

ЗМІНА ОЗНАК РОСЛИН ЛЬОНУ-ДОВГУНЦЯ ПІД ВПЛИВОМ РІЗНИХ ДОЗ ГАМА-ПРОМЕНІВ У М₁

Кривошеєва Л.М., кандидат сільськогосподарських наук

ІНСТИТУТ ЛУБ'ЯНИХ КУЛЬТУР НААН

Виявлено особливості впливу різних доз гама-променів на зміну морфофізіологічних і біологічних ознак рослин льону-довгунця. Встановлено, що передпосівна обробка насіння гама-променями негативно впливає на польову схожість та виживання рослин у період вегетації, які залежать як від дози мутагена, так і від генотипу. Одержані наступні типи морфозів у М₁: хлорофільні, структури стебла і листків, кольору, форми, розміру насіння, форми, розміру коробочок та морфози стерильності.

Важлива роль в підвищенні ефективності сільськогосподарського виробництва належить селекції, спрямованій на створення сортів з високою продуктивністю, якістю, стійкістю до несприятливих чинників зовнішнього середовища. Основою будь-якого селекційного процесу є наявність необхідного початкового матеріалу з широким комплексом господарськоцінних властивостей. Одним із способів збільшення спектру мінливості якісних і кількісних ознак у зразків і сортів сільськогосподарських культур є індукований мутагенез. Мутації є цінним матеріалом для досліджень не лише в селекції рослин, але і генетиці, біології, фізіології та інших науках. Мутаційна селекція дозволяє створювати сорти у декілька разів швидше за звичайну гібридизацію [1].

Важливим питанням в дослідженнях індукованого мутагенезу являється вибір ефективної дози мутагену, оскільки частота мутацій і їх спектр залежать не лише від природи самого мутагену, але і від вживаної дози, а також від експозиції [2].

Як відомо, спонтанні мутації обумовлені змінами в молекулярній структурі генів, кількості або структури хромосом. Вони є єдиним джерелом появи принципово нових ознак і властивостей живих організмів. Усі мутагенні чинники, які використовуються для створення нових форм, поділяються на фізичні, хімічні і біологічні. До фізичних мутагенів відносяться радіація, температурний чинник, ультразвук. Радіація представлена електромагнітним і корпускулярним випромінюванням. Найефективніше використовується в практичній селекції електромагнітне випромінювання, зокрема гама-випромінювання [3].

Незважаючи на збільшення кількості наукових досліджень в області льонарства в останні десятиліття [4–7], успадкування багатьох кількісних ознак льону-довгунця після обробки насіння мутагенами до теперішнього часу залишається недостатньо вивченою.

Метою нашої роботи було виявити особливості дії різних доз гама-променів на морфофізіологічні ознаки, визначити польову схожість та ступінь виживання рослин льону-довгунця в M_1 .

Матеріали та методи. З метою розширення генетичного різноманіття прояву ознак в якості об'єкта досліджень нами залучено чотири сорти льону-довгунця Ласка (Білорусь), Орион (Росія), Temida (Польща), M 38 (Україна), дві лінії ЛКС 4, ЛКС 7 та гіbrid T-10/Viking. Обробку повітряно-сухого насіння гама-променями у дозах 300, 400 і 500 Гр проводили у Дацинському відділені Академії наук провінції Хейлунцзян (Китай).

Для вивчення впливу опромінення на рослини першого покоління їх висівали у польових умовах Інституту луб'яніх культур НААН. В якості контролю використовували насіння відповідних сортів льону-довгунця. Упродовж вегетаційного періоду проводили фенологічні спостереження, відмічали рослини зі зміненими морфологічними і фізіологічними ознаками. Всі види морфофізіологічних змін враховували на різних стадіях росту і розвитку льону-довгунця. Для аналізу впливу мутагену на рослини у поколінні M_1 досліджували наступні показники: польова схожість насіння, виживання рослин, кількість продуктивних рослин та ін.

Результати досліджень. Наши експерименти показують, що всі три дози гама-променів негативно впливають на схожість насіння і життєздатність рослин у післясходовий період, хоча й на різному рівні (табл. 1).

