье.

По данным сотрудницы нашей лаборатории К. К. Сидоровой, полученным на нескольких сортах гороха, отчетливо проявилось преимущество химических мутагенов над гамма-лучами. Было установлено, что нитрозоэтилмочевина по мутагенному эффекту уступала этилметансульфонату (табл. 9).

Под воздействием этилметансульфоната для всех сортов как процент семей с мутациями, так и число мутантных случаев на 100 семей было определено выше, чем при обработке семян раствором нитрозоэтилмочевинной с концентрацией 0,025%.

Использование с селекционными целями Г. А. Дебелым (1965) различных мутагенов показало, что у сортов гороха Немчиновский 51, Капитал и Московский 572

Таблица 9

**Влияние мутагенов на частоту появления мутаций
у различных сортов гороха (М₂, 1966 г.)**

Сорт	% семей с мутациями				Число мутантов на 100 семей		
	контроль	ЭМС, 0,15%-ный	НЭМ, 0,025%-ная	гамма-лучи, 5 кр	ЭМС 0,15%-ный	НЭМ, 0,025%-ная	гамма-лучи, 5 кр
Рамонский 77	4,0	55,8	41,5	—	101	70	—
Ползунок	2,7	31,5	17,2	12,0	43	22	13
Скороспелый мозговой	3,3	22,5	4,3	11,2	31	4	12
Фаленский 42	1,3	45,5	35,4	7,6	61	52	8
Абиссинская форма	1,3	27,4	17,5	6,0	41	21	6

число мутантных растений во втором поколении составляло: при воздействии разными дозами гамма-лучей 3,5—4,8%, диэтилсульфата 4—13,4%, диметилсульфата 1,8—2,1% и тепловых нейтронов (сорт Немчиновский 51) 3,1—8,5%. Ионизирующие излучения давали 10—25%, а при высоких дозах 50% стерильных растений. Среди мутантов, полученных под влиянием химических мутагенов, жизнеспособных форм в общем было явно больше. По этим данным, первое место занимает диэтилсульфат.

В нашей лаборатории при обработке семян гороха сорта Торсдаг гамма-лучами (5 кр), этиленимином (0,04%-ный) и этилметансульфонатом (0,1%-ный) выявлено примерно одинаковое количество мутантов. В 1964 г. во втором поколении мутантных растений было 3,6—3,8%, из них с положительными признаками 1,1—1,8%. В 1965 г. по двум первым мутагенам наследственно измененных растений выделено почти в 2 раза больше — 7,2—6,6%.

На спектр мутаций в той или иной степени влияет концентрация мутагена. Это отчетливо видно из опыта с озимой пшеницей, где при замачивании семян был использован значительный набор концентраций этиленимина (табл. 10).

Несмотря на ограниченное число мутантов каждого типа, можно сказать, что спектр при концентрации

**частота образования различных типов мутантов пшеницы
при разных концентрациях этиленимина
(в % по Н. Эйгес, 1965 г.)**

Тип мутантов	Число мутантных растений	Концентрация этиленимина (в %)					
		0,01	0,02	0,03	0,04	0,06	0,09
Крупноколосые	15	26,7	20,0	—	53,3	—	—
Устойчивые к гриб- ным заболеваниям	23	8,9	34,1	52,2	4,8	—	—
Толстая соломина	48	26,8	7,1	19,8	34,2	7,3	4,8
Опушенный колос	21	49,7	9,6	14,3	26,4	—	—
Красноколосые	9	—	—	77,8	—	11,1	11,1
Ярко-зеленые	38	—	—	50,0	29,0	13,1	7,9
Сизые	57	—	—	39,1	1,6	57,6	1,7
Эректоиды	43	—	—	25,0	—	41,9	33,1
Спельтоиды	18	—	—	5,5	11,5	16,2	66,8
Полуспельтоиды	25	—	—	—	14,3	48,6	37,1
Скверхеды	10	—	—	—	—	40,3	59,7

0,01—0,02 % был совсем другим и с иным селекционным значением, чем при повышении содержания этиленимина до 0,06—0,09 %.

При концентрации 0,01—0,02 % было легко получить мутанты, характеризующиеся крупным колосом и устойчивостью к грибным заболеваниям, но при этом совсем не возникало форм с измененным типом колоса.

В работе Т. В. Сальниковой и Н. Н. Зоз (1966) отмечается, что нитрозоэтилмочевина дала доминантных мутаций в первом поколении до 15 %, этиленимин — до 9 % и 1,4-бис-диазоацетилбутан — до 7,5 %. Некоторые из этих мутантов отличались полезными признаками или их можно было отнести к другим подвидам пшеницы.

Получение довольно большого количества доминантных мутаций под воздействием нитрозометилмочевины и нитрозоэтилмочевины отмечают и некоторые другие авторы. Вместе с тем известно, в частности это отмечает Р. А. Найлэн (1967), что большинство индуцированных различными мутагенами мутаций у растений рецессивны. Настоящие доминантные мутации встречаются очень редко. Они возникают чаще у полиплоидных видов. В опытах Д. Амато и других (1964) из 23 изученных мутантов твердой пшеницы ($2n = 28$) только три было полу-

доминантными. О редких случаях нахождения доминантных мутаций у пшеницы сообщают и другие исследователи.

Следует отметить, что в опытах нашей лаборатории с горохом при использовании химических мутагенов, и в частности нитрозоэтилмочевины в первом поколении, доминантные мутации не встречались.

Химические мутагены, как правило, высоко токсичны. При неосторожном обращении они могут вызвать тяжелые заболевания. Поэтому при работе с ними нужно соблюдать правила безопасности, исключающие попадание мутагена или его раствора на тело и в пищу. Хранить мутагены в бытовых холодильниках нельзя, так как их пары могут отравить продукты.

Действие на клетки. Этиленимин, нитрозоэтилмочевина и ряд других соединений относятся к группе алкилирующих мутагенов. Алкилирование — это процесс введения одновалентного радикала в различные химические соединения. В клетке алкилирующий агент может взаимодействовать с несколькими компонентами. Нитрозоэтилмочевина вызывает мутации путем окисления некоторых азотистых оснований нуклеотидов. Показано взаимодействие нитрозоэтилмочевины с гуанином (Рапопорт, 1966).

Одни мутагены, обладая высокой генетической активностью, вызывают много перестроек в хромосомах. Другие же их почти не дают. Нитрозоэтилмочевина и нитрозометилмочевина индуцируют много видимых мутаций, а также дают высокий процент стерильности и хромосомных перестроек. Диэтилсульфат в эффективных концентрациях вызывает в хромосомах мало перестроек (Зоз, 1966).

Широко распространенный мутаген этилметансульфонат, судя по ряду литературных источников, дает относительно мало хромосомных нарушений и часто вызывает точковые мутации, не связанные с какими-либо значительными изменениями в структуре хромосом. Рентгеновые же лучи однолокусных мутаций дают мало.

Как правило, чем больше мутагены вызывают различных перестроек в хромосомах, тем чаще наблюдается гибель растений. Следует отметить, что под воздействием этиленимина количество мутаций с полезными признаками к общему числу их часто бывает выше, чем у нитрозометилмочевины.

Специфичность реакции разных локусов на воздействие физических и химических мутагенов достоверно была показана на эректоидных мутациях, возникших у двурядного ячменя. Один из многих локусов, ответственных за проявление эректоидности (локус *a*), реагировал на алкилирующие соединения и излучения малой плотности, а локус *c* — на редко ионизирующие излучения и нейтроны. Это пример того, как появление одинаковых по фенотипу мутантов может обуславливаться мутационными изменениями, происходящими в различных участках хромосом под действием разных мутагенов (Густафссон и др. по Найлэну, 1967).

