

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический
университет»

Выпускная квалификационная работа
**Цитогенетическое изучение
хемомутантов мягкой
пшеницы**

Чернышова Виктория Владимировна

Научный руководитель:
доцент кафедры биологии и
биологического образования,
к.б.н., Белецкая Е.Я.

Омск, 2017

Актуальность

В настоящее время существует проблема снижения уровня генетического разнообразия у главных сельскохозяйственных культур, в том числе – пшеницы [3]. В связи с этим по всему миру проводятся широкие исследования с целью расширения генетической базы пшеницы за счет разнообразных источников ее изменчивости [5]. Одним из способов создания исходного материала для селекции является метод химического мутагенеза [2]. Химические мутагены обладают невысоким аберрационным эффектом, а некоторые индуцируют исключительно генные мутации. Такие мутации наиболее выгодны в селекционной работе, так как в этом случае больше вероятность сохранения полезного признака, поскольку отсутствуют хромосомные нарушения.

Цель: на основе изучения эффектов воздействия химических мутагенов на растения мягкой пшеницы исследовать проявление фенотипической изменчивости мутантных линий и поведение хромосом в митозе.

Задачи:

- 1.изучить влияние мутагенов на посевные качества семян, рост и развитие растений;
- 2.выявить действие использованных мутагенов на внутрипопуляционную изменчивость мутантных линий;
- 3.изучить фазы митоза с целью обнаружения хромосомных aberrаций;
- 4.использовать материалы работы в учебном процессе.

Объект исследования: мутантные линии сорта Лютесценс-65, полученные с помощью химических супермутагенов: нитрозодиэтилмочевины (НДЭМ), нитрозоэтилмочевины (НЭМ), нитрозодиметилмочевины (НДММ).

Предмет исследования: влияние химических супермутагенов на популяционные признаки растений пшеницы и протекание клеточных циклов в митотических клетках мутантных растений.

Материал эксперимента

Мутанты мягкой пшеницы: МК - 777; МК - 721; МК - 737; МК - 753, полученные Л.А. Кротовой (ОмГАУ) с помощью химических супермутагенов: нитрозодиэтилмочевины (НДЭМ), нитрозоэтилмочевины (НЭМ), нитрозодиметилмочевины (НДММ) из сорта яровой пшеницы Лютесценс 65.

Методика эксперимента

Методика проведения анализа для оценки качества посевного материала:

Использовалась методика семеноводческих исследований, утверждённая ГОСТ (патент № 2101904 от 20 января 1998 г. «Способ определения срока посева семян зерновых культур по степени развития корней и ростков у прорастающих семян»).

Цитогенетическое изучение мутантов МК-721, МК-737, МК-753, МК-77 проводилось по методике Абрамовой З.В.



Рис. 1- Подготовка семян к замачиванию

Рис. 2 - Проращивание семян в термостате

Рис. 3 - Оценка энергии прорастания и всхожести семян



Рис. 4- Измерение длины ростка, количества корешков, длины центрального корешка



Рис. 5- Измерение корешков и coleoptилей

Цитогенетическое изучение мутантов (Абрамова З.В.)

1. Проращивание семян.
2. Фиксация материала с помощью фиксатора Карнуа.
3. Промывка зафиксированного материала в 70%-ном этаноловом спирте.
4. Окрашивание материала с помощью ядерного красителя ацетокармина.
5. Приготовление временного давленного препарата меристематической зоны деления первичного корешка.

