

УДК 633.12; 631.5

*В.А. Парок, кандидат с.-г. наук, доцент ПДАТУ*

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ МУТАГЕНЕЗ В СЕЛЕКЦІЇ ГРЕЧКИ

*Використання експериментального мутагенезу в селекції гречки розпочато в 60-ті роки минулого століття. Різними мутагенними факторами (фізичними, хімічними та їх сумісної дії на насіння, пилок, вегетуючі рослини) проведено обробку більше 30 сортів, гібридів і форм.*

*Одержано широкий спектр мінливості, сформована колекція мутантів для світового генофонду гречки, виведено 22 сорти.*

*Ключові слова: гречка, мутагенез, мутанти.*

**Постановки проблеми в загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями.** Результативність селекційної роботи визначається якісним складом вихідного матеріалу. Саме тому М.І. Вавилов в цілому ряді своїх праць ретельно висвітлив проблему вихідного матеріалу для селекції сільськогосподарських рослин. Серед багатьох методів, які широко практикуються в селекції, певної уваги заслуговує експериментальний мутагенез.

Історія експериментального мутагенезу нараховує майже 100 років. За цей період він, як метод селекції, пройшов всесторонню перевірку і за останні 25-30 років досягнуті значні успіхи: одержано цінні форми і перспективні номери, в світі вивчено і впроваджується у виробництво більше 1600 сортів 140 різних видів культур, сформовані колекції мутантів культурних рослин та ін.

У селекції гречки індукований мутагенез стали застосовувати значно пізніше, ніж у інших культур. Перші дослідження відносяться до 50-х років ХХ ст. Спочатку вивчали дію різних доз гамма-випромінювань, пізніше – хімічні фактори на диплоїдну і тетраплоїдну форми гречки.

Перші мутації гречки (хлорофільні, карлики, гіганти та ін.) одержані А.В. Железновим під впливом гамма-випромінювань (100 Гр.) і етиленіміна.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми.** Найбільш широке використання експериментального мутагенезу в селекції гречки розпочато 1960 року О.С. Алексеевою та її учнями. За весь період в мутаційний процес залучено більше 30 різних за своїм походженням сортів і гібридів, номерів і форм гречки. Оброблялись насіння, вегетуючі рослини (хронічне опромінення) і пилок [1].

Використовували різні мутагенні фактори: радіаційний, хімічний, радіохімічний, лазерне опромінювання; впродовж 40 поколінь проводиться „насичуюче” опромінювання насіння гамма-променями та перевірялась здатність мутування мутантів старших поколінь [2].

Індукований мутагенез використовували в селекції на урожайність, крупноплідність, скоростиглість, адаптивність до умов вирощування, проводилась біологічна оцінка мутантів на вміст білка і його амінокислотний склад, крохмаль та його фракції тощо; мутанти оцінювались на стійкість до найбільш поширених хвороб та формувалась їх колекція.

Усестороннє використання доступних мутагенних факторів і залучення в мутаційний процес різноманітного за походженням вихідного матеріалу дозволило встановити низку положень, створити цінний вихідний матеріал, розробити методику використання експериментального мутагенезу в селекції гречки і вивести нові перспективні і зареєстровані сорти [3, 4].

**Метою досліджень** було вивчення формотворчого процесу мутантів різного походження, створення нового вихідного матеріалу і виведення нових сортів гречки.

**Матеріал і методика досліджень.** Лабораторні і польові дослідження проводились протягом 1979-2010 років в Науково-дослідному інституті круп'яних культур ПДАТУ за загальноприйнятою методикою. Для створення вихідного матеріалу в різні роки використовувались мутагенні фактори: одноразові і повторні гамма-опромінення насіння дозами 5, 10, 100, 200, 300 Гр.; хімічні мутагени: НМС, НЕС, ЕІ, ДМС; сумісна обробка хімічними мутагенами і гамма-променями насіння, вегетуючих рослин, пилку. Матеріал вивчався в умовах екранної ізоляції. Закладання дослідів, аналіз рослин, урожайності та оцінку якості зерна проводили відповідно до загальноприйнятої методики Державного сортовипробування.

**Виклад основного матеріалу досліджень з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів.** Встановлено, що природна мінливість гречки обумовлюється переважно генотипічними особливостями сорту і становить 2,0-9,4%. Важливу роль в мутаційному процесі відіграє генотип матеріалу, що піддається дії мутагенів [3].

