

**Бабич А. О.**, академік НААН України та РАСГН

**Барвінченко С. В.**

*Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН*

## **ХІМІЧНИЙ МУТАГЕНЕЗ – ЯК МЕТОД ОТРИМАННЯ РОЗШИРЕНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ У БОБІВ КОРМОВИХ**

*Наведені описи мутацій, отриманих у результаті обробки насіння бобів кормових хімічними мутагенами. Одержані та описані такі типи мутацій: порушення синтезу хлорофілу, структури стебла, листків, квіток і китиць, забарвлення та розміру насіння, фізіологічних ознак. Встановлені генотипові специфічні відмінності в спектрі мутацій досліджених сортів.*

**Ключові слова:** селекція, боби кормові, хімічні мутагени, типи мутацій, спектр, генотип, морфози.

Серед факторів, що забезпечують одержання високих і стабільних врожаїв бобів кормових, в сучасних умовах провідне місце займає селекційно-генетичне поліпшення культури. Можливим шляхом збільшення генетичного розмаїття вихідного матеріалу в селекції бобів кормових є мутаційна селекція.

Мутації, індуковані фізичними і хімічними мутагенами, якісно рівноцінні мутаціям, що виникають у природі [3, 6]. Отже, якщо корисна мутація виявлена у природі, то вона може бути також одержана і за допомогою штучно створених мутагенних факторів. Проте, нерідко мутанти є «сирим матеріалом», що потребує проведення тривалих і інтенсивних пошуків із залученням великих вибірок у подальшій селекції.

Послідовність процесів розвитку організму – морфологічну, фізіологічну та біохімічну диференціацію клітин і тканин, що її складають, визначає генотип. Мутації умовно ділять на морфологічні, фізіологічні та біохімічні.

В основі прояву усіх мутацій лежать зміни біохімічних процесів. А. Густафссон та ін. [7], у своїх дослідженнях розділили життєздатні мутації на дві групи: морфологічні мутанти, в яких змінені морфологічні ознаки та фізіологічні мутації, які від вихідної форми відрізняються властивостями, що пов'язані зі скоростиглістю, посухостійкістю, тощо.

**Матеріал і методика досліджень.** Дослідження проводили на дослідних полях Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН. Вихідним матеріалом бобів кормових було використане насіння сортів Ві-

зир, Білун та Оріон, яке обробляли хімічними мутагенами: Д-7, ДМССО-НПІР-111, ДМССО-12, Д-2ДМС-11В, ДТЕА ДМС-11 – речовинами з підвищеною алкілюючою властивістю. Використовували розчини чотирьох концентрацій: 0,005; 0,05; 0,5; 1% Тривалість замочування насіння в розчинах мутагенів становила 2, 4, 8, 16 год. Контроль замочували в дистильованій воді з відповідними експозиціями. Обробку насіння проводили за загальноновизнаною методикою [2].

Посів рослин  $M_2$  и  $M_3$  проводили сім'ями, в польових умовах. Чутливість рослин до мутагенної дії визначали за показниками схожості та виживаності рослин. Облік і виділення змінених рослин проводили ретельним оглядом рослин усіх варіантів упродовж вегетаційного періоду, починаючи від сходів.

При вивченні спектра видимих мутацій класифікація їх на типи проводилась по головній, різко вираженій, мутантній ознаці в порівнянні із контролем. У процесі класифікації, рослини розподіляли на мікро- та макромутанти. Лінії носії мутацій з різким фенотиповим проявом відносили до макромутантів. У результаті виділено низку оригінальних макромутантів, зокрема, високорослі і широколисті форми, мутанти за різним строком дозрівання, безлисті форми.

Мутації, які не мали різкого фенотипового прояву, відносили до мікрмутантів. Мікрмутанти ідентифікувалися шляхом вивчення кількісних ознак.