Польова схожість у дослідних варіантах коливалась у межах 59,9–80,3 %, у контрольних – 65,7–82,0 %. У сорту Temida, лінії ЛКС 7 та гібриду T 10/Viking спостерігалось зниження польової схожості під впливом мутагена на 1,3–12,6 %. У сортів M 38 і Орион, навпаки, польова схожість була більшою при опроміненні насіння на 4,0–14,6 % у порівнянні із контролем. У сорту Ласка відмічене зниження схожості на 5,9 % при дозі опромінення у 300 Гр. А у дозах 400 і 500 Гр, навпаки, була більшою за контроль на 5,6 і 2,8 %. А у лінії ЛКС 4 найменша схожість спостерігалась при дозі у 400 Гр, що на 4,4 % менше контролю (72,7 %). Обробка насіння даного зразка гама-променями у дозах 300 і 500 Гр привела до збільшення схожості на 1,7 і 5,4 %.

Під час вегетації спостерігалась значна загибель рослин під впливом мутагену. Необхідно відмітити, що опромінення насіння різними дозами гама-променів негативно впливає на ступінь виживання рослин льону-довгунця у період вегетації та залежить як від дози опромінення так і від генотипу рослин. Не всі рослини які вижили були продуктивними і утворили насіннєві коробочки. Тому нами було враховано при обліку рослин, що вижили, окрім продуктивні рослини.

Таблиця 1 – Вплив обробки насіння гама-променями на схожість та виживання рослин льону-довгунця (M_1)

Генотип	Доза опромінення, Гр	Кількість висіяних насінин, шт.	Всього рослин у фазі повних сходів	Виживання				
				всіх рослин		в т.ч. продуктивних		
				шт.	%	шт.	%	
Ласка	K	600	395	65,8	304	76,9	304	76,9
	300	1163	697	59,9	131	18,8	24	3,4
	400	1049	749	71,4	464	61,9	146	19,5
	500	1175	806	68,6	267	33,1	79	9,8
M 38	K	600	394	65,7	347	88,1	347	88,1
	300	974	703	72,2	166	23,6	66	9,4
	400	982	784	79,8	538	68,6	190	24,2
	500	1015	815	80,3	585	71,8	215	26,3
ЛКС 7	K	600	447	74,5	386	86,4	386	86,4
	300	1046	679	64,9	418	61,6	175	25,8
	400	1147	743	64,8	485	65,3	99	13,3
	500	1040	716	68,8	504	70,4	169	23,6
T 10/ Viking	K	600	447	82,0	466	94,7	466	94,7
	300	935	700	74,9	58	8,3	11	1,6
	400	926	643	69,4	185	28,8	47	7,3
	500	920	733	79,7	264	36,0	62	8,5
Орион	K	600	376	62,7	264	70,2	264	70,2
	300	1240	835	67,3	0	0	0	0
	400	1290	914	70,8	206	22,5	37	4,0
	500	1302	875	66,7	123	14,1	17	1,9
ЛКС 4	K	600	436	72,7	357	81,9	357	81,9
	300	1078	802	74,4	571	71,2	229	28,6
	400	1074	734	68,3	475	64,7	131	17,8
	500	1030	804	78,1	578	71,9	237	29,5
Temida	K	200	151	75,5	121	80,1	121	80,1
	300	1050	665	63,3	482	72,5	330	49,6
	400	1057	677	64,0	384	56,7	233	34,4
	500	810	601	74,2	433	72,0	274	45,6

Ступінь виживання рослин льону-довгунця становила 0–72,5 %, у т.ч. продуктивних рослин 0–49,6 % (контроль – 70,2–94,7 %). Найменша ступінь виживання рослин льону-довгунця спостерігалась у сорту Орион 0–22,5 %, контроль – 70,2 %. Необхідно зазначити, що при дозі опромінення у 300 Гр у даного сорту після сходів загинули всі рослини. А при дозах 400 і 500 Гр до збирання залишилось 206 і 123 рослини, у т.ч. 37 і 17 продуктивних. Виживання рослин становило, відповідно, 22,5 і 14,1 %, із них 4,0 і 1,9 % продуктивних.

