УДК 575:633.854.54

МУТАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ В M_2 У *LINUM GRANDIFLORUM* DESF. ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЭТИЛМЕТАНСУЛЬФОНАТА. СПЕКТР МУТАЦИЙ

Лагрон В.А., аспирант, Лях В.А., д.б.н., профессор

Институт масличных культур УААН, г. Запорожье

В статье приведен анализ выживаемости семей и спектра индуцированных этилметансульфонатом мутаций в M_2 у красноцветковой и белоцветковой форм *L.grandiflorum.* Обнаружено 18 морфологических мутантных типов. Впервые у данного вида выявлена мутация абрикосовой окраски лепестков венчика и два типа мутаций по форме цветка - звездчатого типа и типа “гвоздичка”, представляющих интерес для декоративного цветоводства.

Ключевые слова: L. grandiflorum, этилметансульфонат, выживаемость, типы мутаций, спектр.

Лагрон В.А., Лях В.О. МУТАЦІЙНА МІНЛИВІСТЬ У M_2 У *LINUM GRANDIFLORUM* DESF. ПІД ДІЄЮ ЕТИЛМЕТАНСУЛЬФОНАТУ. СПЕКТР МУТАЦІЙ/ Інститут олійних культур УААН, Україна

У статті наведено аналіз виживаності сімей та спектра індукованих етилметансульфонатом мутацій у M_2 у червоноквіткової та білоквіткової форм *L.grandiflorum.* Виявлено 18 типів морфологічних мутацій. Уперше в цього виду знайдено мутацію абрикосового забарвлення пелюстків віночка і два типи мутацій за формою квітки - типу зірки і типу “гвоздичка”, які мають інтерес для декоративного квітникарства.

Ключові слова: L. grandiflorum, етилметансульфонат, виживаність, типи мутацій, спектр.

Lagron V.A., Lyakh V.A. MUTATION VARIABILITY IN M_2 IN *LINUM GRANDIFLORUM* DESF. UNDER INFLUENCE OF ETHYLMETHANESULPHONATE. MUTATION SPECTRUM/ Institute of Oilseed Crops, Ukraine

The article concerns the analysis of family survival rate and indused with ethylmethanesulphonate mutation spectrum in M_2 in white-flowered and red-flowered samples of *L.grandiflorum.* 18 types of morphological mutations were found. For the first time the mutation of corolla petals of apricot color and two types of mutations of flower shape - “star” type and “carnation” type - were obtained in the given species, that has the interest for ornamental floriculture.

Key words: L. grandiflorum, ethylmethanesulphonate, survival rate, mutation types, spectrum.

1. ВВЕДЕНИЕ

Лен крупноцветковый (*Linum grandiflorum* Desf.) - однолетник с голым, прямостоячим стеблем и крупными, до 3-4 см в диаметре, ярко-красными цветками. Растения данного вида светолюбивы, засухоустойчивы и не требовательны к почве [1,2], поэтому их часто можно встретить в южных и юго-восточных областях Украины, где они, в основном, используются для декоративных целей в групповых посадках на газонах и при оформлении рабаток. Помимо декоративных свойств лен крупноцветковый обладает рядом хозяйственно-ценных признаков, в частности, отличным от культурного льна (*Linum usitatissimum*) жирнокислотным составом, что представляет интерес в селекции этой культуры [3].

Для создания современных сортов и гибридов растений требуются новые генетические источники. Одним из путей получения генных состояний с новыми свойствами является индуцирование мутаций. В литературе данные по химическому мутагенезу культурного льна встречаются с 60-х годов. При этом в большей части исследований использован лен-долгунец. Публикаций по химическому мутагенезу у диких видов льна, в том числе у *Linum grandiflorum*, не обнаружено, что и предопределило проведение данной работы.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили образцы из генетической коллекции льна Института масличных культур – две формы однолетнего дикого вида *L. grandiflorum* – красная (*rubrum*) и белая (*album*, сорт Bright Eyes). Первая - имеет ярко-красные цветки с темным центром, вторая - характеризуется белым венчиком и таким же темно-красным пятном в центре цветка.