**Результати досліджень.** Одну з найбільших груп спадкових змін склали хлорофільні мутації. Такі мутації ведуть до повного або часткового порушення синтезу хлорофілу у рослин. Відомо, що вони призводять до загибелі, або зниження життєздатності рослин, тому не представляють інтересу для селекційної практики. Як зазначають деякі автори, хлорофільні мутації, через їх високу частоту прояву та простоту обліку при індукованому мутагенезі, можуть бути використані як тести ефективності мутагенної дії і часто знаходяться у прямій кореляції зі спадковою мінливістю морфологічних та фізіологічних ознак, хоча ця кореляція не завжди стійка [4]. Використовуючи цей тест, можна визначати оптимальні дози та інші умови дії мутагенів, врахувати, або відібрати найбільш мутабільні форми і сорти різних культур. Опис хлорофільних мутацій проводили за класифікацією Хензеля [5].

У ході експерименту у поколінні  $M_2$  був виділений широкий спектр хлорофільних мутацій, які різнилися за зовнішнім проявом та ступенем пригніченості від летальних до нормально життєздатних рослин.

Мутації з порушенням синтезу хлорофілу: *albina* – перші листки білі, біло-жовті. Мутація завжди летальна, рослина гине на цій стадії розвитку, інколи з'являлися 1–2 наступні листки такого ж кольору. Спостерігали у всіх генотипів бобів кормових; *viridis-albina* – пластини листків білі, верхі-

вка або основа у більшості листків забарвлена в зелений колір. Мутація такого типу виявлена в усіх сортів бобів кормових. Мутація з білим краєм та білою плямистістю на листках зустрічається у сортів Візир і Оріон. Рослини пригнічені, відстають у рості, низькопродуктивні; *xantha* – листки жовті або жовтуваті. Такі рослини пригнічені у рості, раніше досягають, низькопродуктивні, інколи гинуть. У наших дослідженнях виділені в усіх сортів бобів кормових; *viridis* – рослини світло-зелені, зеленувато-жовті, або блідо-зелені. Мутація такого типу дуже поширена, виявлена в усіх сортів. Часто рослини у процесі вегетації здобувають нормальне забарвлення. *Xantha-viridis* – листки забарвлені нерівними плямами у світло-зелений, або жовтий колір. Рослини світлішого кольору порівняно з контролем. Мутація виділена у Візира і Білуна; *сизо-зелене забарвлення* листків інколи з сіро-голубим відтінком. Такі зміни виявлені нами у сортів Візир і Білун. За продуктивністю рослини не поступаються контролю; *темно-зелена рослина* – мутант відрізняється від контролю темним забарвленням, потовщенням стебла, пізньостиглістю та високою продуктивністю. Мутація зустрічається у Візира і Білуна.

Встановлено залежність спектра хлорофільних мутацій від генотипу бобів кормових. У подальшій роботі було встановлено, що рослини бобів кормових, в яких були відмічені хлорофільні мутації субвітального типу, проявляли більш високу мутабільність за іншими ознаками.

Мутації структури стебла представлені десятьма типами змін (*укорочене міжвузля, потовщене стебло, верхнє гілкування, багато бічних пагонів, висока закладка бобів*), що характеризують порушення архітекtonіки рослини. Спостерігалися в усіх сортів, а останніх два тільки у сорту Білун; *високорослі* – тип мутацій, виділений в усіх сортів, рослини вищі за контроль на 15–40 см; *низькорослі міцні рослини* – тип мутації, який зустрічається тільки у сорту Візир, його рослини нижчі за контроль на 15–40 см, мали світліше зелене забарвлення і, як правило, пізніше досягали; *карлики* – тип мутації, що зустрічався в усіх сортів; *антоціанове забарвлення стебла* – дуже поширена мутація, зустрічається в усіх сортів, від дуже насиченого забарвлення до ледь помітного; *детермінантний тип росту* – закінчення верхівки бобами, тип мутації виділений у сорту Білун.

Мутації листків представлені п'ятьма типами змін: *широколиста форма* – поширений тип мутацій, виявлений у всіх сортів, рослини потужні, мають потовщене стебло, інколи високорослі, пізньостиглі (на 6–7 днів); *безлиста рослина* – рідкісний тип мутацій, виявлено нами тільки у сорту Білун. Характеризується повною відсутністю листя, збільшеною площею прилистників, такі мутанти мають детермінантний тип росту, за висотою нижчі, ніж контроль, пізно зацвітають, мають дрібні квітки, рихлі китиці на довгих черешках, погано зав'язують насіння; *рослина з великими прилистниками* – мутація характерна тільки для сортів Візир і Білун, про-

дуктивна за зеленою масою; *дрібнолиста форма* – характеризується дрібними листками, мутація переважно малопродуктивна і ранньостигла, зустрічається в усіх сортів; *листки еліпсовидні* – рідкісний тип мутацій, виділений нами тільки у сорту Білун, листки дрібні, мають еліпсовидну форму.