Найменше загинуло рослин у сорту Temida та лінії ЛКС 4 і при дозах 300 і 500 Гр, а у сорту M 38 і лінії ЛКС 7 при дозі 500 Гр.

Виживання рослин у них становило 70,2–72,5 %. Найбільша кількість продуктивних рослин виявлено у сорту Temida при дозах 300 і 500 Гр – 330 і 274 шт., що становить 49,6 і 45,6 % відповідно.

Опромінення насіння високими дозами гама-променів вплинуло на затримку настання всіх фаз розвитку рослин льону-довгунця та подовжило вегетаційний період на 3–12 діб у порівнянні із контролем (71–78 діб). Причина цього – уповільнення ділення клітин і збільшення тривалості клітинних циклів клітин меристем та інших тканин.

Зовнішні ознаки променевого ураження рослин льону-довгунця проявились у вигляді морфологічних аномалій різних органів. Опромінення гама-променями насіння різних генотипів льону-довгунця призвело до утворення багаточисленних морфозів, які відносяться до неспадкової форми мінливості рослин, оскільки не пов’язані зі змінами генів генеративної системи. Наявність морфозів свідчить про значні порушення не тільки морфологічних, а і фізіологічних властивостей, які можуть впливати на зміну генетичної системи рослин у наступних поколіннях та виникненню нових спадкових ознак.

Причиною морфозів можуть бути генетичні мутації і соматичні мутації генів, які контролюють морфоз. Морфози можуть бути спадкові і неспадкові, що виявляється при пересіві насіння, зібраних з морфозних рослин. Поглинена енергія випромінювання нерівномірно розподіляється по клітинах зародка. Тому клітини можуть мати різні генетичні дефекти. Якщо клітини зі зміненим геномом здатні до поділу, тоді покоління цих клітин увійдуть до складу формуючих органів і тканин зародка. Отже, рослина, яка виростла з опроміненого насіння, буде складатися з генетично різномірних тканин (в т.ч. ці тканини будуть складатися з двох типів клітин: з нормальними клітинами і клітинами зі зміненим геномом) і будуть являти собою химеру. Приклад химер – плямистість листя. У цьому випадку частина тканини листа генерує нормальні клітини, тобто з хлорофілом, а частина тканини виробляє безхлорофільні клітини.

Морфози льону-довгунця, які ми спостерігали у M_1 виникли у результаті порушень синтезу хлорофілу, ростових процесів, репродуктивної системи та змінення будови органів. Загальне число морфозів виявлених у M_1 при обробці гама-променями складало 33 типи, які можна поділити на шість груп: соматичні хлорофільні зміни; морфози листків, морфози стебла морфози насіння, морфози коробочок, морфози стерильності (табл. 2). Найбільш поширеними були морфози стерильності. Вони становлять 18,58 % (400 Гр), 16,48 % (500 Гр) і 8,83 % (300 Гр) всіх морфозів (рисунок). Ця група представлена в основному нормальними рослинами, які не утворюють коробочок та на яких утворюються недорозвинені коробочки без насіння. У гібрида T 10/ Viking на одній рослині спостерігалось утворення у суцвітті стерильної та фертильної гілок.