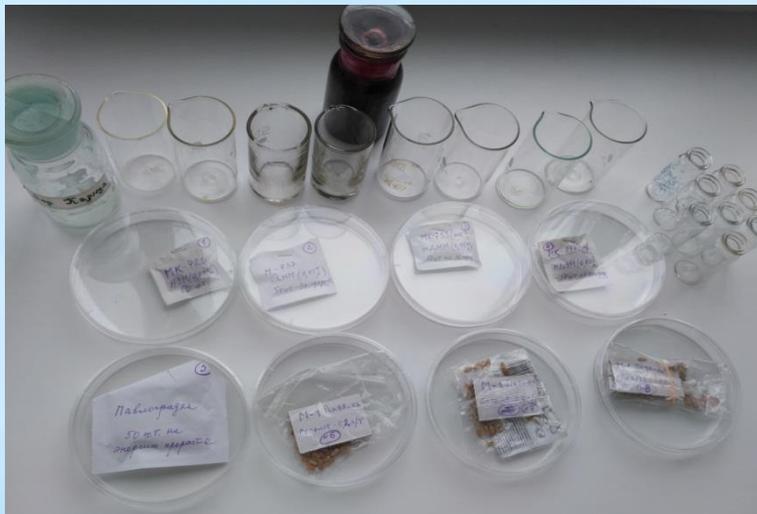


Рис. 6- Проращивание семян



Рис. 7- Раскладывание семян в чашках Петри



Рис. 8- Фиксация материала



Рис. 9- Промывка и окрашивание материала

Результаты и обсуждение

На основании коэффициента симметрии (таблица 1) предложены практические рекомендации о сроках посева: посев семян МК-721 и МК-737 необходимо проводить в оптимально принятые для сорта сроки, а семена МК-753 и МК-777 - в более ранние сроки.

Таблица–1. Зависимость сроков посева семян от расчета коэффициентов симметрии

МК-721			МК-737			МК-753			МК-777		
0,9	0,8	0,8	0,9	0,8	0,9	1,2	1,1	1,2	1,8	1,4	1,3
I	II	III									

На рисунках 1-4 представлены графики распределения вариантов (значений признаков) по классам. На первых двух графиках показано распределение, близкое к нормальному, и немного отклоняется от нормального распределения линия МК-753. Многовершинность графика МК-777 может указывать на дивергентные процессы в этой популяции, приводящие к генетическому полиморфизму, то есть образованию новых форм.