Влияние некоторых факторов на мутагенный эффект. В отличие от ионизирующих излучений, которые проникают через все живые ткани, химические соединения могут задерживаться на поверхности семян и длительно не проникать до зародышевых клеток. Например, у бобовых растений очень часто встречаются медленно набухающие (каменные) семена с различной степенью выраженности этого явления в пределах одного сорта. Естественно, что при одной и той же концентрации и экспозиции контакт мутагена с зародышами, а следовательно, и его генетическое действие на семена с разной быстротой поглощения воды в пределах одного образца будет далеко не одинаковым. Различным окажется действие раствора мутагена на голозерные и пленчатые ячмени. У пленчатых форм будет иметь значение толщина и строение цветковых чешуй.

Конечный мутагенный эффект может существенно зависеть от различий во взаимодействии мутагена с веществами клетки. Температура и рН раствора, а также содержание воды в семенах оказывают большое влияние на мутационные изменения в генотипе. Замоченные семена всасывают растворенный мутаген иначе, чем сухие, что, естественно, сказывается на его действии. Чувствительность разных культур и сортов к одному и тому же мутагену далеко не одинакова. Мутагены различаются между собой по скорости разложения в растворе и степени ядовитости возникающих при этом веществ.

Концентрация и экспозиции. Влияние этих и других факторов на конечный генетический результат действия химических мутагенов сейчас находится в той или иной стадии изучения. Поэтому рекомендуемые концентрации и экспозиции следует рассматривать как ориенти-

ровочные. В каждом конкретном случае желательно провести предварительные опыты, чтобы установить оптимальные концентрации и экспозиции для культуры и сорта.

Высокие концентрации химических мутагенов, также как и большие дозы ионизирующих излучений, уменьшают количество мутантов в результате гибели или повреждения растений. При этом снижается для ряда мутагенов вероятность выделения мутантов с полезными признаками. Вот почему применение высоких концентраций не целесообразно. Они должны быть в общем умеренными. Количество мутаций с увеличением концентрации линейно нарастает до известного предела, а потом падает.

По данным Н. Н. Зоз (1966), наибольшая частота жизнеспособных мутаций во втором поколении наблюдается чаще всего при концентрациях, обеспечивающих в первом поколении выживаемость 80—100% растений с незначительным угнетением их. При сочетании низких концентраций с относительно длительной экспозицией нередко наблюдается большее число мутаций, чем при высоких концентрациях и короткой экспозиции (Рапорт, 1966).

Однако это положение требует уточнения применительно к определенным культурам и мутагенам. Есть мутагены, которые в растворе довольно быстро образуют ядовитые соединения и теряют свои мутагенные свойства.

У некоторых зерновых бобовых культур при длительном замачивании даже в чистой воде нарушается целостность семян. Так, в нашем опыте с сортом сои Хабаровская 4 всхожесть сухих семян была 85%, замоченных в чистой воде в течение 2 часов — 60% и замоченных в течение 10 часов — только 22%. При шестичасовом замачивании в растворе нитрозозэтилмочевины с высокой концентрацией 0,1% всхожесть снизилась до 4,6%. При уменьшении концентрации мутагена до 0,04% столь резкого падения всхожести не наблюдалось. Мутантов было выделено больше.

Исходя из этого опыта для сои в первом приближении можно рекомендовать концентрации от 0,04 до 0,025%, или в объемном разведении от 1:2500 до 1:4000, и экспозицию 3—4 часа.

В опыте нашей лаборатории с горохом у разных сортов полевая всхожесть была от 65 до 87%. При

обработке семян нитрозоэтилмочевиной в концентрации 0,025% и экспозиции 5 часов она понизилась соответственно от 44 до 60%. Повреждающее действие этилметансульфоната концентрации 0,15% при экспозиции 12 часов было значительно меньше — разные сорта пшеницы и некоторых других культур обычно используют этилметансульфонат в концентрации от 0,1 до 0,3% (часто 0,15%). В некоторых работах указываются высокие концентрации — 0,5—0,6%. Исходя из опыта лаборатории химического мутагенеза растений Института химической физики Академии наук СССР, Н. Н. Зоз рекомендует следующие дозы мутагенов для обработки семян (табл. 11).

Таблица 11

**Возможные концентрации химических мутагенов
для обработки семян**

Мутаген	Концентрация * с учетом удельного веса			
	по объему		в %	
	от	до	от	до
Этилметансульфонат	1:650	1:500	0,15	0,2
Этиленимин	1:100000	1:20000	0,001	0,005
Диэтилсульфат	1:2000	1:1000	0,05	0,1
Диметилсульфат	1:8000	1:4000	0,012	0,025
Нитрозоэтилмочевина	1:8000	1:4000	0,012	0,025
Нитрозометилмочевина	1:10000	1:6000	0,01	0,015

* Эти концентрации примерны. Для каждой культуры и сорта их следует уточнить в предварительных лабораторных и полевых опытах. Концентрации диметилсульфата и нитрозометилмочевины в общем берутся для конкретных сортов примерно в 1,5 раза меньше, чем концентрации диэтилсульфата и нитрозоэтилмочевины.

Отечественный этиленимин, вырабатываемый на заводах, на основании проведенных опытов рекомендуется использовать в значительно более слабых разведениях, чем этиленимин кустарного изготовления. Это объясняется высокой степенью чистоты этиленимина заводского изготовления.

Вода обязательно должна быть дистиллированной с тем, чтобы исключить возможную реакцию присутствующих в ней солей с мутагеном. Раствор рекомендуется нейтральный (рН=6,5—7). Температура 20—24°.

Слишком кратковременное замачивание семян в растворе приводит к тому, что мутаген в достаточном ко-

личестве не сможет проникнуть в семена и оказать должное действие, особенно у культур, семена которых имеют грубые пленки или трудно проницаемую кожуру. Излишне длительное замачивание, как отмечалось выше, приводит к массовой гибели семян и снижает количество возникающих мутантов. В целом по различным культурам у разных авторов время замачивания колеблется от 3 до 12 часов. Применявшиеся ранее экспозиции до 24 часов оказались неэффективными.

Судя по ограниченным материалам, которыми располагает наша лаборатория, для диэтилсульфата, диметилсульфата, нитрозоэтилмочевины и нитрозометилмочевины в настоящее время по разным культурам можно рекомендовать экспозиции от 3 до 7 часов, а для этилена и этилметансульфоната — 8—12 часов.

Для быстро набухающих зерновых бобовых с тонкой кожурой (например, для многих сортов фасоли и сои) экспозиции должны быть меньше, а для зерновых — более продолжительные. При этом следует учитывать строение цветочных чешуй.

Раствора по объему должно быть в 5—8 раз больше, чем семян. Замачивание проводят в стеклянных сосудах с нетолстым слоем жидкости. Если одновременно обрабатывают несколько сортов, а количество мутагена ограничено, то семена помещают в однослойные марлевые мешочки, размер которых позволял бы семенам свободно перемещаться внутри мешочка при встряхивании. Это необходимо делать довольно часто, чтобы лучше омыwać семена раствором. После обработки мутагеном семена промывают в обычной проточной воде. Это снижает повреждающий эффект. Обычно семена промывают около 1 часа. По данным Х. Гауля, лучший результат был получен при 18 часах. Возможность длительной промывки в значительной мере зависит от строения семян. Раствор надо готовить, пользуясь резиновыми перчатками, в вытяжном шкафу, раздавливая ампулу с мутагеном под водой. При посеве в очень хорошо увлажненную почву всхожесть семян снижается меньше, чем в почве обычной и особенно пониженной влажности.

Нитрозоэтилмочевина, нитрозометилмочевина, этиленмин и ряд других мутагенов, хранящихся при комнатной температуре, очень быстро разлагаются. Их следует держать в холодильниках с температурой не выше

+2 —5°. Лучше всего мутагены хранить в запаянных ампулах или во флаконах с притертой пробкой, обмазанной вакуумной или другой смазкой. В таких условиях мутагены сохраняют свою активность до года.

Следует отметить, что влияние на мутационную изменчивость мутагенов различной концентрации и при разной экспозиции при обработке семян изучено меньше, чем влияние ионизирующих излучений в разных дозах.