Воздушно-сухие семена указанных форм в марлевых мешочках замачивали в растворах ЭМС – 0,01; 0,05; 0,1 и 0,5 %. Раствор мутагена превышал по объему количество семян в 10 раз. В контроле семена (также в марлевых мешочках) замачивали в дистиллированной воде. Экспозиция выдерживания в растворе мутагена составляла 18 часов при температуре 22°С. После обработки семена промывали в течение 30 минут в проточной холодной воде, после чего сразу высевали в грунт в теплице.

На протяжении всего периода вегетации растений поколения M_1 проводился анализ на наличие у них изменений различного типа. Собранные растения подвергались морфометрическим измерениям [4].

Семена M_2 высевали в открытый грунт. Каждая делянка в M_2 - потомство одного растения из M_1. Как и в M_1, проводился визуальный анализ растений. Выделенные растения для предотвращения переопыления изолировали специальными изоляторами. Мутантные растения M_3 выращивались как на фитотроне, так и в поле, где проводился их анализ. Для выяснения характера наследования измененных признаков был проведен ряд скрещиваний между мутантными растениями и растениями исходной формы. Гибридные семена (F_1) высевали на фитотроне. Здесь же проводили дополнительные скрещивания. Полученные семена (F_2, $F_{ан}$) весной высевали в поле. В результате проверки наследственного характера изменений в M_3 определялась мутантная природа растений M_2.

Классификацию мутаций проводили по [5].

Статистическая обработка данных осуществлялась по Рокицкому [6], а также с использованием программы Microsoft Excel.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выживаемость в M_2

В вариантах с минимальными 0,01 и 0,05% концентрациями ЭМС выживаемость опытных семей у красноцветковой и белоцветковой форм была довольно высокой и находилась в пределах выживаемости контрольных семей (рис. 1). С увеличением концентрации мутагена у обеих форм крупноцветкового льна в M_2 наблюдается снижение количества выживших семей. Так, в вариантах обработки формы "*rubrum*" 0,1 и 0,5%-ной концентрацией ЭМС выживаемость была значительно ниже контроля ($p<0,001$). У формы "*album*" снижение выживаемости опытных семей по отношению к контрольным также наблюдалось в варианте обработки 0,1% ЭМС ($p<0,05$), тогда как при более высокой (0,5%) концентрации мутагена все растения погибли еще в поколении M_1 [4, 7].