Із досить різноманітного за походженням вихідного матеріалу великою мутабільністю характеризувались сорти Вікторія, Радехівська поліпшена, Аеліта та місцеві сорти західного екотипу. Тетраплоїдні ж сорти – маломутабільні.

Мутагени, які вивчалися, мали певний вплив на гречку. Невисокі дози, концентрації і експозиції мутагенів викликали стимулюючий ефект. Це, передусім, відноситься до гамма-випромінювання і когерентного лазерного світла.

Підвищені і високі дози, концентрації та експозиції мутагенів викликали широкий спектр мінливості, який обумовлювався особливостями генотипу сорту і були представлені в основному модифікаціями і мутаціями.

До короткотермінових модифікацій відносяться: депресії, зростання стебла та суцвіть, два-три сім'ядольні листочки, фасціяції: стебла, гілок, квітконосів, плодоніжок, мутовки листя та інші.

Довготривалі модифікації представлені зміною багатьох ознак, які з'явилися внаслідок багаторазових доборів в строгій ізоляції, можуть бути сформовані в мутації різних ознак. До них відносяться: високогіллясті, штамбові і високостебельні форми; гіллясте суцвіття; форми, які скидають листя, скоростиглі та ін.

Найбільш інтенсивно мутаційний процес проходить до п'ятого-шостого покоління. Починаючи з шостого покоління, з віком мутантів, число змінених рослин поступово зменшується, тобто відбувається стабілізація матеріалу. Причому процес стабілізації у мутантів різного походження проходить по-різному. Це чітко проявлялося у хемомутантів. Якщо в  $M_8$  в мутантах, одержаних з використанням N-нітросоетил- та N-нітрозометилсечовини (НЕС, НМС) спостерігалось 14,0% новоутворень, то в  $M_{21}...M_{23}$  нараховувалось 2,8...3,9%. У мутантів, одержаних за допомогою диметилсульфату, етиленіміну, етилметилсульфату (ДМС, ЕІ, ЕМС) стабілізація матеріалу починалась з 11-12 поколінь і до 14-го, оригінальні форми не виявлялись.

Стабілізація радіомутантів відбувалась значно пізніше. У  $M_{14}$  популяція вирівнювалась і за інтенсивністю формотворчого процесу прирівнювалась до вихідного сорту.

За поведінкою мутантів, одержаних внаслідок сумісної обробки радіаційними випромінюваннями і хімічними мутагенами, ми простежили до 12-го покоління. Причому в останньому поколінні з  $M_8$  число новоутворень зменшилось більше, ніж вдвічі. Очевидно, до  $M_{14}...M_{18}$  у цього матеріалу наступить стабілізація.

Таким чином, тривалість мутаційного процесу і стабілізація мутантів залежить від особливостей мутагена, під впливом якого одержано мутант.

У гречки встановлений тривалий формотворчий процес, тобто мутанти продовжують змінюватись – мутувати. Спектр мінливості відібраної мутації залежить від властивостей попередньо виділеної ознаки. Особливості тривалого мутування мутантів гречки можна віднести до чотирьох типів: 1 – уповільнені мутації, які проявляються в кінці стабілізації матеріалу, характеризуються чітко вираженою однією ознакою; 2 – одночасне проявлення декількох мутацій (3-4 і більше) з різними ознаками; 3 – комплексні або системні мутації (3-4 ознаки), які зосереджуються в одній рослині; 4 – послідовне мутування, коли одна мутація породжує іншу, і та інша не може виникнути раніше попередньої [4, 5].

Найбільш ефективними „гречаними” мутагенами слід вважати ті, які дали широкий спектр мутацій, зареєстровані сорти та цінні мутанти.

Вид мутагенів, їх комбінації, дози, концентрації і експозиції були різними залежно від виду обробки органів рослин.

Для гречки найбільш мутагенними можна вважати наступні:

– при обробці насіння:

мутагени:	дози, експозиції, концентрації:
гамма-опромінювання	200, 300, 400 Гр.
червоне світло лазера	30... 240 хв.
НМС	0,01%, 0,012%;
НЕС	0,01 %, 0,012%;
ДМС	0,02%, 0,05%;
ЕІ	0,02%, 0,05%;

– при обробці вегетуючих рослин (хронічне опромінювання): дворічне опромінювання в діапазоні доз 40-50 Гр.

