УДК 575:633.854.54

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

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

Институт масличных культур УААН, г. Запорожье

В статье приведен анализ частоты индуцированных этилметансульфонатом (ЭМС) мутаций у красноцветковой (*rubrum*) и белоцветковой (*album*) форм у *L.grandiflorum* Desf. в M_2. У *L.grandiflorum rubrum* концентрации ЭМС 0,05 и 0,1% являлись наиболее оптимальными для получения наибольшего количества мутаций при достаточно высокой выживаемости растений. В этих вариантах половину составляли мутации с измененным содержанием хлорофилла и около трети – мутации с измененным габитусом растения. *L.grandiflorum album* характеризовался значительно меньшей частотой видимых мутаций, чем красноцветковая форма

Ключевые слова: L.grandiflorum, этилметансульфонат, частота мутаций, количество хлорофильных мутаций.

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

У статті наведено аналіз частоти індукованих етилметансульфонатом (ЕМС) мутацій у червоноквіткової (*rubrum*) та білоквіткової (*album*) форм *L.grandiflorum* у M_2. У *L.grandiflorum rubrum* концентрації ЕМС 0,05 та 0,1% виявилися найбільш оптимальними для одержання найбільшої кількості мутацій при досить високій виживаності рослин. У цих варіантах половину складали мутації зі зміненим вмістом хлорофілу та біля третини – мутації зі зміненим габітусом рослини. *L.grandiflorum album* характеризувався значно меншою частотою видимих мутацій ніж червоноквіткова форма.

Ключові слова: L.grandiflorum, етилметансульфонат, частота мутацій, кількість хлорофільних мутацій.

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

The article concerns the analysis of indused with ethylmethanesulphonate (EMS) mutation frequency in M_2 in red-flowered (*rubrum*) and white-flowered (*album*) samples of *L.grandiflorum.* In *L.grandiflorum rubrum* EMS concentrations of 0,05 and 0,1% were the most optimal to receive the greatest number of mutations taking into account high survival rate of plants. In these variants the half of mutations was with the changed content of chlorophyll and one-third of mutations was with the changed habitus of plant. *L.grandiflorum album* was characterized by the significantly less frequency of visible mutations in comparison with red-flowered sample.

Key words: L. grandiflorum, ethylmethanesulphonate, mutation frequency, number of chlorophyll mutations.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из методов создания нового разнообразного исходного материала является экспериментальный мутагенез, хорошо зарекомендовавший себя на сельскохозяйственных и некоторых цветочно-декоративных культурах. В области декоративного цветоводства экспериментальный мутагенез (радиационный и химический) широко используется для получения новых сортов гладиолуса [1,2,3], пиона [4], хризантемы [5], портулака [6] и некоторых других растений.

Лен крупноцветковый (*L. grandiflorum*) является популярной культурой на европейском рынке декоративных растений, где он в основном используется как клумбовая культура. Вместе с тем *Linum grandiflorum* не отличается большим генетическим разнообразием. Его цветовая гамма до сих пор остается скудной, а изменения формы цветка, играющие немаловажную роль в продвижении любой декоративной культуры на потребительский рынок, неизвестны. Предполагалось, что химический мутагенез может оказаться в этом плане полезным, существенно расширив, по сравнению со спонтанным мутированием, спектр и частоту мутаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследования проводились на двух формах однолетнего дикого вида льна крупноцветкового (*L.grandiflorum* Desf.*)* – красной (*rubrum*) и белой (*album*, сорт Bright Eyes).

Методика обработки семян и анализа растений описана в [7]. Приведенная в статье частота мутаций является отношением количества мутаций в данном концентрационном варианте к общему количеству выживших семей. Частота мутантных семей представляет собой их долю среди общего количества выживших семей. Статистическая обработка данных осуществлялась по Рокицкому [8], а также с использованием программы Microsoft Exel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В M_2 нами был выявлен целый ряд мутаций различного типа. Растения, несущие мутации, встречались во всех 4-х концентрационых вариантах у *L.grandiflorum rubrum* и в 2-х из 3-х вариантов у *L.grandiflorum album* [7]. Частота мутаций в различных вариантах обработки ЭМС была неодинаковой (таблица 1).