Шість типів змін відносяться до групи мутації квіток і китиць: *багатоквітковість* – характеризується великою кількістю китиць на рослині і квіток у китиці. Рослини такого типу ранньостиглі, але їм притаманна висока абортівність квіток; *квіти червоно-фіолетові* (крильця фіолетового кольору з наявною меланіною плямою, а парус червоно-коричневого відтінку) – рідкісна мутація виявлена на сортах Білун і Оріон; *довгий черешок* – така мутація проявилася в комплексі з антоціановим забарвленням стебла, виявлена у сорту Візир; *довга китиця* – досить поширена мутація, зустрічається в усіх генотипів. Китиця такого типу рихла, на ній мало квіток витягнутої форми; *подовження китиці пагоном* – мутація характеризується незакінченим (інтермінантним) типом росту китиці – коли замість верхівкової квітки формується пагін, відмічена на всіх сортах. За продуктивністю рослини не поступаються контролю.

Мутації забарвлення та розміру насіння: *дуже дрібне насіння* – зустрічається в усіх сортів. Часто супроводжується темнішим забарвленням оболонки. Рослини нижчі за контрольні, досягають раніше на 3 – 4 дні. Маса 1000 насінин 250 – 350 г; *крупне насіння* – виявлене у сорту Візир і Оріон. Маса 1000 насінин 590 – 670 г у першого генотипу і 510 – 580 г у другого; *коричнева пігментація насіння* – мутація такого типу виділена нами у сортів Білун і Оріон; *зеленкуватий колір насіння* – такий тип змін виділений у сортів Візир і Оріон; *стерильне насіння* – досить поширена мутація, характеризується дрібним розміром, неправильною формою насіння і темним забарвленням оболонки. Маса 1000 насінин складає 110 – 135 г.

Мутації фізіологічних ознак: *ранньостигла рослина* – корисний тип мутацій, виділений нами з сортів Візир і Оріону, дозріває – на 5–8 днів раніше, ніж контроль; *пізнньостигла рослина* – мутанти такого типу характеризувалися пізнім цвітінням, потовщенням стебла, великими листками та подовженням строку дозрівання на 8–10 днів, відмічені в усіх сортів; *стерильна рослина* – досить поширена мутація, рослини не утворюють генеративних органів, зазвичай такі мутанти за висотою нижчі, ніж контрольні, мають дрібні листки. Інший тип – рослини за висотою не поступаються контрольним, утворюють багато бобів, але без насіння, виділені в усіх генотипів.

Спектр одержаних у поколінні  $M_2$  морфо-фізіологічних мутацій був досить широким, залежав від генотипу бобів кормових і складав 35 типів спадкових змін. Мутації структури стебла складали найбільшу групу – 10 типів спадкових змін, хлорофільні мутації – 7, мутації листків – 5, мутації

квіток – 2, китиць – 3, мутації забарвлення та розміру насіння – 5, мутації фізіологічних ознак – 3.

Встановлено, що сорт Оріон характеризувався вузьким спектром спадкових змін – 29 типів. У нього були відсутніми деякі мутації листків, вузький спектр хлорофільних мутацій.

Спектр мутацій у сорту Білун складав 26 типів на відміну від сортів Візир і Оріон, у якого з'явилися мутації типу висока закладка нижнього бобу, еліпсовидне листя, кустистість, детермінантний тип росту, форма з великими прилистниками. Оригінальна мутація у вигляді безлистої форми рослини з'явилися тільки у сорту Білун.

Встановлено, що у поколінні  $M_3$ , порівняно з поколінням  $M_2$ , виявлено більш вузький спектр мутацій, який представлений 17 типами змін: 11 – у сорту Візир, 15 – у сорту Білун та 12 – у сорту Оріон.