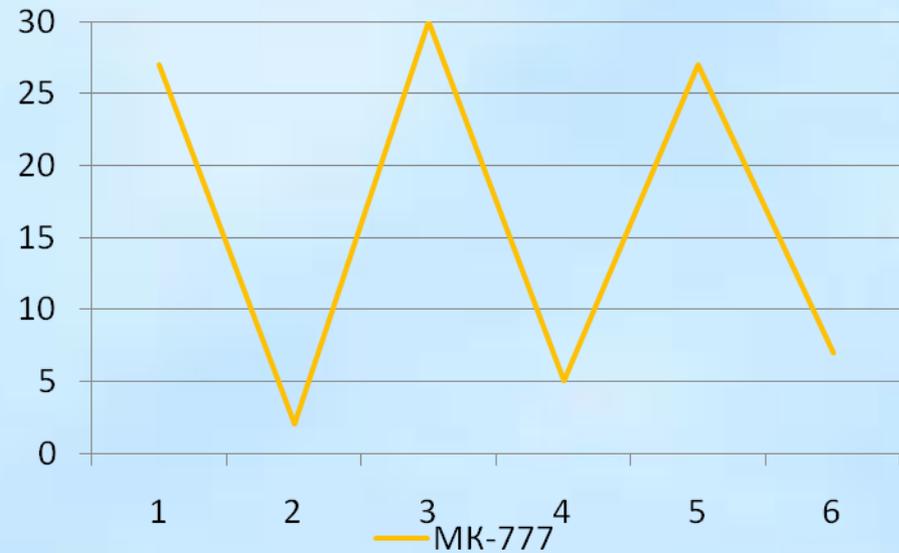
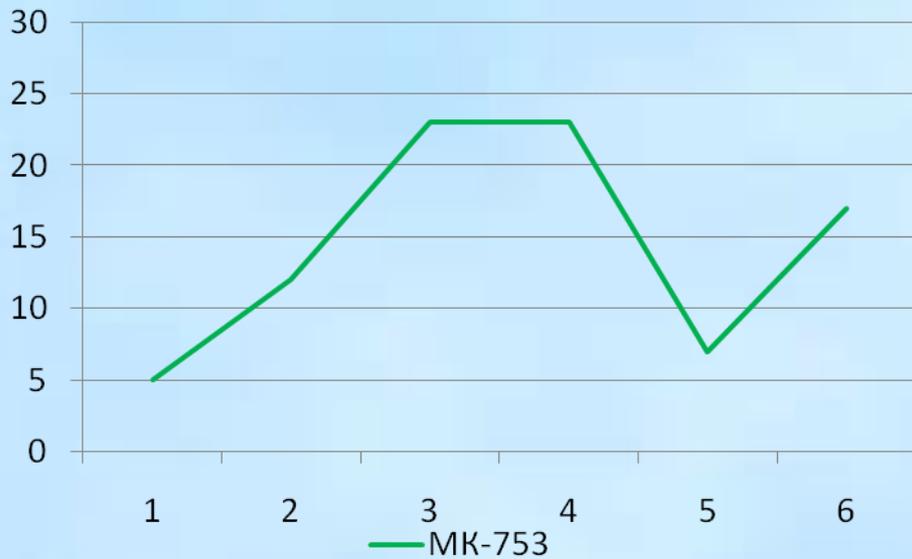
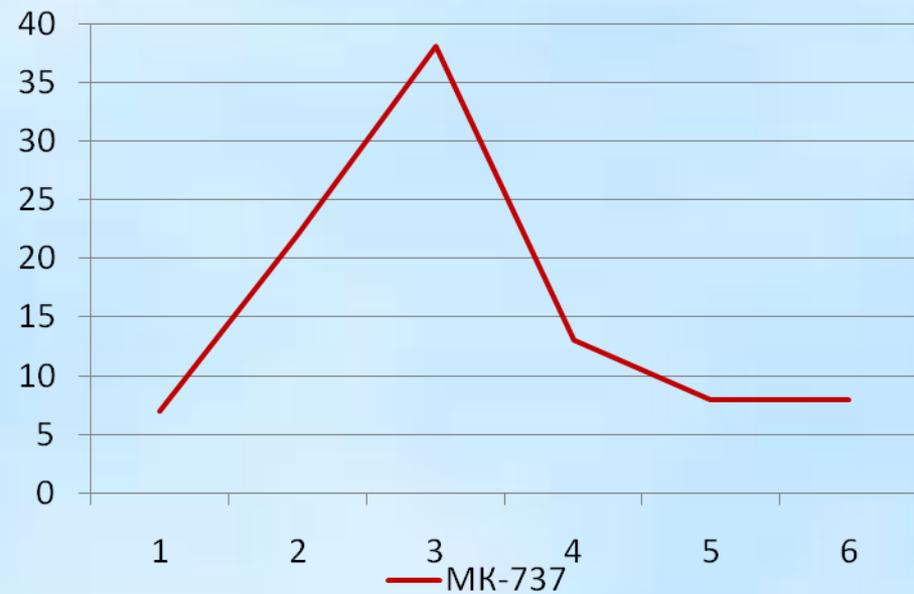