Таблиця 2 – Типи морфозів, індукованих гама-променями, у M_1 льону-довгунця

Групи морфозів	Опис морфозів
Порушення синтезу хлорофілу у сходів та дорослих рослин	1. Хлорофільна верхівка 2. Світло-зелені сходи та рослини (типу <i>viridis</i>) 3. Смугастість листків 4. Строкатість листків
Морфози листків	5. Утворення трьох сім'ядольних листів 6. Деформація листкової пластини 7. Вузьколисті рослини 8. Широколисті рослини
Морфози стебла	9. Фасціація стебла 10. Подвоєння стебла 11. Потроєння стебла 12. Бічне розгалуження 13. Відмирання точки росту 14. Закручування стебла по спіралі 15. Деформація верхівки стебла «завиток» 16. Деформація стебла та суцвіття 17. Укорочення стебла, карлики
Морфози насіння	18. Темно-коричневе насіння 19. Світло-коричневе насіння 20. Жовте насіння 21. Чорне насіння 22. Оливкове насіння 23. Сіре насіння 24. Мозаїка насіння 25. Строкатість насіння 26. Дрібне насіння 27. Крупне насіння 28. Насінини з зігнутим носиком
Морфози коробочок	29. Сплющення коробочки 30. Подвоєні коробочки 31. Крупна коробочка
Морфози стерильності	32. Нормально розвинуті рослини, які не утворюють коробочок 33. Утворення недорозвинених коробочок без насіння

Значну кількість морфозів займають рослини з різними змінами структури листків – 7,11 % (300 Гр), 13,20 (400 Гр) і 13,12 % (500 Гр). Відмічаються випадки зміни форми і симетричності листових пластинок, збільшення або зменшення розмірів листків (широколисті та вузьколисті рослини). А у фазу сходів спостерігали утворення трьох сім'ядольних листів у сортів М 38 (300 Гр), Орион (300 і 500 Гр) і лінії ЛКС 4 (500 Гр).

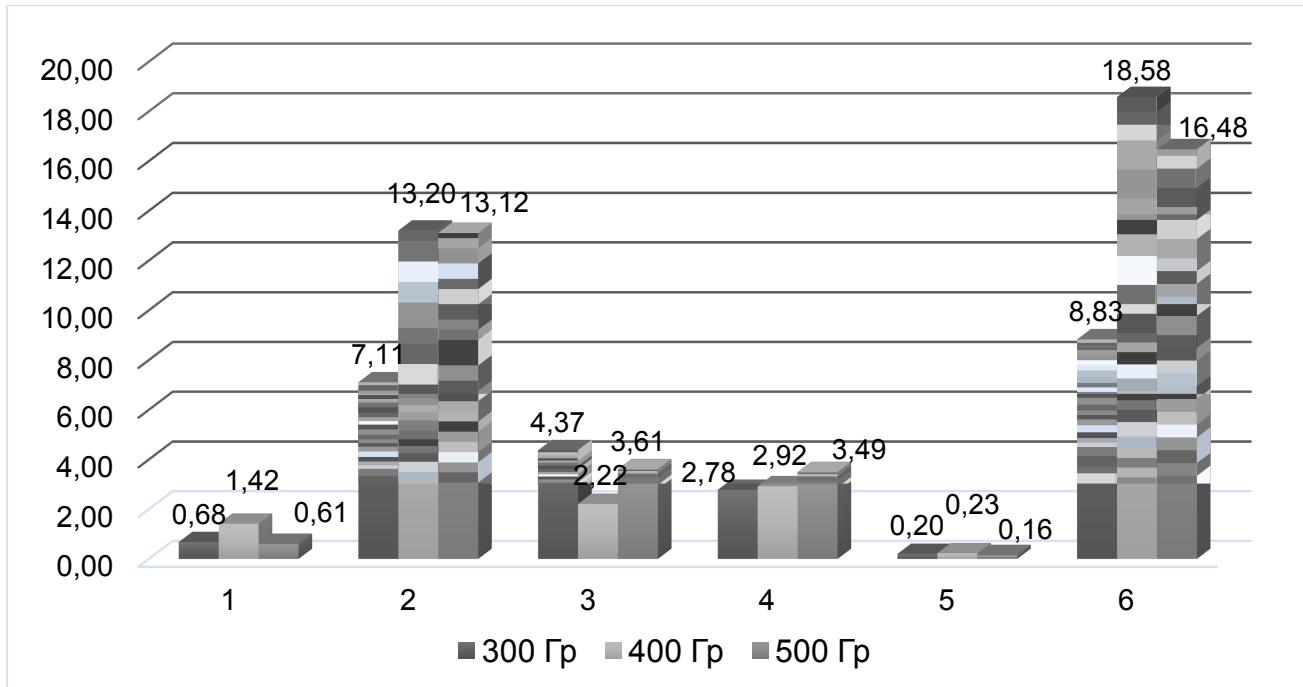


Рисунок – Співвідношення типів морфозів льону-довгунця, одержаних у результаті опромінення насіння різними дозами гама-променів (M_1):

1 – порушення синтезу хлорофілу; 2 – морфози листків; 3 – морфози стебла; 4 – морфози насіння; 5 – морфози коробочок; 6 – морфози стерильності.