Методика и техника выделения и использования индуцированных мутантов

Селекционный процесс с применением мутагенов в значительной мере модифицируется в зависимости от следующих факторов: 1) использования крупных или малых мутаций; 2) непосредственного отбора мутантов или привлечения их в качестве родительских форм для скрещивания; 3) генетической природы мутантов (плейотропия и мутации разных генов); 4) а также от того, проявляются ли мутации фенотипически в разных условиях, или для их выявления нужны специальные агрофоны и анализы.

Естественно, что здесь мы можем привести лишь общую схему, общий порядок работ, которые могут существенно изменяться в зависимости от поставленной задачи, местных условий и возможностей.

Подготовка материала. Обычно для получения мутантов с хозяйственно ценными признаками привлекают лучшие, высокопродуктивные сорта, приспособленные к местным условиям. Надо полагать, что чем совершеннее сорт, чем больше в его генотипе накоплено полезных генов, тем вероятнее результативность его использования для получения желаемых мутантных форм, свободных от тех или иных отдельных недостатков.

При специальных задачах привлекают, как это отмечалось ранее, дикие и примитивные формы, чтобы, устранив путем мутагенеза отрицательные признаки, использовать их мутанты для скрещивания.

Желательно сочетать в одном организме комбинативную и мутационную изменчивость, генетическая природа которых, как отмечалось ранее, различна. Это усилит многообразие наследственно измененных форм, возникающих во втором поколении. Для селекционера

неважно, является ли нужная ему форма гибридом или мутантом, важно, чтобы возможность ее отбора при удачно подобранных родительских парах увеличивалась.

В результате скрещивания гибридные семена часто бывают щуплыми, недоразвитыми. Поэтому для них должны применяться дозы и концентрации мутагенов примерно в два раза ниже обычных. Учитывая ограниченность сведений о чувствительности к мутагенам таких семян, целесообразно предварительно провести лабораторные опыты, с тем, чтобы резко не снизить всхожесть в M_1 . Если от скрещивания семян собрано мало, то следует использовать семена, полученные от растений F_1 .

Можно облучать семена, пыльцу и целое растение. Чаще всего практикуется острое облучение (в один прием) или обработка химическими мутагенами зрелых семян. Облучение растений в течение периода вегетации на специальных гамма-полях имеет свои положительные стороны.

Если обработка мутагенами ведется с целью получения перестроек хромосом для разрыва сцепленных локусов, находящихся в одной хромосоме, то это лучше делать во время образования половых клеток (мейоз).

Зрелые семена исходного образца должны обладать нормальной всхожестью и быть свободными от различных механических и гибридных примесей с тем, чтобы в дальнейшем они не были приняты за мутации.

Как мы уже отмечали, концентрации химических мутагенов и дозы ионизирующих излучений не должны быть высокими, так как это обеспечит выживание большего количества растений, и в конечном счете позволит чаще обнаружить хозяйственно ценные мутанты. Между обработкой семян мутагенами и их высевом не желателен большой разрыв во времени с тем, чтобы не увеличивать повреждающий эффект.

Первым мутантным поколением (M_1) называются растения, выросшие из семян, обработанных мутагенами. Ко второму поколению относятся семена, сформировавшиеся на растениях M_1 , и выращенные из них растения. Каждое последующее поколение обозначается заглавной буквой M с прибавлением внизу соответствующей цифры — M_3 , M_4 , M_5 и т. д. Буква M обозначает, что исходные семена были обработаны каким-либо мутагеном, а стоящая рядом цифра указывает на поколение

Первое поколение. Семена, обработанные мутагенами, высевают, чтобы получить второе поколение, среди которого будут отбираться мутанты.

Обычно для различных экспериментов в первом поколении высевают столько семян, чтобы получить 250—500 плодоносящих растений, а следовательно, иметь такое же или большее количество семей в M_2 . Учитывая возможность гибели семян под воздействием мутагенов и других причин, как правило, в каждом варианте с методическими опытами высевают от 700 до 1500 всхожих семян. Если для селекционных целей нужны мутанты только с хозяйственно ценными и часто определенными признаками, этого объема недостаточно.

Возможность получения желаемых мутантов обуславливается взаимоотношением ряда факторов. Поэтому указать конкретное число семян, которое должно быть высеяно в M_1 , трудно. Также как и при гибридизации, вероятность выделения нужных форм повышается с увеличением числа растений в M_2 . Ориентировочно здесь надо иметь от 1 до 1,5 тыс. семей, или 20—30 тыс. растений. Следовательно, для селекционных целей в M_1 желательно высеять от 2 до 4 тыс. семян, подвергнутых мутагенному воздействию. Эта цифра может меняться в ту или иную сторону в зависимости от эффективности мутагена, его дозы или концентрации, полезной мутабельности сорта, условий выращивания и других причин.

Растения, выращенные из семян, в зародыше которых произошла мутация, по своему строению химерны, то есть их ткани генетически не однородны. Одни клетки несут в своих хромосомах мутации, другие нет. Обычно ткани с мутантными клетками развиваются слабее. Они могут угнетаться, заглушаться клетками неизменной ткани. Происходит внутрисоматический отбор. Участки клеток с мутациями на разных фазах развития могут отставать в росте и не достигать генеративных органов. В результате такие растения дают семена с наследственностью, свойственной исходному сорту. Когда клетки с хромосомами, имеющими мутации, достигают цветков, то возникают яйцеклетки и пыльца двух типов — неизменные и мутантные. Если неизменные пыльцевые зерна оплодотворяют неизменные яйцеклетки, то образуются семена исходного сорта. Когда гаплоидный набор хромосом с рецессивной мутацией соединяется с

исходным гаплоидным набором, то возникают гетерозиготные организмы по данной мутации. В последующем поколении (M_2) с связи с рецессивностью они не выявляются.

В тех случаях, когда мутантные гены будут и в яйцеклетке и в оплодотворяющей ее пыльце, возникают гомозиготные рецессивные мутации, которые фенотипически проявляются во втором поколении. Если же возникла доминантная мутация, что бывает редко, то она проявится в первом поколении.

В зависимости от того, какое количество мутантных тканей участвовало в формировании колоса или цветочной кисти, в них может сформироваться большее или меньшее число семян, несущих мутации в гомозиготном или гетерозиготном состоянии. опыты показывают, что в пределах одного растения, если его ткани несут мутацию, она редко распространяется больше, чем на один колос. У зерновых бобовых обычно мутации несут отдельные ветви, а не целое растение.

Когда мутагенному воздействию подвергается пыльца, то мутации в гетерозиготном состоянии несут все растения, оплодотворенные пылью с измененными хромосомами, но так как мутации обычно рецессивны, то фенотипически они проявляются только среди растений второго поколения.

В результате мутагенных воздействий то или иное количество семян может совсем не всходить. У других задерживаются ростовые процессы и они гибнут позднее. В некоторых хромосомах появляются различные нарушения, которые могут в процессе мейоза приводить к стерильности. Степень выраженности этих явлений зависит от механизма действия мутагена и будет нарастать с увеличением его дозы или концентрации. Надо отметить, что между степенью стерильности и мутабельности сорта корреляция отсутствует.

При выращивании растений на высоко плодородном фоне ослабленные проростки гибнут меньше, они легче сохраняются и плодоносят. Участки с мутантными клетками в благоприятных условиях имеют больше возможностей достигнуть генеративных органов и образовать семена. Недостаточное питание или водоснабжение, наоборот, увеличивает гибель ослабленных проростков, а также отрицательно сказывается на развитии мутантных тканей (усиливается внутрисоматический отбор).

В результате снижается вероятность того, что генеративные органы целиком или частично будут состоять из мутантной ткани, а следовательно, уменьшается возможность появления мутантных растений. Вот почему для растений первого поколения на всех и особенно на первых фазах роста очень важно обеспечить оптимальные условия питания и водоснабжения.

Под влиянием сильного воздействия мутагенов клеточное деление верхушечной и корневой меристемы угнетается, поэтому семена должны заделываться мелко.