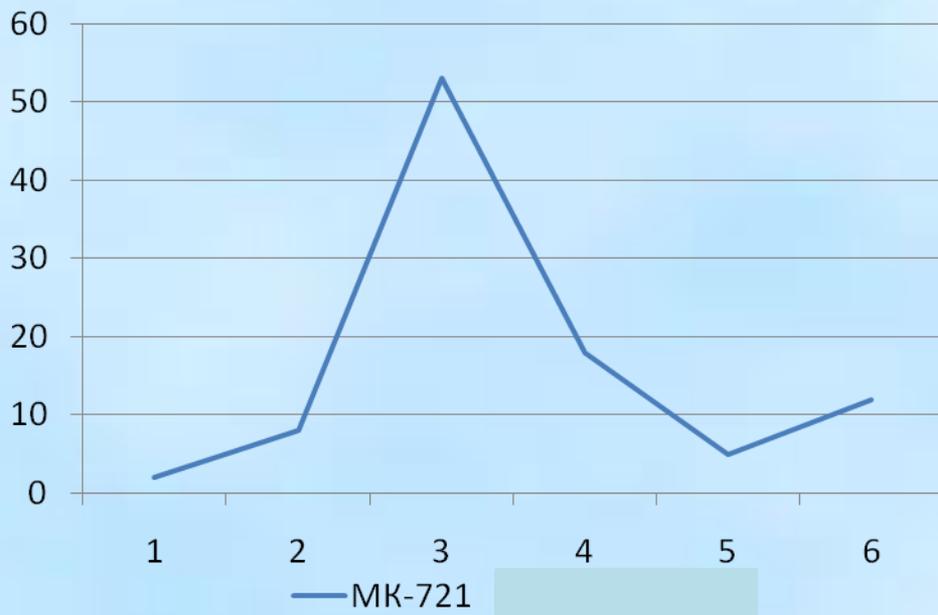
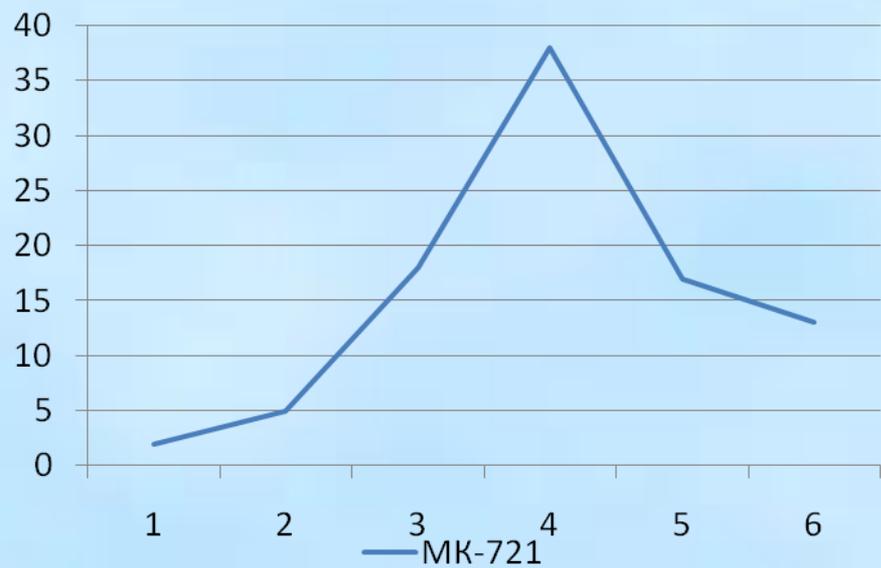