– обробка пилку: гамма-проміння, доза 2-20 Гр., лазерне світло з довжиною хвилі 337 нм при експозиції 20 хв., комбінована обробка гамма-променями дозою 15 Гр. та хімічними мутагенами НМС 0,02% [5].

Слід зазначити, що відтворити бажану мутацію в звичайних польових умовах не вдається, тому що спостерігається періодичність в мутагенній активності і мутабільності сортів та природним радіаційним фоном різних років, в яких вирощувалась гречка. В одні роки фіксується досить широкий спектр новоутворень, в інші – вузький. Така періодичність відбувається приблизно через рік, рідко – два. У роки з підвищеною активністю мутаційного процесу можна виділити мутацію бажаної ознаки. Очевидно, можна говорити про специфічність дії мутагенних факторів, під впливом яких можна індукувати ту чи іншу мутацію [6].

Нами проведені досить унікальні дослідження за тривалістю, впродовж 23-40 поколінь, гамма-опромінення трьох сортів гречки: Радехівська поліпшена (40. М), Вікторія (34. М), Аеліта (23. М) дозами 5...300 Гр.

Установлено, що дози радіації 5, 10 та 100 Гр. істотно не впливали на польову схожість і виживання рослин. Збільшення дози до 200-250 та 300 Гр. приводило до різкого зменшення цих показників при опроміненні в п'яти поколіннях. Далі спостерігалось кількісне збільшення показників польової схожості і виживання рослин.

Спектр мінливості залежить від дози гамма-випромінювань і числа опромінених потомств. Кожне наступне опромінення збільшувало число новоутворень, особливо під впливом високих доз – 200... 300 Гр.

Переважаюча більшість мутацій була представлена короткостебельними формами, які складали під впливом доз 5 ... 100 Гр. у сортів Вікторія 88% після  $M_{15}$ , Аеліта – 61,4-67,3% після  $M_{21}$ , у Радехівської поліпшеної у  $M_{25}$  – 81,3%, у  $M_{30}$  – 90%.

Із одержаного матеріалу виділені цінні мутанти для колекції світового генофонду гречки, створено перспективний селекційний матеріал та виведено два сорти: Космея (Радехівська поліпшена 16М<sub>8</sub> 5 Гр.) та Кара-Даг (Вікторія 4М<sub>6</sub> 5 Гр.). Із великого різноманіття мутацій, виділених упродовж сорокарічного використання індукованого мутагенезу, створено форми з цінними ознаками і властивостями. З них у Науково-дослідному інституті круп'яних культур ПДАТУ сформована унікальна колекція мутантів, яка нараховує 261 мутантну форму.

Найбільше число мутантів – 128 форм (48,1%) – створено шляхом використання комплексної дії фізичних і хімічних мутагенів, особливо при поєднанні гамма-випромінювань з НМС, НЕС та ЕІ, 80 форм (32,0%) – з використанням гамма-опромінення і 53 форми (20,0%) – хімічних мутагенів.

Спектр мінливості мутантів пов'язаний з особливостями мутагенів, які можна проаналізувати з даних табл. 1.

Таблиця 1

**Спектр мінливості колекції мутантів, викликаний мутагенами з високою специфічністю**

Ознаки	Мутагени
Аномалії сім'ядоль	НЕС + гамма-опромінення
Карлики	гамма-опромінення, НЕС
Короткостебельні	НЕС + гамма-опромінення, НМС
Гіганти	НЕС
Детермінанти	гамма-опромінення + НЕС
Хлорофільні	Всі мутагени
Зеленоквіткові	гамма-опромінення + НЕС, НМС, ДМС
Рожевоквіткові	НЕС
Червоноквіткові	гамма-опромінення + ЕІ
Складні суцвіття	гамма-опромінення + НЕС
Довге гроно	гамма-опромінення + ЕМС
Крупноплідні	НЕС, гамма-опромінення + НЕС
Тонкоплівчасті	НМС, гамма-опромінення + ЕМС
Сіре зерно	НЕС, гамма-опромінення + НМС + ЕМС
Чорне зерно	гамма-опромінення
Скоростиглі	НЕС, гамма-опромінення + НМС

Найбільший вихід, в порівнянні з іншими мутагенами, рідких оригінальних мутацій таких як Ала, карлик Подільський, форма з асиметричним рясно опушеним листям, одержані при обробці насіння НЕС або гамма-променями 100 Гр. разом з НМС та ДМС. Мутанти з комплексними змінами типу короткостебельні, продуктивні, крупноплідні виділені з матеріалу, одержаного внаслідок сумісної обробки насіння гамма-променями (200..300 Гр.) та хімічними мутагенами (НЕС, ЕІ, ДМС, ДАВ).