В опыте с сортом яровой пшеницы *Диамант* всхожесть семян, облученных очень высокой дозой гамма-лучей (40 кр), при заделке на 2—3—4 см была 100—96%, а при углублении до 8 см — только 70% (Батыгин и Савин, 1966). По другим наблюдениям этих автоценных дозами 20 кр гамма-лучей, весили при выращивании на бедной дерново-подзолистой почве 1,9 г, на песке с питательным раствором — 2,4 г, а на измельченном керамзите — 2,6 г. В опытах нашей лаборатории с яровым ячменем семена многих сортов ежегодно облучали гамма-лучами в дозах 8—10 кр. В течение трех лет растения из этих семян выращивали в полевых условиях, при этом на плодородной почве их выживало 60—85% от контроля, а на лесном подзоле — 15—50%.

Еще отчетливее значение высокого агрофона можно было наблюдать на искусственно созданной плодородной почве. Здесь в 1965—1966 гг. при должном увлажнении взошло 80—95% семян, которые дали хорошо развитые растения.

Эти и другие наблюдения говорят о том, что хорошие условия питания и увлажнения в той или иной мере уменьшают повреждающий эффект мутагенов. Чем выше доза или концентрация, или другие факторы, понижающие жизнеспособность семян, тем оптимальнее должны быть условия, особенно для прорастающих семян и их всходов. Чтобы создать такие условия и выравненный агрофон, мы пользуемся деревянными рамами размером 5×1 м с высотой бортов в 20—30 см. Их заполняют плодородной почвой и располагают рядом с источником воды. Часто семена *М₁* выращивают в ящиках с плодородной почвой. В фазе начала кущения растения пересаживают в поле. Но не всякое растение переносит пересадки. Если почва достаточно плодородна,

то посев можно производить прямо в грунт, создавая оптимальные условия увлажнения.

Как мы отмечали, в результате воздействия на семена физическими и химическими мутагенами пыльца нередко бывает стерильной и наблюдается открытое цветение даже у таких строгих самоопылителей, как ячмень и горох. В итоге легко может произойти естественная гибридизация. В опытах Г. А. Дебелого с горохом при облучении растений гамма-лучами у сорта с зеленой рецессивной окраской наблюдалось появление желтых семян. При дозах 5—7—10 кр их было в 2—3 раза больше, чем в контроле, а при дозе 12 кр — больше в 10 раз. Разное количество естественных гибридов у сортов ярового ячменя мы наблюдали, воздействуя на сухие семена гамма-лучами в дозе 10 кр. Особенно это было свойственно двум японским формам, которые и в естественных условиях дают гибриды чаще, чем другие ячмени. Поэтому, если намечаются какие-либо исследования, где необходимо устранить появление естественных гибридов, надо каждый сорт хорошо изолировать. Когда позволяют условия, это можно обеспечить с помощью высокорослых растений. Например, в Восточном Казахстане В. И. Молин этого с успехом достигал, обсеивая каждый сорт и вариант первого поколения яровой пшеницы высокорослыми формами подсолнечника.

Колосовые культуры высевают с междурядьями 15—20 см. По наблюдениям Х. Гауля (1965) и других исследователей, мутации чаще возникают в колосьях, развивающихся из клеток зачатков колосьев, находящихся в зародыше, которые были непосредственно облучены. Развивающиеся из таких клеток первые колосья будут иметь больше мутаций, чем образовавшиеся позднее из недифференцированной ткани. Вот почему в первом поколении рекомендуется выращивать много растений, но с кущением не более 3—4 стеблей. Имеются данные согласно которым в загущенных посевах сильнее идет внутрисоматический отбор, а следовательно, и гибель тканей, несущих клетки с мутациями.

Для культур, высеваемых широкоявно, используется обычный способ посева, чтобы каждое растение могло развиваться достаточно хорошо.

При относительно высоких дозах или концентрациях, особенно критических, могут быть различные нарушения в развитии растений. Помимо изреженности всходов, за-

держивается рост, появляются разные деформации листьев, стеблей и цветков, удлиняется вегетационный период.

Опыты нашей лаборатории и наблюдения других авторов показывают, что растения с такими болезненными явлениями (морфозами) дают в M_2 примерно столько же мутаций, как и нормальные (табл. 12).

Таблица 12
Частота семей с новообразованиями в M_2 от больных и здоровых растений из M_1

агороха	Этиленмин 0,03 %-ный		γ-лучи, 10 кр	
	больные (морфозы)	здоровые (нормаль- ные)	больные (морфозы)	здоровые (нормаль- ные)
Торсдаг	15,6	15,8	14,8	12,5
Ползунок	11,6	11,4	—	—
Японская форма	4,7	3,3	—	—

Различий в спектре мутаций от больных и здоровых растений тоже не наблюдалось. В M_1 нет оснований отдавать предпочтение ни ослабленным, ни нормальным растениям.

Если посев проводят только для селекционных целей, то повторности не обязательны. Надо лишь рядом с семенами, обработанными мутагенами, высевать в качестве контроля семена исходного сорта. Когда хотят получить какие-либо экспериментальные данные, то целесообразно каждый вариант высевать в трех повторениях (рис. 8).

Все растения первого поколения желательно обмолачивать отдельно, чтобы во втором поколении получить индивидуальное потомство (семью) каждого растения. Для колосовых обычно рекомендуют высевать отдельно потомство каждого колоса. Такой посев облегчает выделение мутаций, особенно с нечеткими отличиями от исходного сорта.

Но в селекционной практике часто в первом поколении все растения каждого сорта или варианта убирают