Таблица 1. - Частота мутаций и мутантных семей у *L.grandiflorum* в M_2 в разных вариантах обработки

Генотип	ЭМС, %	Выживших семей, %	Частота мутантных семей, %	Частота мутаций, %
L.grandiflorum rubrum	**Контроль**	94,3±2,8	0	0
	0,01	95,8±2,4	5,9±2,9*	10,3±3,7*
	0,05	91,2±3,4	30,6±5,9***	69,5±5,9***
	0,1	86,1±3,9*	32,4±5,7***	51,5±6,1***
	0,5	40,0±15,5***	25,0±21,7	25,0±21,7
L.grandiflorum album	**Контроль**	87,1±6,0	0	0
	0,01	76,9±8,3	20,0±8,9*	20,0±8,9*
	0,05	73,9±9,2	11,8±7,8	11,8±7,8
	0,1	50,0±14,4*	0	0

*, *** – отличия от контроля значимы при $p< 0.05$ и 0.001, соответственно.

Как видно из таблицы 1, у *L.grandiflorum rubrum* с увеличением концентрации этилметансульфоната с 0,01 до 0,1% существенно возрастает как количество мутантных семей, так и частота мутаций. При этом частота мутаций в варианте 0,05% несколько выше, чем в варианте 0,1%. С возрастанием концентрации ЭМС до 0,5% количество наследуемых изменений заметно снижается. У белоцветковой формы наибольшая частота мутаций отмечена в варианте с минимальной (0,01%) концентрацией ЭМС. С увеличением концентрации мутагена частота мутаций снижается, и при ЭМС 0,1% наследуемые изменения не обнаружены. Понижение частоты мутаций во втором поколении в вариантах с более высокой концентрацией мутагена у обеих форм крупноцветкового льна, по-видимому, связано с гибелью большего количества мутантных растений, чем в вариантах с низкой концентрацией ЭМС. Так, у *L.grandiflorum rubrum* частота мутаций в снижается с 69,5% (0,05% ЭМС) до 25,0% (0,5% ЭМС), а выживаемость – с 95,8% до 40,0%. У белоцветковой формы частота мутаций снижается с 20% (0,01% ЭМС) до 0 (0,1% ЭМС), а выживаемость семей – с 76,9% до 50 % соответственно.

Данные по частоте мутантных семей, занесенные в таблицу 1, указывают на то, что в одной и той же семье часто выделяли мутации нескольких типов. Чаще всего наблюдали появление растений с хлорофильной недостаточностью и измененным габитусом.

В таблице 2 представлена частота мутаций по каждому мутантному типу у *L.grandiflorum rubrum*. Как было видно из табл.1, наибольшая частота наследуемых изменений имела место в вариантах с концентрацией ЭМС 0,05 и 0,1%. В них почти половину составляли мутации с измененным содержанием хлорофилла и около трети – мутации с измененным габитусом растения. Только в данных вариантах были обнаружены суперкарлики (растения с сильно укороченными междоузлиями) и изменения окраски венчика. В целом следует отметить, что более высокая частота мутаций в варианте 0,05% (69,5%) в сравнении с 0,1% обусловлена более высокой частотой указанных выше мутантных типов. Вариант с минимальной концентрацией ЭМС, в отличие от двух предыдущих, содержал значительно меньшее

количество мутантных типов. При этом в нем совершенно отсутствовали мутации с измененным содержанием хлорофилла. Всего один достаточно редко встречающийся мутантный тип - форма венчика - выявлен в варианте с максимальной концентрацией мутагена. Такой тип изменений, как форма венчика, также встречался и у *L.grandiflorum album* в двух концентрационных вариантах - 0,01 и 0,05% ЭМС, причем с большей частотой в первом случае. При этом никаких других наследуемых изменений у белоцветкового льна обнаружено не было.