Рис.10- Длина ростка МК-721, МК-737, МК-753, МК-777

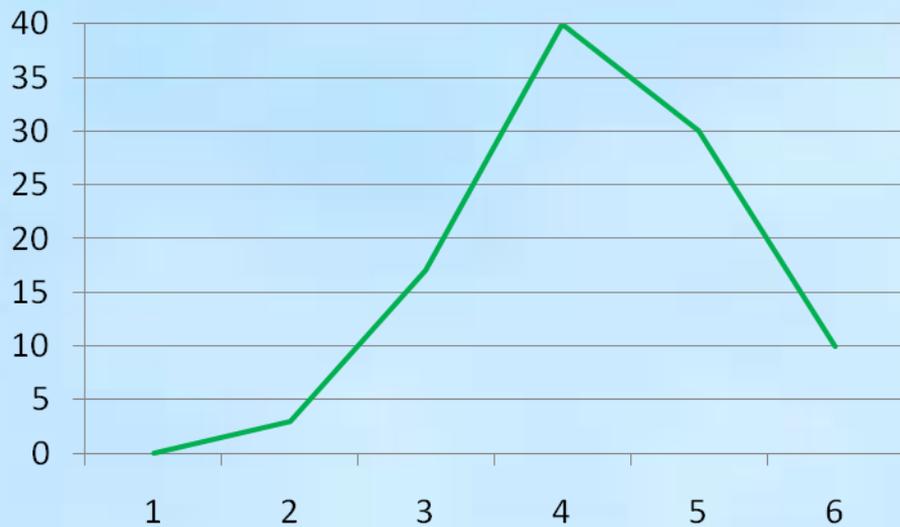
По признаку «длина корешка» проявились сходные тенденции (рис. 5-8). Первые три популяции мутантных линий МК-721, МК-737, МК-753 показывают, что распределение вариант по классам близко к нормальному, а в последнем случае с МК-777 происходят отклонения, что и в первом случае по признаку «длина ростка».