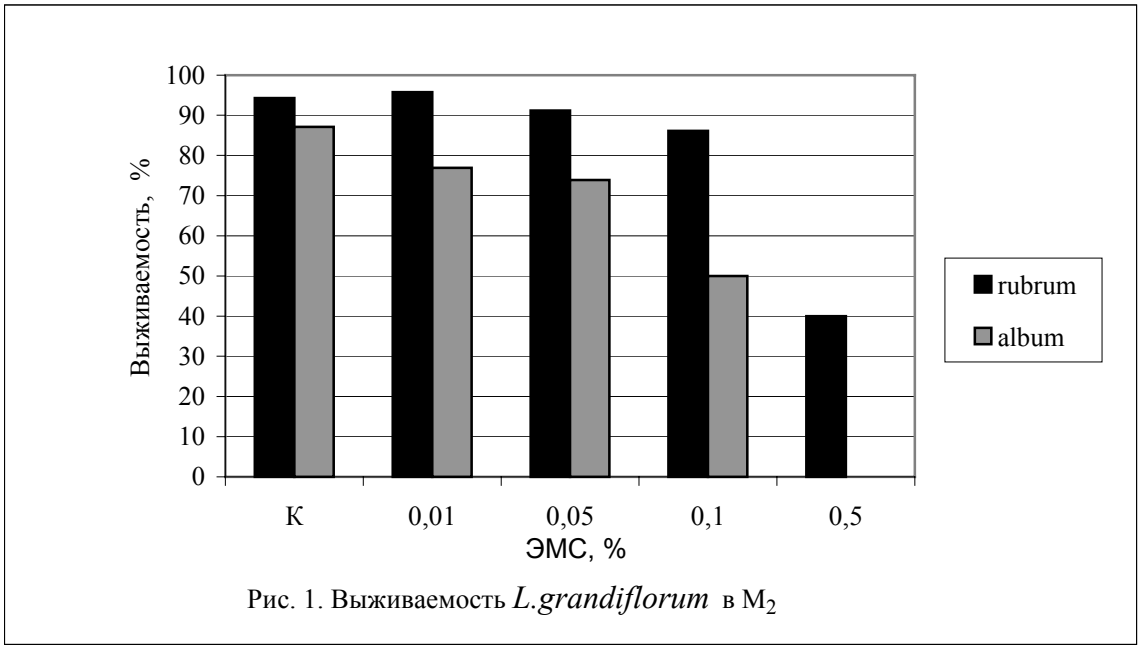


Рис. 1. Выживаемость *L.grandiflorum* в M_2

Следует отметить, что в M_2 у белоцветковой формы в варианте 0,1% ЭМС погибло 50% высеянных семей, тогда как в этой же концентрации у красноцветковой формы – всего 13,9%. Исходя из этого, можно говорить о более высокой чувствительности *L.grandiflorum album* к этилметансульфонату, в сравнении с *L.grandiflorum rubrum,* что, вероятно, связано с его мутантным происхождением от последнего.

Спектр мутаций

В M_2 мы наблюдали широкий спектр мутаций различного типа. Общее число мутантных типов при обработке этилметансульфонатом составило 18 (таблица 1). Все мутации можно условно разделить на 6 групп:1) мутации с нарушением синтеза хлорофилла; 2) мутации окраски лепестков венчика; 3) мутации формы и размера цветка; 4) мутации окраски семян; 5) мутации воскового налета; 6) мутации структуры стебля и листьев.

Мутации с нарушением синтеза хлорофилла. Из двух генотипов дикого льна хлорофильные мутации были выделены только у красноцветковой формы. В основном такие мутации являлись летальными: все, относящиеся к типу *albina*, и большинство, принадлежащие к типу *xantha*. Эти растения погибали на разных стадиях развития, не доживая даже до стадии бутонизации. Среди мутаций, принадлежащих к данной группе, жизнеспособными оказались 6-9 типы. Мутанты с желтыми верхушечными листьями, желтыми полосами на листьях и мутанты группы *viridis* уже на стадии бутонизации приобретали окраску, близкую к нормальной. Мутация темно-зеленые листья сохранялась неизменной до стадии созревания.

Мутации окраски лепестков венчика. Как и предыдущие типы мутаций, измененная (“абрикосовая”) окраска венчика была выделена только у *L.grandiflorum rubrum*. Два растения с таким цветом венчика были выделены в одной семье, относящейся к варианту 0,1% ЭМС. После самоопыления каждого из этих растений и переопыления их друг с другом, расщепления не наблюдалось. Сохранялась мутантная (“абрикосовая”) окраска венчика. При скрещивании мутантного растения с исходной формой (красная окраска венчика, тип “*red*”) расщепления также не было, при этом в F_1 растения имели близкую к красной - “медную” (тип “*copper*”) окраску венчика. Последняя, являясь рецессивной по отношению к красной окраске венчика, часто присутствует в природных популяциях крупноцветкового льна. При скрещивании растений типа “*apricot*” с “*copper*” в F_1 полностью доминирует медная окраска венчика. Мутация “*apricot*” вследствие высоких декоративных свойств стала родоначальником нового декоративного сорта “Аврора”, который в настоящее время проходит Государственное сортоиспытание.