Скоростиглі мутанти, одержані на Курській дослідній станції, мали вегетаційний період на 10-15 діб коротший в порівнянні з вихідним сортом і при цьому мали високу урожайність. Вони створені при обробці насіння гамма-променями в дозі 50 Гр. + НЕС 0,25% і НЕС-0,012% + 50 Гр. та ДМС – 0,005% + 50 Гр.

Великий інтерес в селекції на стійкість до опадання плодів мають зеленоквіткові мутанти гречки. Вони одержані під впливом різних мутагенних факторів. Ці мутанти характеризуються широким різноманіттям форм квітки, суцвіть і типу запилення. На основі зеленоквіткової форми виведено сорти Зеленоквіткова-90, Зеленоквіткова-93, Маліковська. Мутант переведено на поліплоідний рівень і він став вихідним матеріалом для сорту Ніка.

Велику цінність для селекції мають антоціановмісні форми гречки, які одержані в результаті обробки насіння гамма-променями + ЕІ. З даного матеріалу виведено новий сорт Рубра.

Методом експериментального мутагенезу виведено і передано до державного сортовипробування 22 сорти гречки мутантного походження, в т.ч. відбори з мутантного сорту Подольська (сорти Подільська і Яна) та від схрещування мутантних сортів Галлея та Космея одержано сорт Степова. Зареєстровані сорти: Аеліта, Лада, Галлея, Роксолана, Кара-Даг, Зеленоквіткова-90, Яна (в Чехії), Степова, Рубра, Єлена.

**Висновки з даного дослідження.** Експериментальний мутагенез сприяє розширенню формотворчого процесу гречки. Цим методом створено 22 сорти гречки і цінний вихідний матеріал. До колекції світового генофонду передано 261 мутант з господарсько, біологічно і генетично цінними формами. Мутаційний процес мутантів гречки тривалий і продовжується до  $M_{18}$ - $M_{23}$ .

#### Список використаних джерел

1. Алексеева Е.С., Рарок В.А., Билоношко В.Я. Экспериментальный мутагенез в селекции гречихи. – Каменец-Подольский: Аксиома, 2006. – 220 с.
2. Алексеева Е.С. Селекция подольских сортов гречихи. – Черновцы: Рута, 1999. – 120 с.
3. Рарок В. А. Роль генотипа в мутационном процессе гречихи // Генетика, селекция, семеноводство и возделывание крупяных культур. – Кишинев, 1988. – С. 12-17.
4. Рарок В. А. Использование мутантов старших поколений в селекции гречихи. Автореферат канд. дис. – Жодино, 1990. – 18 с.
5. Алексеева Е.С. Специфичность действия некоторых мутагенов в получении мутаций с определенными признаками и свойствами. // Генетика, селекция, семеноводство и возделывание крупяных культур. – Кишинев, 1988. – С. 5-9.
6. Алексеева О.С., Рарок В.А. Використання багаторазового послідовного в поколіннях гамма-опромінення насіння в селекції гречки. // Наукові записки. АН ВШ України. – Вип. 1. – К.: Хрещатик, 1998. – С. 235-247.

*Аннотация.* Использование экспериментального мутагенеза в селекции гречихи начато в 60-е годы прошлого столетия. Разными мутагенными факторами (физическими, химическими и их совместным действием на семена, пыльцу, вегетирующие растения) обрабатывались более 30 сортов, гибридов, форм. Получено широкий спектр изменчивости, сформировано коллекцию мутантов мирового генофонда гречихи, выведено 22 сорта гречихи.

**Ключевые слова:** гречиха, мутагенез, мутагены.

*Abstract.* The use of experimental mutagenesis in the breeding of buckwheat started in 60 of the last century. Different mutagenic factors (physical, chemical, and their joint effect on the seeds, pollen, vegetative plants) processed more than 30 varieties, hybrids and forms. Received a wide range of variability, formed clothing collection of mutants of the gene pool of the world crop, displayed 22 varieties of buckwheat.

**Key words:** buckwheat, mutagenes, mutagen's