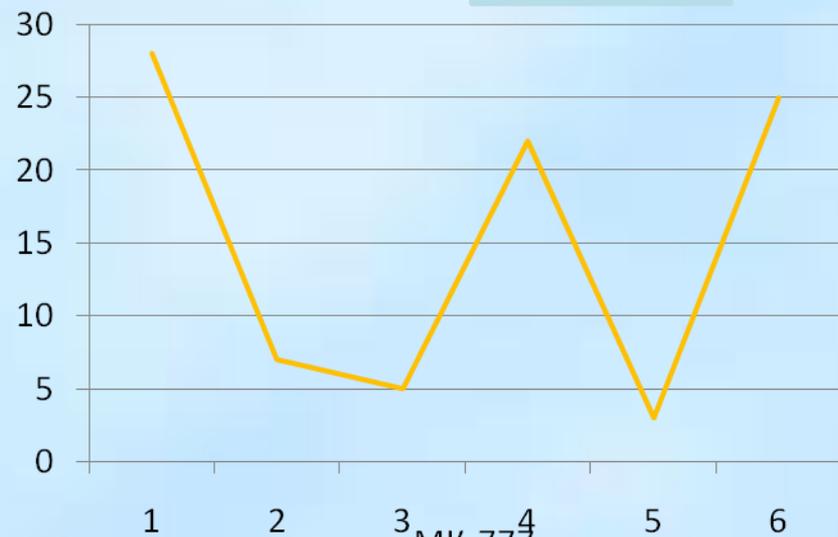
— MK-721



— MK-737



— MK-753



— MK-777

Рис.11- Длина корешка МК-721, МК-737, МК-753, МК-777

По степени реакции на условия внешней среды признаки разделяли на:

- а) слабоварьирующие (до 10%);
- б) средневарьирующие (10% -20%);
- в) сильноварьирующие (свыше 20%).

На основании данных таблицы 2 можно судить о среднем размахе фенотипической изменчивости по признаку энергия прорастания, диапазон изменчивости составляет 9,0 – 11,2%т.е., это средневарьирующий признак.

Таблица - 2. Характеристика показателей изменчивости МК-721, МК-737, МК-753, МК-777

Мутантная линия		МК-721	МК- 737	МК- 753	МК-777
Показатели					
Энергия прорастания, дни	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	2,9±0,10	2,9±0,11	3,3±0,09	3,6±0,13
	Cv (%)	11,2	11,2	9,0	9,9
Всхожесть, дни	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	6,8±0,10	7,1±0,11	7,3±0,09	7,8±0,12
	Cv (%)	4,7	4,7	4,1	4,4
Длина ростка, мм	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	64±1,5	72,03±1,9	126±2,3	121, 3±2,5
	Cv (%)	19,2	19,1	12,3	13,0
Кол-во Корешков, шт	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	4,9±0,10	4,9±0,04	4,8±0,08	5,03±0,11
	Cv (%)	6,5	4,4	6,1	6,6
Длина главного корешка, мм	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	78±1,7	82,7±1,9	108±1,3	84,6±2,9
	Cv (%)	17,4	14,0	10,5	19,3

Низкий размах изменчивости наблюдался по признакам всхожести (4,1 – 4,7%) и количество корешков (4,4 – 6,6%), это свидетельствует о том, что данные признаки жестко контролируются генотипом и слабо зависят от влияния условий среды.

По признаку «длина ростка» размах фенотипической изменчивости выражен в большей степени у МК-721 и МК-737, что указывает на его более сильную зависимость от средовых условий. В меньшей степени этот размах (12,3%) составил у МК-753, по признаку «длина главного корешка» широкий диапазон изменчивости проявился у МК-777, низкий диапазон изменчивости по данному признаку имеет МК-753.