Мутации формы и размера цветка.У обоих генотипов встречались растения с измененными размерами и формой цветка.

В M_2 у *L.grandiflorum rubrum* были обнаружены несколько растений, имеющих звездчатый венчик (тип *“star*”), подобный описанному у *L. usitatissimum* [8]. Они были выявлены в семьях, относящихся к разным концентрационным вариантам. Характерной особенностью цветка данного типа являлось закручивание латеральных краев лепестков вовнутрь, что и придавало венчику звездчатую форму. Цветки подобного типа найдены и у белоцветковой формы данного вида льна.

Еще в первом поколении у *L.grandiflorum album* нами были выделены два растения с цветком типа “гвоздичка” (тип “*carnation*”) [4, 7]. Данная мутация характеризуется меньшим (почти в 2 раза) диаметром венчика за счет укорачивания неокрашенной части лепестка. Как оказалось, клетки столбика, тычиночных нитей и лепестков венчика мутанта значительно короче клеток растений исходной формы (рис.2). Мутация типа “*carnation*” наследуется рецессивно. Позже в M_2 мутация “*carnation*” обнаруживалась еще и в других семьях.

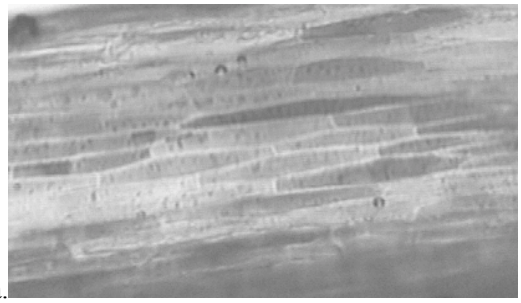
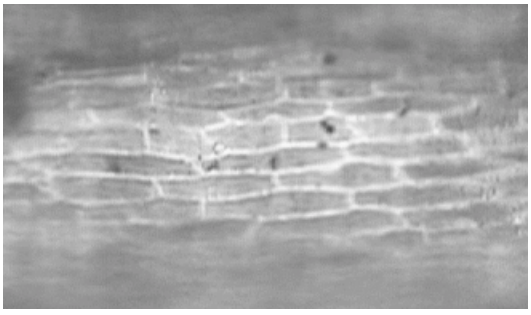
а.  б. 

Рис.2. Клетки столбика исходного (а)
и мутантного типа “гвоздичка” (б) растений *L.grandiflorum album* (х 200).

К данной группе мутаций относили также растения с уменьшенным до двух раз в диаметре размером венчика. Такой тип мутаций встречался только у красноцветкового льна.

Мутации окраски семян. В результате анализа семян, полученных от двух растений M_2 с абрикосовой окраской венчика, нами выделена мутация - пестрые семена. К ним мы относим семена, имеющие различные соотношения светлых и темных секторов. У растений типа “*apricot*” семена имели четко выраженный коричневый носик и более светлую (оливковую) остальную часть семени. Данная окраска семян является одной из отличительных особенностей сорта «Аврора».

Мутации воскового налета. У красноцветковой формы льна в трех концентрационных вариантах были выделены растения «сизой» окраски. Такой цвет растению, по-видимому, придавало наличие на листьях более интенсивного, чем в контроле, воскового налета.

Мутации структуры стебля и листьев. Данная группа мутаций была характерной только для красноцветкового льна. У него в нескольких семьях встречались растения карликового типа и суперкарлики. В обоих случаях у растений были укороченные междоузлия и укороченные листья. Растения с признаками карликовости имели также укороченные и утолщенные лепестки цветка. Суперкарлики были всего 3 - 5 см высотой и имели полушарообразный габитус. Среди этой группы растений были выделены бесхлорофильные экземпляры. Все выделенные в M_2 суперкарлики погибли на ранних стадиях развития, не дав потомства. Кроме этих двух типов мутаций были выделены также и низкорослые растения некарликового типа.