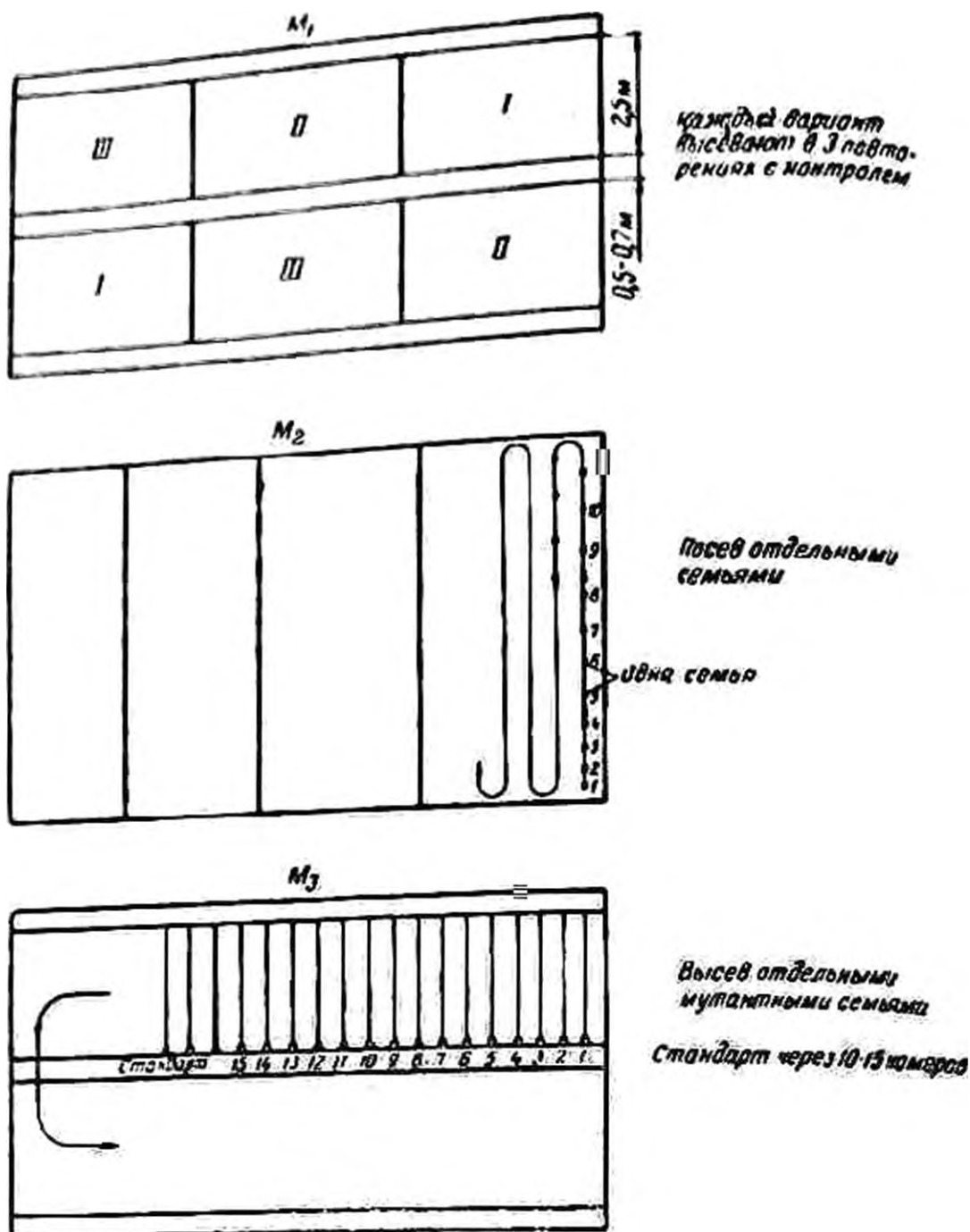


Рис. 8. Примерная схема посева первого, второго, третьего поколений для получения мутантов у самоопыляющихся ширококорядно высеваемых растений (ориг.).

и обмолачивают вместе, поскольку технически это проще. Удалять слаборазвитые и мелкие семена нельзя, так как они могут быть носителями ценных мутаций.

Степень повреждающего эффекта, вызванного мутагенами в M_1 , устанавливают по следующим показателям:

1) по количеству перестроек в метафазе или анафазе первого митоза хромосом. Работы последних лет показали, что для правильного учета возникающих повреж-

дений анализ надо проводить не 1 раз, а несколько, по мере роста корня (но в пределах одного митоза);

2) по снижению полевой всхожести;

3) по задержке роста в начале вегетации — у колосовых не позднее фазы кущения, а у бобовых — в начале ветвления;

4) по процентному соотношению всходов нормальных и в разной степени деформированных;

5) по гибели растений во время вегетации после появления всходов и позднее (отдаленная гибель).

Цитологический анализ хорошо показывает повреждающее действие мутагенов. Количество различных нарушений в хромосомах достаточно часто коррелирует с угнетением роста, поэтому степень задержки роста в начале вегетации считается одним из наиболее четких полевых показателей повреждающего эффекта.

И. А. Рапопорт и его сотрудница Н. Н. Зоз (1966), Б. Шарма (1966), работая с высоко активными мутагенами, нередко находят доминантные мутации в первом поколении и рекомендуют здесь проводить их отбор. Вместе с тем в селекционной практике и в различных экспериментах мутантов выделяют обычно во втором поколении, поскольку они, как правило, бывают рецессивными. Сейчас вряд ли можно рекомендовать отбор мутантов в первом поколении. Нужны специальные проверочные опыты, чтобы выяснить, для каких культур и при каких мутантных воздействиях целесообразно выделять мутации в M_0 .

Второе поколение. Посев второго поколения для целей селекции может быть использован следующим образом:

1) для отбора мутантов с хозяйственно ценными признаками;

2) для отбора нормальных и хорошо развитых растений и выделения из них малых мутаций в следующем поколении (см. схему, рис. 9);

3) для отбора небольших средних проб из каждой семьи или варианта и посева их в следующем году с целью выделения в третьем поколении рецессивных мутаций, перешедших в гомозиготное состояние.

Вероятность выделения мутантов с нужными признаками возрастает главным образом с увеличением числа семей, а не количества растений в семье. В каждой семье обычно высевают у колосовых до 20—25 семян, а у

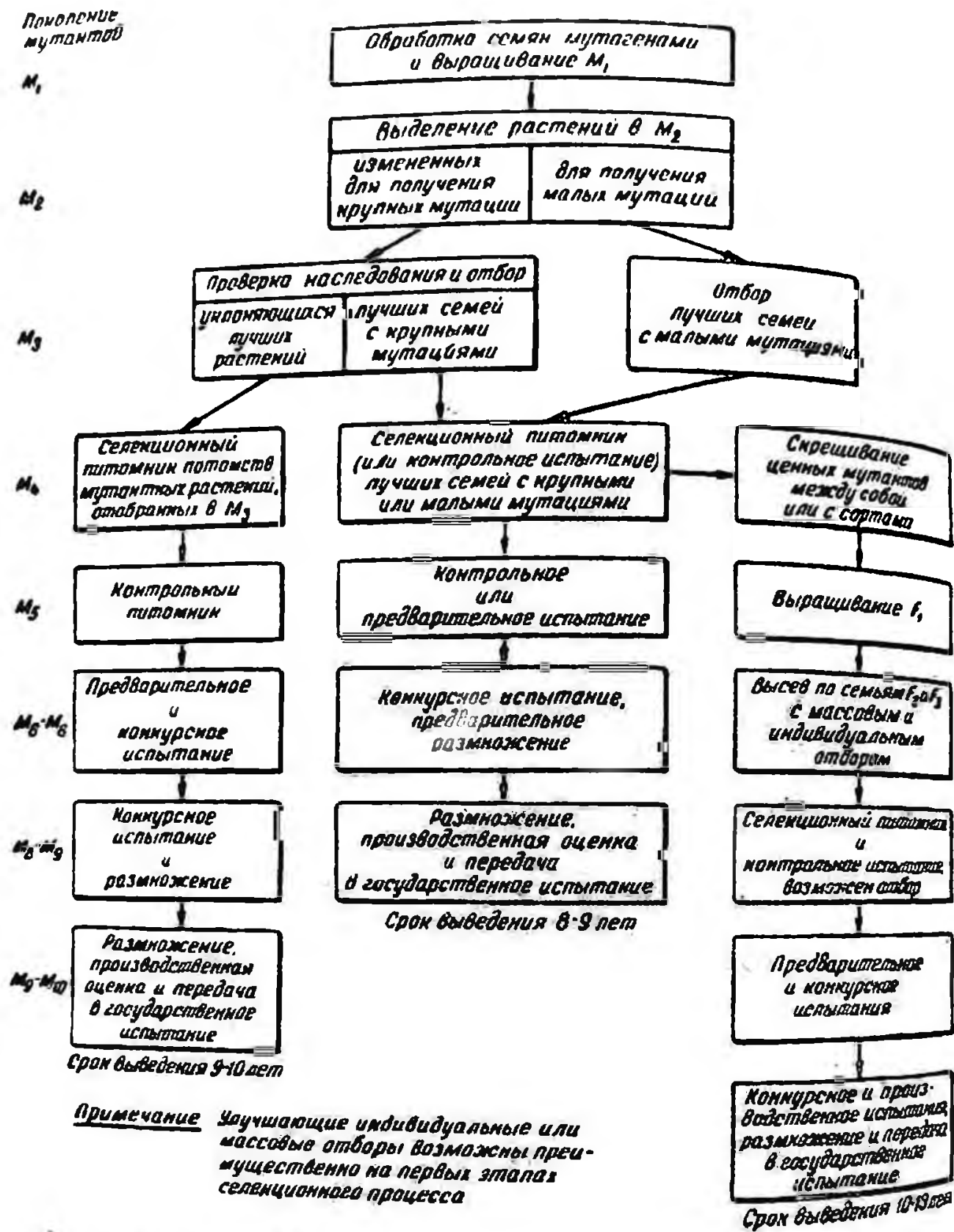


Рис. 9. Схема использования индуцированного мутагенеза в селекции растений-самоопылителей (ориг.).

зерновых бобовых до 30—50 семян. При ограниченных возможностях надо уменьшить не число семей, а количество семян в одной семье. Для удобства посева в пределах каждого сорта или варианта у зерновых бобовых предварительно подсчитывают в каждой семье число семян, после этого семьи распределяют на группы с одинаковым числом семян. Это облегчает посев большого количества семей.