Для определения фенотипической изменчивости популяционных признаков проводилось цитогенетическое изучение мутантного материала. Хромосомных нарушений во всех фазах митоза не обнаружено (рис. 12-17)

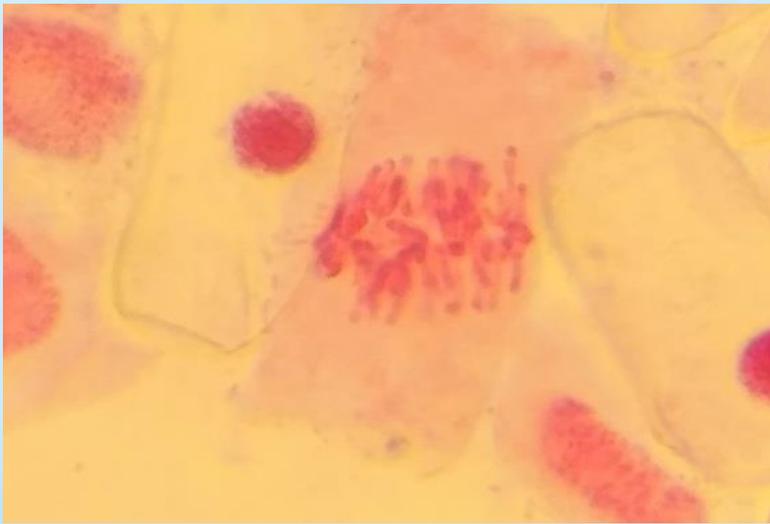


Рис. 12- Профаза, начало метафазы

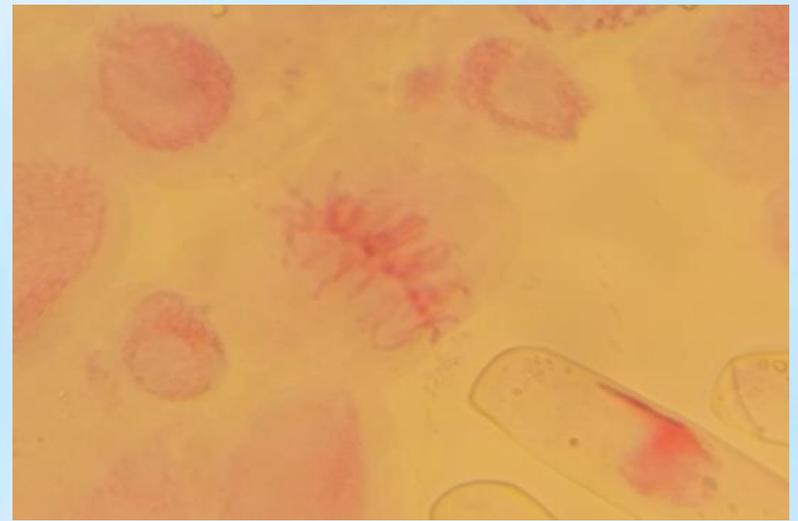


Рис. 13- Метафаза

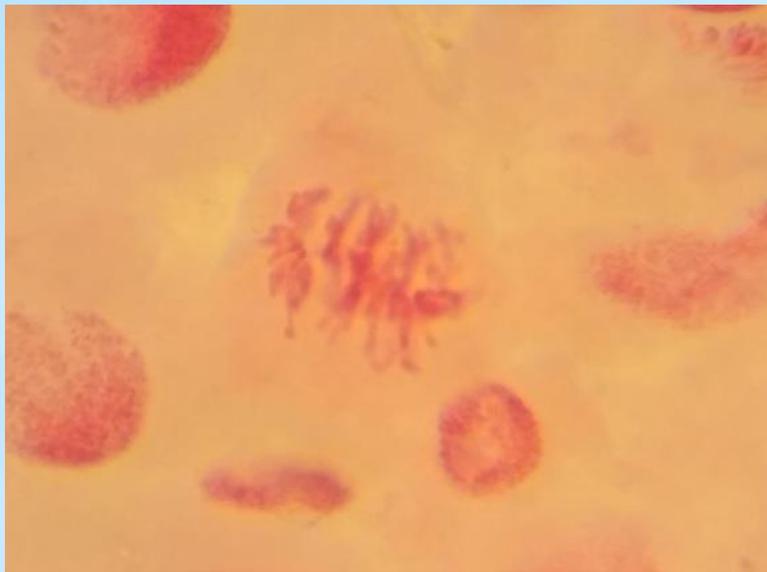


Рис. 14- Поздняя метафаза

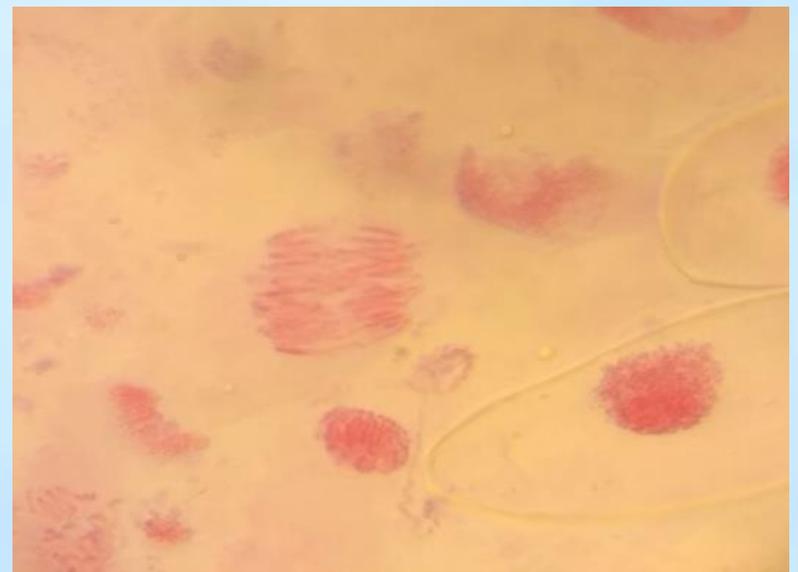


Рис. 15- Ранняя анафаза



Рис. 16- Поздняя анафаза

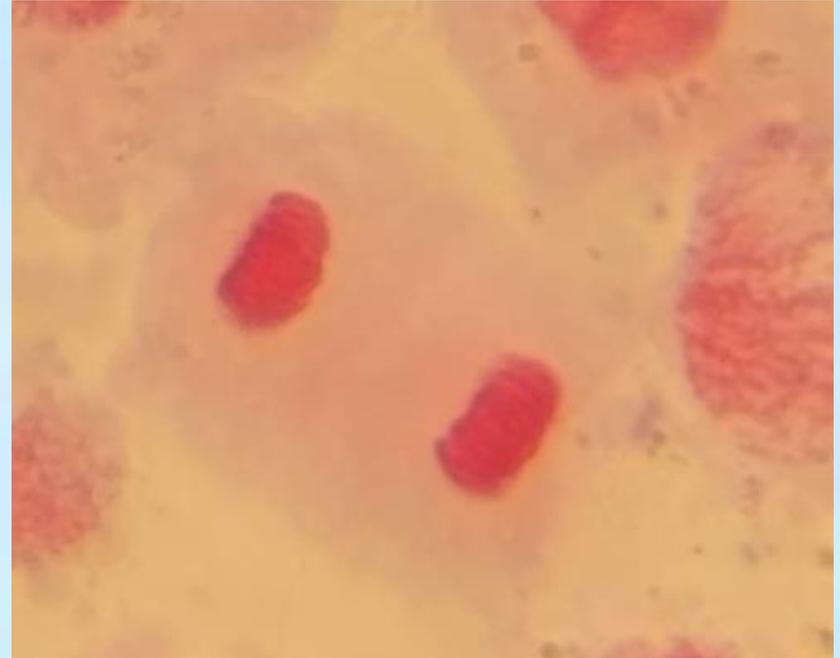


Рис. 17- Телофаза

Использование полученных результатов по цитогенетическому изучению хемомутантов в школьном курсе биологии