У наших дослідках хімічні мутагени також спричинили зміни не мутаційного характеру. Це зміни в побудові стебла, вони не є спадковими і віднесені нами до морфозів. Механізми прояву морфозів ще не вивчені, але причинами виникнення їх, мабуть, є зміни в розвитку організму в онтогенезі. Морфози, імітуючи спадкові зміни, самі не успадковуються, так як вони представляють собою зміни в соматичних клітинах і виникають не в силу зміни генів, а у результаті порушення їх дії [1]. Так, у деяких рослин на різній висоті від поверхні ґрунту (15 – 25 см) з нормального круглого стебла формується плоске стрічкове стебло (фасціація). Відзначено велику кількість рослин, що не мають центрального стебла, при цьому рослина не гине, а у неї розвиваються бічні гілки (точка росту ділиться на дві і ріст відбувається в двох напрямках, тобто утворюються дві рівнозначні гілки). Такі рослини мають різноманітний вигляд, так як відмирання точки росту могло відбутися в будь-який період онтогенезу.

### Висновки

1. Характер експериментальної мутаційної мінливості у бобів кормових в достатній мірі визначався фенотиповими особливостями. Ці відмінності виявлялися в різній мутабільності вивчених сортів, які відрізнялися за спектром видимих мутацій.

2. Серед індукованих хімічними мутагенами мутантних типів найбільшу частину складали мутації структури стебла. Мутацій інших типів було значно менше. Найбільш рідкісною мутацією в поколінні  $M_2$  була безлиста форма, яка виявлена лише в одного з трьох вивчених генотипів.

3. При вивченні спектру мутацій на фенотиповому рівні у різних генотипів виявлено паралелізм в мутаційній мінливості.

4. Сорту Білун властива поява комплексних мутацій, які стосуються двох або більше ознак.

### Бібліографічний список

1. Дынник В. П. Влияние некоторых химических мутагенов и условий выращивания мутантных форм на изменчивость льна-долгунца: Дис. канд. с.-х. наук: 06.00.05. – Киев, 1973. – 145 с.
2. Зоз Н. Н. Методика использования химических мутагенов в селекции сельскохозяйственных культур // Мутационная селекция. - М.: Наука, 1968. – С. 23 – 27.
3. Мобильность генома растений: Пер. с англ. / Под ред. Ю. П. Винецкого. – М.: Агропромиздат, 1990. – 272 с
4. Набойщиков А. М., Газизов К. Г. // Химический мутагенез и селекция. М.: Наука – 1971. – С. 202 – 208.
5. Орав Т. А. О влиянии условий среды на радиационные хлорофилльные нарушения // Влияние гамма-облучения на организмы. – Талин, 1965. – С. 5 – 17.
6. Солодюк Н. В, Фартушняк А. Т., Головченко О. В. Індукований мутагенез в селекції люпину // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. – К.: Логос, 2001. – Т. 2. – С. 236 – 244.
7. Gustafsson A. and Tedin O. Plant-breeding and mutations // Acta agricultural Scandinavica. – 1954. – Vol. 4., № 3. – P. 633 – 639.

**Бабич А. А., Барвинченко С. В.** Химический мутагенез – как метод получения расширенного полиморфизма в бобов кормовых // Корми і кормовиробництво. – 2013. – Вип. 76. – С. 31—36.

Приведены описания мутаций, полученных в результате обработки семян бобов кормовых химическими мутагенами. Выделены и описаны следующие типы мутаций: хлорофильные, мутации структуры стебля, листа, цветков и кистей, окраски и размера семян, физиологических признаков. Установленные генотипические специфические различия в спектре мутаций исследованных сортов.

**Babych A. A., Barvinchenko S. V.** Chemical mutagenesis as a method of obtaining enhanced polymorphism in faba bean // Feeds and Feed Production. – 2013. – Issue 76. – P. 31—36.

Description of mutations obtained as a result of faba bean seed treatment by chemical mutagens is presented. The following types of mutations: chlorophyll, mutations of the structure of the stem, leaf, flower and brush, color and size of seeds, physiological traits are identified and described. Genotypic specific differences in the spectrum of mutations of the studied varieties are determined.