Таблица 1. Типы изменений признаков, индуцированные ЭМС в M_2, у льна крупноцветкового.

Тип изменений	Тип мутаций
	Мутации с нарушением синтеза хлорофилла
1	Белые семядольные листочки (типа *albina*)
2	Белые всходы и растения (типа *albina*)
3	Белые верхушечные листья
4	Желтые семядольные листочки (типа *xantha*)
5	Желтые всходы и растения (типа *xantha*)
6	Желтые верхушечные листья
7	Желтые жилки на верхушечных листьях
8	Светло-зеленые всходы и растения (типа *viridis*)
9	Темно-зеленые растения
	Мутации окраски лепестков венчика
10	Абрикосовый венчик
	Мутации формы и размера цветка
11	Звездчатые цветки
12	Цветки типа “гвоздичка”
13	Мелкие цветки обычного типа
	Мутации окраски семян
14	Пестрые семена
	Мутации воскового налета
15	Сизые листья
	Мутации структуры стебля и листьев
16	Карлики
17	Суперкарлики
18	Низкорослые растения

ВЫВОДЫ

1. С увеличением концентрации мутагена у обеих форм крупноцветкового льна *L.grandiflorum* в М2 наблюдается снижение количества выживших семей. При этом выживаемость белоцветковой формы (*L.grandiflorum album*) ниже, чем красноцветковой (*L.grandiflorum rubrum*).
2. У *L.grandiflorum* в М2 выделено 18 мутантных типов, относящихся к 6 мутантным группам. Среди них большую часть составляли мутации с нарушением синтеза хлорофилла. Наиболее редкими можно считать мутации окраски лепестков венчика.
3. У красноцветковой формы льна впервые обнаружена мутация абрикосовой (тип *apricot*) окраски лепестков венчика, представляющая интерес для декоративного цветоводства. Красные оттенки, характерные для *L.grandiflorum rubrum,* полностью или частично доминировали над абрикосовой окраской венчика.
4. Впервые у вида *L.grandiflorum* выделены два типа мутаций по форме цветка - звездчатого типа и типа “гвоздичка”.
5. Многие мутации, обнаруженные в М2, были летальными. Большинство из них относилось к мутациям с нарушением синтеза хлорофилла и мутациям структуры стебля и листьев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головкин Б.Н., Китаева Л.А., Немченко Э.П. Декоративные растения СССР.– М.:Мысль, 1986.– 320 с.
2. Приходько С.Н., Яременко Л.М., Черевенко Т.М. и др. Декоративные растения открытого и закрытого грунта.– К.: Наукова думка, 1985.– 664 с.
3. Мищенко Л.Ю., Педченко Н., Шегда В.Н., Лях В.А. Генетическое разнообразие по составу жирных кислот в роде *Linum* L. // Збір.наук.праць ІОК УААН.— Запоріжжя. –1999. –Вип.4.– С. 22 – 26.
4. Лагрон В. А., Лях В.А. Влияние этилметансульфоната на растения *Linum grandflorum* Desf.в поколении M_1 // Науково-техничний бюлетень ІОК УААН.— Запоріжжя. –2000. - Вип. 5. – С. 3 - 8.
5. Полякова И. А., Лях В. А. Индуцирование изменчивости в M_2 у различных генотипов льна масличного. Частота мутаций // Вісник ЗДУ. -№1. –2002. – С.177 - 181.
6. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: ВШ, 1967. 328 с.
7. Лагрон В. А. Влияние этилметансульфоната на растения *Linum grandflorum* Desf. в поколении M_1 // Тез. межд. конф. “Современные проблемы генетики, биотехнологии и селекции растений”. – Харьков, 2001. - С. 206 - 207.
8. Широкий унифицированный классификатор СЭВ вида *Linum usitatissimum* L. СССР, Л.: ВИР, 1987. – 22 с.