

УДК 575.24:633.11:577.154.3

**АМИЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОРАСТАЮЩЕГО ЗЕРНА
У МОРФОЛОГИЧЕСКИХ МУТАНТОВ
ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ**

**Т. В. САЛЬНИКОВА, С. С. ДЕГТЯРЕВА,
Т. А. КЕТОВА, В. В. ПЫЛЬНЕВ**

(Кафедра селекции и семеноводства полевых культур)

Приводятся данные об амилазной активности и всхожести семян у спельтоидов, плотноколосых, скверхедов, сферококкоидов и компактумов, полученных с помощью химических мутагенов у сорта мягкой озимой пшеницы Белоцерковская 198.

Амилолитические ферменты являются важными факторами метаболизма. У пшеницы содержание α - и β -амилаз может отражать хлебопекарные качества муки, быть показателем устойчивости или не-

устойчивости сорта к прорастанию зерна на корню, кроме того, данные ферменты могут служить маркерами генетических систем. И α - и β -амилазы представлены различными типами изоэнзимов, при этом у гексаплоидной пшеницы по сравнению с другими ее видами отмечено наибольшее варьирование по типам изоэнзимов [15, 18, 20].

На ранних этапах изучения генетики амилаз пшеницы сложилось мнение, что амилазная активность — несортный признак и различия по нему можно выявить лишь на уровне генома [16]. Методами электрофореза и дискэлектрофокусирования было показано, что в контроле амилазной активности мягкой пшеницы участвуют многие хромосомы — 6D, 6A, 6B, 7D, 7A, 7B, 4D, 4A, 4B, 2D, 2A, 2B, 5A, 5B [10, 16, 17, 19, 20], причем, по данным одних авторов [20], различные типы изоэнзимов амилаз контролируются генами, локализованными в гомеологичных хромосомах, по результатам других исследователей [10], активность тех или иных типов изоэнзимов могут определять гены, локализованные как в гомеологичных, так и негемеологичных хромосомах.

Сложность изучения генетики амилотических ферментов заключается в том, что на различных этапах развития растений более активны разные формы фермента [12]. Так, несмотря на то, что β -амилаза составляет 0,5 % белка муки, а α -амилаза — лишь 0,1 %, активность последней при прорастании достигает 95—99 % общей амилазной активности [3]. Показано, что α - и β -амилаза прорастающего зерна, α -амилаза покоящегося зерна и незрелых зерновок контролируются моногенно, но разными генами (или локусами) [4, 9, 11]. Однако при анализе различных сортов мягкой пшеницы были найдены

аллельные варианты этих генов [7, 8, 10, 14]. Различия по β -амилазной активности у некоторых сортов пшеницы объясняют инсерцией или делецией последовательностей ДНК, которые граничат с районами, кодирующими β -амилазы [21], или дупликаций соответствующего гена [11].

Несмотря на большие трудности в идентификации генетических элементов, ответственных за активность амилаз, вследствие высококого полиморфизма этого признака, считают, что такие гены могут быть маркерными в определении генотипических особенностей сорта [1, 13] и индуцированных мутантов [1].

В некоторых работах [2, 8] предпринята попытка выявить характер наследования и сцепления генов, контролирующих амилазную активность, с генами, определяющими некоторые качественные (плотность колоса, окраска зерна, спектр глиадинов) и количественные (содержание белка, масса 1000 зерен, число и масса зерна с колоса) признаки.

Целью настоящей работы является установление связи между степенью амилазной активности прорастающего зерна и морфологическими особенностями индуцированных мутантов пшеницы.

Методика

В исследование включены различные типы морфологических мутантов, индуцированных у сорта Белоцерковская 198 химическими мутагенами. Суммарное содержание α - и β -амилаз по модифицированной методике [5] определяли на 3-й день прорастания зерна у 15 спельтоидных линий, 24 плотноколосых, 18 скверхедов, 12 сферококкоидов и у 6 компактумов. Принцип метода основан на извлечении амилаз из проростков пшеницы раствором хло-

ристого натрия и определении колориметрическим путем негидролизованного крахмала. Анализ проводили в 1989—1990 гг. Для него использовали зерно урожая 1987 и 1988 гг. Перед взятием проб учитывали всхожесть семян, поскольку она является косвенным показателем степени активности амилолитических ферментов того или иного сорта и образца.

Полученные результаты обрабатывали статистическими методами [6].