Разработан урок по теме «Деление клетки. Митоз» с использованием информационных ресурсов и проведен в 9 классе «МБОУ Центрально-Любинская СОШ»

Проведён мастер-класс на открытой лекции «Цитогенетическое изучение хемомутантов мягкой пшеницы» для обучающихся БОУ ДО г. Омска «Детский Эколого-биологический Центр»

Выводы

1. Изучалось влияние мутагенов на посевные качества семян, рост и развитие растений. Установлено, что из всех изучавшихся мутантов МК-777 показал самую низкую энергию прорастания и всхожесть, а самую высокую – МК-737;
2. определялось действие использованных мутагенов на внутрипопуляционную изменчивость мутантных линий. Установлено, что средний размах фенотипической изменчивости наблюдается по признаку энергия прорастания, диапазон изменчивости составляет 9,0 – 11,2%. Низкий размах изменчивости хорошо заметен по признакам всхожесть (4,1 – 4,7%) и количество корешков (4,4 – 6,6%), это свидетельствует о том, что данные признаки жестко контролируются генотипом и слабо зависят от влияния условий среды.

По признаку «длина ростка» размах фенотипической изменчивости выражен в большей степени у МК-721 и МК-737, что указывает на его более сильную зависимость от средовых условий. В меньшей степени этот размах (12,3%) составил у МК-753, по признаку «длина главного корешка» широкий диапазон изменчивости проявился у МК-777, низкий диапазон изменчивости по данному признаку имеет МК-753.

Выводы

3. изучались фазы митоза с целью обнаружения хромосомных аномалий. Установлено, что в просмотренных нами клетках хромосомных aberrаций не обнаружено, что подтверждает предположение о том, что химические мутагены вызывают преимущественно генные мутации. Выявление их наличия и экспрессивности планируется провести в полевом эксперименте с помощью статистического анализа количественных признаков мутантных линий, посеянных в мае 2017 года на агробиостанции ОмГПУ в четырёх повторностях.

4. результаты исследования использовались при проведении мастер-класса на открытой лекции «Цитогенетическое изучение хемомутантов мягкой пшеницы» для студентов ОмГПУ 3 курса направления «биология», профиля «биоэкология» и для студентов 4 курса направления «педагогическое образование» с двумя профилями подготовки «биология и химия», а также для обучающихся БОУ ДО г. Омска «Детский Эколого-биологический Центр».

Результаты эксперимента опубликованы в статье «Цитогенетическое изучение хемомутантов мягкой пшеницы» в материалах Международной научно-практической конференции «Всемирный день охраны окружающей среды (Экологические чтения - 2017)». – Омск, ОмГАУ, 3- 5 июня 2017 г.

Список литературы

1. Белецкая Е.Я., Кротова Л.А. Мутагенез в селекции растений и генетических исследованиях. – М.: ООО «Школьная пресса»//Биология в школе, №5, 2016. – С. 3-15.
2. Кротова Л.А., Белецкая Е.Я., Поползухина Н.А. Использование генетического потенциала мутантов озимых форм в селекции мягкой пшеницы Западной Сибири: монография. – Омск: Изд-во ФГОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина, 2012. – 198 с.
3. Шаманин В.П. Расширение генетического разнообразия генофонда яровой пшеницы/В.П. Шаманин, И.В. Потоцкая, А.Ю. Трущенко, А.С. Чурсин, С.П. Кузьмина, Л.А. Кротова//Вестник Алтайского аграрного университета, №5(91), 2012. – С. 13-16.
4. Эйгес Н.С. Историческая роль Иосифа Абрамовича Рапопорта в генетике. Продолжение исследований с использованием метода химического мутагенеза//Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. Том 17, №1.

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический
университет»

Выпускная квалификационная работа
**Цитогенетическое изучение
хемомутантов мягкой
пшеницы**

Чернышова Виктория Владимировна

Научный руководитель:
доцент кафедры биологии и
биологического образования,
к.б.н., Белецкая Е.Я.

Омск, 2017