Таблица 2. - Частота мутантных типов в M_2 у *L.grandiflorum rubrum*

Тип изменений	0,01% ЭМС		0,05% ЭМС		0,1% ЭМС		0,5% ЭМС		Контроль, %
	кол-во изменений	%	кол-во изменений	%	кол-во изменений	%	кол-во изменений	%	
Содержание хлорофилла	**0**	**0**	**21**	**33,9±6,0*** **	**17**	**25,0±5,3*** **	**0**	**0**	**0**
Восковый налет	**1**	**1,5±1,5**	**1**	**1,6±1,6**	**1**	**1,5±1,5**	**0**	**0**	**0**
Окраска венчика	**0**	**0**	**3**	**4,8±2,7**	**1**	**1,5±1,5**	**0**	**0**	**0**
Форма венчика	**0**	**0**	**1**	**1,6±1,6**	**0**	**0**	**1**	**25,0+21,7**	**0**
Размер цветка	**2**	**2,9±2,0**	**4**	**6,5±3,1***	**5**	**7,3±3,2***	**0**	**0**	**0**
Габитус растения:									
а)карлики:									
-укороченные междоузлия	**1**	**1,5±1,5**	**5**	**8,1±3,4***	**4**	**5,9±2,9***	**0**	**0**	**0**
-сильно укороченные междоузлия	**0**	**0**	**4**	**6,5±3,1***	**1**	**1,5±1,5**	**0**	**0**	**0**
б)низкорослые	**3**	**4,4±2,5**	**4**	**6,5±3,1***	**6**	**8,8±3,4***	**0**	**0**	**0**
Всего	**7**	**10,3±3,7***	**43**	**69,5±5,9*** **	**35**	**51,5±6,1*** **	**1**	**25,0±21,7**	**0**

*, *** – отличия от контроля значимы при $p< 0.05$ и 0.001, соответственно

Частота встречаемости различных типов хлорофильных мутаций у *L.grandiflorum* отражена в таблице 3. В ней имеются данные только по красноцветковой форме, так как у белоцветковой мутаций с нарушением синтеза хлорофилла обнаружено не было. Среди проанализированных пяти групп хлорофильных мутаций наименее распространенными являются растения с темно-зеленой окраской листьев и желтыми жилками на листьях. Растения, имеющие мутации с нарушением синтеза хлорофилла типа *albina*, *xantha* и *viridis,* были отмечены в двух концентрационных вариантах - 0,05 и 0,1% ЭМС. Растения, принадлежащие к мутантному типу *xantha*, встречались с наибольшей частотой и составляли почти половину всех мутаций с измененным синтезом хлорофилла. Различия между вариантами с концентрацией мутагена 0,05 и 0,1% ЭМС в последнем случае выражались в отсутствии темно-зеленых растений и растений с желтыми жилками на листьях, а также значительно меньшем количестве растений типа *viridis.*

Таблица 3. - Частота встречаемости хлорофильных мутаций в M_2 у *L.grandiflorum rubrum*

ЭМС, %	белые (*albina*) %	желтые (*xantha*), %	светло-зеленые (*viridis*), %	темно-зеленые, %	желтые жилки на листьях, %

Контроль	0	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0	0
0,05	4,8±2,7	16,1±4,7***	8,0±3,4*	1,6±1,6	3,2±2,2
0,1	5,9±2,9	16,2±4,5***	2,9±2,0	0	0
0,5	0	0	0	0	

*, *** – отличия от контроля значимы при $p< 0.05$ и 0.001 соответственно.