Результаты

Из табл. 1 видно, что в среднем всхожесть семян мутантов в годы исследований была ниже, чем у исходного сорта Белоцерковская 198. Тем не менее в каждой группе, кроме компактумов, имелись отдель-

ные линии, всхожесть которых не уступала таковой исходного сорта. Диапазон варьирования этого показателя в отдельные годы и в среднем за 2 года, а также коэффициенты вариации показывают значительную неоднородность по жизнеспособности мутантных линий в группах сферококкоидов, компактумов, спельтоидов. Некоторые плотноколосые линии также характеризовались сниженной всхожестью семян. Как известно, погодные условия могут в значительной степени влиять на формирование зерна, его качество и жизнеспособность, что и отмечалось в нашем эксперименте (табл. 1). При этом спельтоиды, сферококкоиды и компактумы оказались более чувствительными к неблагоприятным факторам, о чем можно судить по снижению всхо-

Таблица 1

Всхожесть семян у различных морфологических типов индуцированных мутантов у пшеницы сорта Белоцерковская 198

Показатель	1987 г.	1988 г.	Среднее за 2 года
<i>Спельтоиды</i>			
Всхожесть, %	93,54 ± 2,35	66,0 ± 5,56	79,77 ± 13,77
lim _{min} —max	76—100	20—94	20—100
V, %	9,08	32,64	—
<i>Плотноколосые</i>			
Всхожесть, %	93,52 ± 1,31	86,58 ± 2,81	89,76 ± 3,76
lim _{min} —max	78—100	50—100	50—100
V, %	6,41	15,88	—
<i>Скверхеды</i>			
Всхожесть, %	93,12 ± 1,5	88,89 ± 2,47	91,0 ± 2,11
lim _{min} —max	82—100	62—100	62—100
V, %	6,4	11,8	—
<i>Компактумы</i>			
Всхожесть, %	89,33—2,35	77,3—6,61	83,31—6,01
lim _{min} —max	78—94	52—94	52—94
V, %	6,44	20,92	—
<i>Сферококкоиды</i>			
Всхожесть, %	87,66 ± 4,13	69,5 ± 7,01	78,58 ± 9,08
lim _{min} —max	48—100	22—96	22—100
V, %	16,3	34,9	—
<i>Белоцерковская 198 (исходный сорт)</i>			
Всхожесть, %	94,0 ± 0,00	96,0 ± 0,00	95,0 ± 1,41

жести их семян, собранных в 1988 г.

Аналогично всхожести семян амилазная активность прорастающего зерна была неодинаковой как у различных линий, так и в разные годы (табл. 2). Хотя в среднем наблюдалась тенденция к снижению амилазной активности у линий в сравнении с исходным сортом, в каждой группе мутантов размах варьирования этого показателя чрезвычайно широк: есть формы со снижением амилазной активности в 3 раза по сравнению с уровнем у Белоцерковской 198, но

выявлены и мутанты, превосходящие исходный сорт. С сильно пониженной амилазной активностью (в 3 раза и более) наиболее часто встречались линии среди спельтоидов, с несколько менее пониженной (в 1,5 раза) — линии в группе плотноколосых, компактумов и сферококкоидов (30 % и более).

При сопоставлении значений всхожести семян и амилазной активности прорастающего зерна выявляется прямая их зависимость: линии, всхожесть семян которых снижена, характеризуются и пониженной активностью амилаз. В на-

Т а б л и ц а 2

Амилазная активность прорастающего зерна у различных морфологических типов индуцированных мутантов пшеницы сорта Белоцерковская 198

Показатель	1987 г.	1988 г.	Среднее за 2 года
<i>Спельтоиды</i>			
Суммарное содержание α - и β -амилаз	$3,86 \pm 0,41$	$5,59 \pm 0,47$	$4,72 \pm 0,86$
lim _{min} — max	2,15—6,45	2,4—8,8	2,15—8,8
V, %	38,48	32,66	—
<i>Плотноколосые</i>			
Суммарное содержание α - и β -амилаз	$5,71 \pm 0,25$	$5,74 \pm 0,32$	$5,72 \pm 0,01$
lim _{min} — max	3,25—7,9	2,13—8,55	2,13—8,55
V, %	20,21	27,13	—
<i>Скверхеды</i>			
Суммарное содержание α - и β -амилаз	$6,56 \pm 0,23$	$5,61 \pm 0,33$	$6,08 \pm 0,47$
lim _{min} — max	4,4—8,0	2,1—7,85	2,1—8,0
V, %	14,07	25,07	—
<i>Компактумы</i>			
Суммарное содержание α - и β -амилаз	$6,43 \pm 0,5$	$5,22 \pm 0,45$	$5,82 \pm 0,6$
lim _{min} — max	5,15—8,1	3,86—6,85	3,86—8,1
V, %	19,19	21,15	—
<i>Сферококкоиды</i>			
Суммарное содержание α - и β -амилаз	$5,78 \pm 0,35$	$7,38 \pm 0,58$	$6,58 \pm 0,8$
lim _{min} — max	3,4—7,5	2,1—9,5	2,1—9,5
V, %	21,4	27,3	—
<i>Белоцерковская 198 (исходный сорт)</i>			
Суммарное содержание α - и β -амилаз	$7,3 \pm 0,00$	$6,4 \pm 0,00$	$6,85 \pm 0,9$

шем исследовании это были в основном спельтоиды и ряд компактных, плотноколосых и сферококцидных мутантов.