Когда сеют не по семьям, в M_2 получается несколько больших делянок. Это в известной мере снижает возможность отбора мутантов, особенно с мало отличимыми признаками. Здесь особенно важно обеспечить всем растениям одинаковую площадь питания и другие условия, от которых зависит рост, чтобы свести к минимуму влияние различных факторов, усиливающих модификационную изменчивость. Последняя, естественно, затрудняет выявление и отбор мутантов, так как различные не наследственные изменения могут приниматься за наследственные.

Площадь питания создают такую, чтобы растения были достаточно хорошо развиты. Для колосовых можно устанавливать междурядья 20—25 см с размещением растений в ряду через 2—4 см. Для зернобобовых мы берем междурядья 60—70 см, высевая на 1 м 10—20 семян. Чтобы можно было хорошо осмотреть каждое растение и упростить посев, такие культуры, как горох, соя, фасоль, нут, мы высеем челночным широкорядным методом. Подсчитав заранее число семян в каждой семье, полевые колышки расставляем до посева. Целесообразно через 50—100 м делать поперечные дороги шириной 1,5—2 м. Такой способ посева позволяет высевать любое количество семян в семье. При этом не бывает пустых мест, не приходится подсевать семена других культур, например к фасоли чечевицу, чтобы создавать равномерную густоту стояния всех растений.

Чтобы свести к минимуму различные модификационные отклонения и этим повысить достоверность выделения мутаций, очень важно иметь хорошо выравненный по микрорельефу и плодородию участок.

Каждому генотипу присуща своя норма реакции на факторы внешней среды, следовательно, фенотип мутантного растения в определенных условиях — это одна из возможностей реализации его генотипа в свойствах и признаках. Поэтому, когда ставят какую-либо специаль-

ную задачу, например получить сорт, устойчивый к определенным болезням, полеганию, вымоканию, понижением требованиям к теплу или морозам, то, так же как и при работе с гибридами, второе поколение надо высевать на соответствующем провокационном фоне, чтобы создать условия, способствующие фенотипическому проявлению мутаций с нужными признаками.

Подавляющее большинство растений второго поколения внешне не отличается от исходного сорта, и среди них не удастся выделить мутаций. Фенотипически выраженные мутации присущи растениям, составляющим доли процента или несколько процентов. Их можно заметить по отдельным признакам или комплексу их. Обычно мутанты рецессивны, но изредка встречаются доминантные и полудоминантные. Каждая мутация может быть в гомозиготном или гетерозиготном состоянии.

Когда в процессе оплодотворения гомологичные хромосомы, имеющие одни и те же рецессивные мутации и в мужской и в женской гамете, попадают в одну зиготу, то в их потомстве возникают гомозиготные мутации (с одинаковым строением аллельных генов). В дальнейшем они по этим признакам не расщепляются.

Мутанты в зависимости от мутабельности исходного сорта, эффективности мутагена и других условий встречаются в большем или меньшем числе семей и обычно бывают представлены в семье одним, реже 2—4 растениями, очень редко больше. Если мутанты в одной семье относятся к разным типам, то такие мутации называются множественными. Выделяют мутанты преимущественно во втором поколении, но они выявляются и в последующих потомствах, особенно у полиплоидов.

Мутанты с хозяйственно ценными признаками обычно бывают представлены единичными растениями.

В опытах В. В. Хангильдина (1966) с горохом после обработки семян рентгеновыми лучами в M_2 на 100 семей возникло 1—1,5 мутанта, которые можно было использовать для селекции. У арахиса, по данным Грегори (1955), под воздействием излучений один мутант, превышающий исходный сорт по продуктивности, возникал среди 500—5000 растений. Поскольку в каждой семье M_2 растений мало, отсутствие расщепления в доминантных мутациях не позволяет уверенно считать их гомозиготными или гетерозиготными. То же относится и к полудоминантным мутациям. Если они гетерозиготны, то у

них будет наблюдаться расщепление в следующем поколении.

Когда в хромосомах имеются существенные нарушения (транслокации и др.), часто вообще не удастся отобрать константные формы в ряде поколений.

Крупные мутации, не расщепляясь по признакам, по которым они были выделены, могут быть гетерозиготны по другим полезным и вредным малым рецессивным мутациям. Они будут выщепляться в последующих поколениях и могут представлять существенный интерес для последующих отборов (см. рис. 9).

Семена, полученные с растений M_1 , — это уже организмы второго поколения. Выделение мутаций у бобовых, семядоли которых являются первыми листочками нового растения, можно начинать с семян, образовавшихся на растениях M_1 . В опыте В. В. Хангильдина (1966) из 217 семян гороха, отобранных по цвету, форме и крупности, 24 дали растения, оказавшиеся измененными по габитусу, что составило 30% от всех видимых мутаций, обнаруженных во втором поколении.

Изменение по химическому составу обнаруживается при анализах нескольких сотен и более растений M_2 .

В опытах нашей лаборатории, чтобы выделить высокобелковые мутанты сои Амурской 262 в M_2 , было проанализировано 562 растения. Анализ проводил наш сотрудник И. М. Базавлук по разработанной им ускоренной методике, при которой один опытный лаборант может с достаточной точностью за семичасовой день сделать до 50 анализов.

Учитывать мутации можно следующими тремя способами.

1. Процент мутантных растений. Учет ведется от всего числа растений в M_2 в данном сорте или варианте. Например, если в сорте было всего 10 тыс. растений и из них мутантов 58, то процент мутировавших растений составит 5,8. Это единственный метод учета, если посев M_2 проведен не по семьям, а целой популяцией-делянкой одного сорта или варианта.

2. Процент семей с мутациями. Например, всего семей в варианте было 500. Если среди них с одним и более мутантными растениями обнаружено 80 семей, то процент семей с мутантами будет равен 16.

3. Число мутантов на 100 семей. Например, среди 500 семей имеются 40 с одним измененным растением, 20 —



Рис. 10. Сравнение различных способов учета мутаций:

1 — процент мутантов ко всему числу растений в M_1 ; 2 — процент семей с мутациями к числу их в M_1 ; 3 — число мутантов на 100 семей; К — контроль; Г — гамма-лучи; НЕ — быстрые нейтроны; ЭИ — этиленмин; ДЭС — диэтилсульфат; НИМ — N-нитрозометилмочевина (по Б. Шарма, 1966).

с двумя разными типами (признаками) изменений, 10 — с тремя и 10 — с четырьмя. Следовательно, мутантов различных типов в 80 семьях было всего 150. А в среднем на 100 семей приходится 30 мутантных случаев (150 : 5). Такой способ имеет преимущество перед вторым, так как здесь точнее отражается сортовая мутабельность или эффективность мутагена, поскольку учитывается множественность мутаций, то есть случаи, когда в одной семье возникают мутации более одного типа. Если в семье имеется два или более однотипных мутанта, то их принимают за одну мутацию.

Чем чаще будут встречаться семьи больше чем с одной мутацией разных типов, то есть больше будет случаев множественных мутаций, а следовательно, чем мутабельнее будет сорт или эффективнее мутаген, тем заметнее будут различия в учете по двум последним методам. Разные результаты методов учета видны из графика, показывающего эффективность нескольких мутагенов на сорте гороха Крупноплодный Г-2 (рис. 10). По третьему способу учета значительно отчетливее виден более высокий выход мутаций под влиянием диэтилсульфата и нитрозометилмочевина, чем при действии других мутагенов.

Обычно во втором поколении наблюдений не проводят. Следует лишь иметь полевой журнал, в который записывают номера семей и число растений в каждой из них. Для тех семей, где были найдены измененные растения, отмечают, по каким признакам выделено расте-

ние, и дают им соответствующий номер. На растении прикрепляют пергаментную этикетку с указанием номера семьи, номера растения (если их в семье больше одного) и основных признаков, по которым выделен мутант. Если посев проведен не по семьям, а по сорту в целом, то измененным растениям надо давать номера в нарастающем порядке, записывая и в тетрадь и на этикетку. В журнале и на этикетке ставят инициалы лица, выделившего мутант, и дату.