В статьях по индуцированному мутагенезу можно встретить утверждение, что наибольшее количество мутаций в M_2 следует ожидать в вариантах с наибольшим количеством хлорофильных соматических мутаций в M_1 [9, 10, 11, 12]. У красноцветковой формы льна изменения частоты мутаций согласуются с вышеупомянутым мнением только в концентрационных вариантах 0 – 0,05% ЭМС. Действительно, частота появления химер в M_1 [13] и мутаций в M_2 в варианте 0,01% ЭМС ниже, чем в следующем варианте - 0,05% ЭМС. В последнем случае обнаружено максимальное количество мутаций. Частота мутаций в двух последующих вариантах постепенно снижается, хотя частота хлорофильных химер в M_1 возрастает. Данную картину можно объяснить сильным действием мутагена, что привело к появлению большого количества летальных мутаций. Растения, несущие такие мутации, выпали на ранних этапах своего развития, поэтому их частота в вариантах обработки максимальными концентрациями ЭМС оказалась ниже, чем в вариантах с более щадящим действием мутагена.

ВЫВОДЫ

1. *L.grandiflorum rubrum* характеризовался высокой частотой видимых мутаций. Наибольшее количество наследуемых изменений выявлено в вариантах с концентрацией ЭМС 0,05 и 0,1%. Из них почти половину составляли мутации с измененным содержанием хлорофилла и около трети – мутации с измененным габитусом растения. Большинство хлорофильных мутаций относилось к мутациям типа *xantha*.
2. *L.grandiflorum album* характеризовался значительно меньшей частотой мутаций в сравнении с красноцветковой формой. У него выделен всего один тип изменений – по форме венчика – с наибольшей частотой в варианте с минимальной концентрацией ЭМС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генетика культурных растений (лен, картофель, морковь, зеленые культуры, гладиолус, яблоня, люцерна) /Под ред. д-ра биол. наук В.А. Драгавцева и д-ра биол. наук Т.С. Фадеевой.— СПб.: ВИР, 1998.— 193 с.
2. Добындэ Е.Д. Исследование влияния гамма радиации на каллусогенез и органогенез у *Gladiolus hibridus* “in vitro” // Матер.VIII Междун. симпоз. (9 – 19 сент. 1999 г.) “Нетрад. растениев., экология и здор.” – Симферополь— 1999.– С.351.
3. Мурин А.В., Лысиков В.Н. Генетические основы создания исходного материала гладиолуса. Кишинев: Штиинца, 1989.– 200 с.
4. Ravikesavan, R., T. Kalaimagal and R. Rathnaswamy, An extra early mutant of pigeonpea // Mutation Breeding Newslttter.– Viena. – 2001.–July.– P. 19-20.
5. Ramirez, G.Z. and M.A. Hernandez, Development of new varieties of chrysanthemum by mutagenesis *in vitro* // Mutation Breeding Newslttter.– Viena. – 2001.–July.– P.52-53.
6. Bennani, F. and B.D. Rossi-Hassani, Seed mutagenesis in *Portulaka grandiflora* (Hook) // Mutation Breeding Newslttter.– Viena. – 2001.–July.– P.43-44.
7. Лагрон В. А., Лях В.А. Мутационная изменчивость в M_2 у *Linum grandiflorum* Desf. под действием этилметансульфоната. Спектр мутаций // Вісник ЗДУ.Біологічні науки –2002. –№2 – С.125-129.
8. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Изд. 2-е, испр. – Минск: ВШ, 1967. – 328 с.
9. Дынник В. П.Влияние некоторых химических мутагенов и русловий выращивания мутантних форм на изменчивость льна-долгунца: Дис. … канд. с-х. наук. – 1973. – 145 с.
10. Бачалис К. П. Закономерности мутагенного действия нитрозоетилмочевины, нитрозометилмочевины и этилметансульфоната при создании селекционно-ценных форм льна-долгунца: Автореф. дис. … канд. биол. наук. Минск.– 1978. – 26 с.
11. Моргун В. В., Логвиненко В. Ф. Мутационная селекция пшеницы. – К.: Наукова думка, 1995. 630 с.

12. Шаров И. Я. Индуцированные мутации льна // Сб. Мутационная селекция. – М.: Наука, 1968. С. 127-133.

13. Лагрон В. А., Лях В.А. Влияние этилметансульфоната на растения *Linum grandflorum Desf.*в поколении M_1//Науково-технічний бюлетень ІОК УААН.— Запоріжжя. –2000. - Вип. 5. – С. 3-8.