Таким образом, проведенное исследование в первую очередь показывает, что каждый индуцированный мутант представляет собой новую форму с присущими ей своими особенностями. Изменения в морфологии колоса (или всего растения), сопровождаются и другими качественными и количественными изменениями его признаков и свойств, касающимися метаболизма, а следовательно, и физиолого-биохимических особенностей, продуктивности и жизнеспособности растения. Все это свидетельствует о множественности наследственных нарушений, происходящих при воздействии химических мутагенов и затрагивающих все жизненно важные для организма системы, в том числе и ферментные. Среди любого типа морфологических мутантов можно отобразить формы с повышенной амилазной активностью, положительно коррелирующей со всхожестью семян.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агимошое М. В., Мустьяца Н. В. Изоферментный состав α -амилаз озимой мягкой пшеницы в условиях активации и ингибирования роста проростков.— *Вопр. физиол. пшеницы*. Кишинев: Штиинца, 1981, с. 71—72.— 2. Дерканбаев Т. Б., Анцкеева Л. А., Фурсов О. В. Активность и изоферментный состав амилаз зерна озимой пшеницы в связи с биологическими особенностями сортов.— *С.-х. биол.*, 1980, т. 15, № 1, с. 116—119.— 3. Кабачный П. И., Коргунова Т. В. Ферменты амилотического комплекса в прорастающих семенах пшеницы.— *Химия природных сое-*

динений, 1988, № 5, с. 749—750.— 4. Нестеренко М. В., Кузовлев В. Н., Мосолов В. В. Выделение различных форм α -амилазы из пшеницы.— *Прикладн. биохимия и микробиол.*, 1990, т. 26, вып. 5, с. 598—601.— 5. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений.— М.: Колос, 1976, с. 222—224.— 6. Плохинский Н. А. Математические методы в биологии. М.: Изд-во МГУ.— 7. Рыбалка А. И., Созинов А. А. Генетический анализ β -амилазы зерна пшеницы.— *Генетика*, 1980, т. XVI, № 6, с. 1059—1067.— 8. Созинов А. А., Рыбалка А. И. Генетический анализ β -амилазы и других признаков мягкой пшеницы.— *Тез. докл. на IV съезде генетиков и селекционеров Украины в Одессе в 1981*. Киев, 1981, с. 11—13.— 9. Baulcombe D. C., Iiuttly A. K., Martienssen R. A., Barker R. F., Jurvis M. G.— *Mol. a. Gen. Genet.*, 1987, vol. 209, N 1, p. 33—40.— 10. Dabrowska T.— *Genet. Pol.*, 1988, vol. 29, N 2, p. 121—137.— 11. Dabrowska T., Jakubiec J.— *Genetica polonica*, 1977, vol. 18, N 2, p. 135—139.— 12. Gašić C., Stajner D., Kraljević-Bulalić M.— *Cereal Res. Commun.*, 1984, vol. 12, N 3—4, p. 187—192.— 13. Joudrier P.— *Compt. rendus Acad. Sci.*, 1974, vol. 278, N 13, Ser. D, p. 1777—1780.— 14. Joudrier P.— *C. r. Acad. Sci.*, 1980, D. 291, N 5, p. 477—480.— 15. Joudrier P., Bernard M.— *Ann. Amélior. Plantes.*, 1977, vol. 27, N 1, p. 35—47.— 16. Joudrier P., Bourdet A.— *Ann. Amélior. Plantes.*, 1972, vol. 22, N 3, p. 263—279.— 17. Joudrier P., Canderon Y.— *Compt. rendus Acad. Sci.*, 1976, vol. 282, N 1, p. 115—118.— 18. Nagayoshi T.— *Sci. Rep. Fac. Agr. Kobe Univ.*, 1975, vol. 11, N 2, p. 249—256.— 19. Nagayoshi T.— *Sci. Rep. Fac. Agr. Kobe Univ.*, 1981, vol. 14, N 12, p. 313—319.— 20. Nishikawa K., Nobuhara M.— *Japan J. Genetics*, 1971, vol. 46, N 5, p. 345—353.— 21. Sharp P. J., Desai S., Chao S., Gale M. D.— *Ann. Rept.*, 1987 / AFRC Inst. Plant Sci. Res., John Innes Inst. (Norwich), 1988, p. 23—24.

Статья поступила 17 февраля 1993 г.

SUMMARY

Comparative investigation of amylase activity and germinating power was conducted in speltoids, dense-eared, square-headed, spherococcoids and compactums produced by means of chemical mutagens in soft winter wheat variety Belotserkovskaja 198.

It has been found that on the average mutant lines differ from initial variety in lower germinating power of seed and amylase activity of germinating grain. However, the range of variation in total amount of α - and β -amylases in each mutant group was extremely wide — from 3 times or more lower to significant excess. Forms with sharp reduction of amylase activity were mostly found among speltoids. Direct connection between germinating power of seed and amylase activity has been revealed.