Третье поколение. На посевах третьего поколения проводят следующие работы:

1) выясняют, какие из измененных форм, выделенных в M_2 по внешним признакам или химическому составу, являются мутантными;

2) их оценивают с селекционной точки зрения, как это делают в селекционных питомниках;

3) в семьях, выделенных в M_2 как крупные мутации, проводят проверку на константность. Там, где имеется расщепление, отбирают ценные формы и выбраковывают с нежелательными признаками;

4) на основании полевых наблюдений и лабораторных анализов в первом приближении отбирают малые мутации по нужным признакам;

5) большое внимание уделяют выделению мутантов, представляющих интерес как родительские формы для скрещивания.

Посев производят семьями по обычной методике, используемой в селекционных питомниках. Для крупных мутаций через 10—15 делянок высевают в качестве контроля исходный и районированный сорт. Чтобы отобрать формы с малыми мутациями, следует для сравнения высевать только исходный сорт, но располагать его чаще — через 5—10 делянок. Отбирать такие мутанты надо на основании полевых учетов и лабораторных анализов, сравнивая каждую из 5 или 10 делянок с контролем (средним из двух соседних контролей). Естественно, что эти данные будут недостаточно достоверны, поскольку размер делянок мал, а повторность отсутствует. Поэтому очень важно иметь хорошо выравненный участок.

Все наблюдения, учеты и анализы нужно делать в соответствии с поставленной задачей.

Четвертое поколение. Если в M_3 основное внимание уделяется проверке и выделению мутантов, то здесь уже

начинается их испытание. Схематически можно наметить такие направления работы.

1. Испытание форм, выделенных в M_3 как лучшие. Если имеется достаточное количество семян, то их надо включить в контрольное испытание, если семян мало — помещают в селекционный питомник, желательно с двумя-тремя повторениями. В этих питомниках среди выделенных семей могут появляться новые мутанты. В таких семьях надо провести негативный и позитивный отборы.

2. Отдельные растения с хозяйственно ценными рецессивными мутантами, выделенными в M_3 , включают в селекционный питомник первого года.

3. Скрещивают мутанты между собой, с исходным или другим сортом. Это позволяет вовлекать мутанты в создание новых и улучшение существующих сортов. В частности, перспективны скрещивания исходного сорта с мутантами, которые превосходят его по тем или иным нужным признакам, хотя продуктивность мутантов может быть снижена.

Первый американский производственный сорт фасоли, полученный с использованием ионизирующих излучений, — Санилак. Он превосходит выющийся исходный сорт Митчелайт по строению куста, скороспелости, а главное — устойчивости к основным болезням. Санилак выведен в результате скрещивания мутанта, обладающего этими признаками, с исходным сортом.

В нашей лаборатории при скрещивании исходного сорта гороха с низкорослым его мутантом, отличающимся повышенной ветвистостью, но не высокой продуктивностью, выщепились гибриды, сочетающие в себе повышенную ветвистость мутанта и продуктивность исходного сорта. Гибриды некоторых мутантов с исходным сортом помидоров, как показал Г. Штуббе, дают гетерозисный эффект.

Скрещивания с участием мутантов целесообразнее начинать в четвертом поколении. В M_3 , как правило, растений в семье бывает мало, что затрудняет проведение гибридизации в должном объеме. Кроме того, по ряду признаков в M_4 мутанты, намеченные для скрещивания, можно оценить дополнительно. Естественно, что при сочетании гибридизации и мутагенеза сроки выведения сорта удлиняются до 11—12, а может быть, и большего числа лет.

Последующие поколения. Можно считать, что с пятого поколения селекционная работа с мутантами и гибридами практически идет по одной и той же схеме. Здесь продолжаются различные испытания и оценки выделенных форм. Возможно выщепление новых мутантов и проведение отборов.

Как показывает составленная нами схема селекционного процесса (рис. 9), на выведение сорта путем непосредственного отбора крупной или малой мутации, если она была удачно выделена в третьем поколении, потребуется 8—9 лет. Когда исходное растение отобрано в расщепляющейся семье третьего поколения, то, естественно, срок создания сорта соответственно удлинится на 1—2 года.

Выше мы указывали на целесообразность воздействия мутагенами на гибридные семена, характеризующиеся наибольшей гетерозиготностью и сочетающие генотипы двух родительских форм. При этом срок селекции будет на 2—4 года больше, чем при использовании обычных негибридных облученных семян. Это зависит от сложности расщепления и методики отбора нужных форм.

Опыт нашей лаборатории с горохом и соей, а также данные шведских ученых показывают, что одни и те же мутанты будут вести себя различно по урожайности и другим признакам в разных почвенно-климатических зонах.

Вот почему продуктивные мутанты, ценные для селекции, начиная с четвертого или пятого поколения, следует испытывать в опытных учреждениях различных климатических зон.

Надо полагать, что в самые ближайшие годы интенсивно ведущиеся генетические исследования в разных странах мира позволят еще эффективнее использовать экспериментальный мутагенез в селекции растений и в ряде случаев сократить сроки выведения сортов.

ЛИТЕРАТУРА*

Ауэрбах Ш. Роль мутагенной специфичности в получении мутаций. «Генетика» № 1, 1966.

Бартошевич Ю. Э. Этиленимины и мутационный процесс. В кн. «Супермутагены». Изд-во «Наука», М., 1966.

Батыгин Н. Ф., Савин В. Н. Использование ионизирующих излучений в растениеводстве. Изд-во «Колос», Л., 1966.

Валева С. А. Данные о радиочувствительности сельскохозяйственных культур. «Биофизика», т. V, вып. 2, 1960.

Васильев И. М. Действие ионизирующих излучений на растения. Изд-во АН СССР, М., 1962.

Густафссон А., Тедин О. Селекция растений и мутации. В кн. «Радиоактивные излучения и селекция растений». ИЛ, М., 1957.

Дебелый Г. А. Получение мутантов гороха под воздействием различных мутагенных факторов. Симпозиум по экспериментальному мутагенезу животных, растений и микроорганизмов. (Тезисы). М., 1965.

Дидусь В. И. Искусственные и естественные мутации у ячменя. Записки Харьковского с.-х. ин-та, т. 1, вып. 1, 1938.

Дубинин Н. П., Глембоцкий Я. Л. Генетика популяций и селекция. Изд-во «Наука», М., 1967.

Зоз Н. Н. Химический мутагенез у высших растений. В кн. «Супермутагены». Изд-во «Наука», М., 1966.

Енкен В. Б. Роль генотипа в экспериментальном мутагенезе. «Генетика» № 2, 1965.

Енкен В. Б., Сидорова К. К. Опыт сравнения на горохе мутагенного действия гамма-лучей, этиленимина и этилметансульфоната. В кн. «Влияние ионизирующих излучений на наследственность». Изд-во «Наука», М., 1966.

Конгер А. Д. В кн. «Восстановление клетки от повреждений». Атомиздат, М., 1963.

Лещенко А. К. Экспериментальное получение мутаций у сои. В кн. «Масличные культуры». Краснодар, 1945.

Лутков А. Н. Мутации и их значение для селекции. В кн. «Теоретические основы селекции растений». Т. I. Сельхозгиз, М.-Л., 1935.

Макарова С. И. Некоторые закономерности действия N-нитроалкилмочевин на растения. В кн. «Супермутагены». Изд-во «Наука», М., 1966.

Мак-Кей Дж. Использование мутаций в селекции полиплоидных злаков. В кн. «Радиоактивные излучения и селекция растений». ИЛ, М., 1957.

* Приведен сокращенный список литературы.

- Моложаева В. С. Использование радиомутантов озимой пшеницы в селекционной работе. В кн. «Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции». Изд-во «Наука», М., 1966.
- Мюнтцинг А. Генетические исследования. ИЛ, М., 1963.
- Надсон Г. А., Филиппов Г. С. О влиянии рентгеновых лучей на половой процесс и образование мутантов у низших грибов. «Вестник рентгенологии и радиологии» № 3, 1925.
- Найлен Р. А. Природа индуцированных мутаций у высших растений. «Генетика» № 3, 1967.
- Пухальский А. В. Результаты хронического гамма-облучения различных видов и сортов пшениц. В кн. «Ионизирующие излучения в растениеводстве». Краснодар, 1966.
- Рапопорт И. А. Карбонильные соединения и химический механизм мутаций. ДАН СССР, т. 54, № 1, 1946.
- Рапопорт И. А. Химический мутагенез. Теория и практика. Изд-во «Знание». М., 1966.
- Сальникова Т. В., Зоз Н. И. Типы доминантных мутаций, вызванных химическими мутагенами. В кн. «Супермутагены». Изд-во «Наука», М., 1966.
- Сапегин А. А. Рентгеномутации, как источник новых сортов сельскохозяйственных растений. «Природа», № 9, 1934.
- Сахаров В. В. Йод как химический фактор, действующий на мутационный процесс *Drosophila melanogaster*. «Биологический журнал», т. II, 1932.
- Соболев Н. А. Применение химических мутагенов в селекции зерновых бобовых культур. В кн. «Супермутагены». Изд-во «Наука», М., 1966.
- Тедорадзе С. Г. Использование радиомутантов фасоли и сои в селекционной работе. В кн. «Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции». Изд-во «Наука», М., 1966.
- Хангильдин В. В. Радиационный мутагенез гороха. В кн. «Сборник работ аспирантов и молодых научных сотрудников». Уфа, 1966.
- Хангильдин В. В. Мутации гороха, вызванные рентгеновским и гамма-излучением. В кн. «Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции». Изд-во «Наука», М., 1966.
- Хвостова В. В. Сравнительный анализ мутагенного действия ионизирующих излучений и химических мутагенов на высшие растения. В кн. «Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции». Изд-во «Наука», М., 1966.
- Хвостова В. В. Индуцированные мутации и их практическое использование. «Генетика» № 10, 1966.
- Шарма Б. Сравнение действия N-нитрозометилмочевины с различными физическими и химическими мутагенами на горохе *Pisum sativum* L. В кн. «Супермутагены». Изд-во «Наука», М., 1966.
- Шарма Б. Влияние некоторых физических и химических факторов на мутационный процесс гороха (*Pisum sativum*). «Генетика» № 1, 1966.
- Шкварников П. К. Значение искусственного получения мутаций в селекции сельскохозяйственных растений. В кн. «Экспери-

ментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции». Изд-во «Наука», М., 1966.

Шкварников П. К., Черный И. В. Экспериментальные мутации у яровой пшеницы и их значение для селекции. «Радиобиология» № 2, 1961.

Штуббе Г. О связях между естественным и искусственно полученным многообразием форм и о некоторых экспериментальных исследованиях по эволюции культурных растений. «Генетика» № 11, 1966.

Черный И. В. Зависимость частоты мутаций от вида и дозы мутагенного фактора и сортовых особенностей яровой пшеницы. В кн. «Влияние ионизирующих излучений на наследственность». Изд-во «Наука», М., 1966.

Эйгес Н. С. Мутагенный эффект этиленimina и гамма-лучей при воздействии на воздушносухие семена озимой пшеницы. «Радиобиология», т. 4, вып. 1, 1964.

Эйгес Н. С. Мутагенный эффект разных концентраций этиленimina на озимой пшенице. В кн. «Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции». Изд-во «Наука», М., 1966.

Эллиот Ф. Селекция растений и цитогенетика. ИЛ, М., 1961.

Эльшунни К. А., Хвостова В. В. Разработка методов снижения повреждающего эффекта ионизирующих излучений при облучении семян яровой пшеницы. Докл. ТСХА, вып. 102, М., 1965.

Эльшунни К. А., Хвостова В. В. Мутации, полученные у яровой пшеницы Лютеценс 62 после воздействия быстрыми нейтронами и гамма-лучами с частичным снятием повреждающего эффекта излучений. «Генетика» № 6, 1966.

Янушкевич С. И. Влияние условий выращивания ячменя и пшеницы на устойчивость семян к облучению. В кн. «Предпосевное облучение семян сельскохозяйственных культур». Изд-во АН СССР 1963.

Auerbach C., Robson I. M. Chemical production of mutations. Nature, 157, 302, 1946.

Brook R. D. Induced quantitative variation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. In: 'Induced mutations and their utilization. Erwin Baur Memorial Lectures, IV, GGR, Gatersleben, 1966.

D'Amato P. D., Scarascia Mugnozza G. T., Bozzini A. Mutanti vitali di frumento duro ottenuti dal laboratorio per le applicazioni in agricoltura del C. N. E. N. con impiego di radiazioni ionizzanti e mutagene chimici. Genetica Agraria, 18, 132, 1964.

Ehrenberg L., Lundqvist U. and Ström G. The mutagenic action of ethyleneimine in barley. Hereditas 44, 1958.

Ehrenberg L., Gustafsson A. and Lundqvist U. Viable mutants induced in barley by ionising radiations and chemical mutagens. Hereditas 47, 1961.

Frey K. I. Mutation breeding for quantitative attributes. In: The use of induced mutations in plant breeding. Oxford, Pergamon Press, 1965.

Gaul H. Mutations in plant breeding. Radiation Botany, 4, 1964.

Gaul H. The concept of macro and micromutations and results on induced micromutations in barley. The use of induced mutations

plant breeding. Rep. of FAO/IAEA Technical Meeting, Rome, 1965. (a).
Gaul H. Induced mutations in plant breeding (1963). In: "Genetics today", vol. 3, 1965. (b).

Gregory W. C. The induction of useful mutations in the peanut. In: Genetics in plant breeding, Brookhaven Symp. in Biol., 9, 1956.

Heslot H. et Ferrary R. Action genetique comparee des radiations et de quelque mutagenes sur l'orge. Annales de l'Inst. National Agronomique 44, 1958.

Kuckuck H. The importance of induced mutations in wild and primitive types of cereals for phylogeny and plant breeding. In: The use of induced mutations in plant breeding. Oxford, Pergamon Press, 1965.

Nilan R. A., Konzak C. F., Increasing the efficiency of mutation induction. In: Symposium on mutation and plant breeding. Nat. Acad. Sci., Washington, 1961.

Sears E. R. The transfer of leaf — rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. Bookhaven Sympos. Biol., 9, 1956.

Stadler L. J. Some genetics effects of X-ray in plants. The J. of Heredity, 21, 1, 1930.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
История индуцированного мутагенеза и использование его в селекции	5
Материальные основы наследственности и некоторые генетические понятия	10
Экспериментальный мутагенез как метод селекции	16
Влияние наследственных особенностей исходного сорта на индуцированную мутационную изменчивость	25
Мутагены и их действие	37
Ионизирующие излучения	37
Химические мутагены	48
Методика и техника выделения и использования индуцированных мутантов	59
Литература	76

Енкен Вадим Борисович

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗА В СЕЛЕКЦИИ БОБОВЫХ И ДРУГИХ КУЛЬТУР. (Краткое пособие по самоопылителям).
М., изд. «Колос», 1967.
80 с.

УДК 631.52+633:581.154/075.8/

Редактор Л. И. Гоменюк.

Художник Е. Г. Байтман.

Художественный редактор С. Н. Томилин. Технические редакторы: В. М. Деева и З. П. Околелова.

Корректоры: М. Н. Перкус и Е. Г. Гордиенко.

Сдано в набор 23/VI 1967 г. Подписано к печати 15/IX 1967 г. Т 12651.
Формат 84×108¹/₃₂. Бумага тип. № 2. Печ. л. 2,5 (4,2). Уч.-изд. л. 4,41.
Изд. № 179. Т. п. 1967 г. № 57. Тираж 6500 экз. Заказ № 1447. Цена 18 коп.

Издательство «Колос», Москва, К-31, ул. Дзержинского, д. 1/19.
Гипография № 32 Главполиграфпрома. Москва, Цветной бульвар, 26.