Під впливом мутагену відмічений широкий спектр морфозів структури стебла – 4,37 % (300 Гр), 2,22 % (400 Гр) і 3,61 % (500 Гр). У деяких рослин на різній висоті від поверхні ґрунту (10–30 см) із нормальним розвинутого стебла діаметром 1,0–2,5 см утворюється широке пласке стебло шириною 3,0–12,0 мм (фасціації). Суцвіття цих рослин також деформоване та представляє собою зрослі між собою різну кількість квіток. Коробочки на таких рослинах не утворюються. Фасціації спостерігались у всіх генотипів за різних доз опромінення,крім дози 400 Гр у лінії ЛКС 7. Відмічена велика кількість рослин, які не мають центрального стебла, причому на різній висоті. Збільшення кількості стебел спостерігалось у результаті подвоєння і потроєння стебла. У інших рослин відбувалось відмирання точки росту в різний час на різній висоті, у результаті чого утворювалась різна кількість бічних стебел (2–3 шт.), тому такі рослини були різноманітними на вигляд. Також нами спостерігалось утворення додаткових стебел у основі та бічне розгалуження. Значна кількість деформацій стебла проявлялась у фазах розвитку рослин льону-довгунця «ялинка» та «швидкого росту» у закручуванні верхівки стебла у вигляді «завитка». До морфозів стебла відносили випадки появи рослин з закручуванням стебла по спіралі, різні деформації стебла і суцвіття, пригнічення зростання рослин, що спричиняє укорочення стебла та карликівості.

У всіх генотипів відмічені різноманітні морфози насіння (zmіни кольору, розміру і форми) – 2,78 % (300 Гр), 2,92 % (400 Гр) і 3,49 %

(500 Гр). Спостерігались наступні зміни кольору насінин льону-довгунця: темно-коричневе, світло-коричневе, жовте, оливкове, сіре, чорне, мозаїка та строкатість. При цьому нами виділені наступні зміни: колір насіння відрізняється у всіх коробочках на рослині у порівнянні з контролем; зміна забарвлення була в окремих коробочках на рослині; в одній коробочці зустрічались насінини різного кольору. За розміром насіння було дрібне (довжина насінини < 4 мм) та крупне (довжина насінини > 6 мм). Також виділено насіння з зігнутим носиком.

З опроміненням насіння різними дозами (300-500 Гр) під час вегетації спостерігались різні типи соматичних хлорофільних змін у всіх генотипів льону-довгунця. У сортів Ласка та Орион не виявлено хлорофільних морфозів при дозі у 300 Гр та у лінії ЛКС 7 при дозах 300 і 500 Гр та у сорту Temida 500 Гр. Найбільша кількість рослин з хлорофільними верхівками (32 шт.) була при обробці дозою 400 Гр сорту Ласка. Світло-зелені сходи та рослини (типу *viridis*) виявлені у сорту М 38 при дозі опромінення 400 Гр. Смугастість листів відмічена у сортів М 38 (400 Гр) та Ласка (500 Гр), Temida (400 і 500 Гр) у фазу сходів. Строкатість листків спостерігалась у гібриду Т 10/Viking і лінії ЛКС 4 за всіх доз дії мутагену, сорту М 38 (300 і 500 Гр), лінії ЛКС 7 і сорту Орион (400 Гр).

Найменш численну групу морфозів представляють зміни форми і розміру коробочок: сплющена у сортів Ласка (400 Гр), Temida (500 Гр), лінії ЛКС 7 (300 і 500 Гр), подвоєні у лінії ЛКС 7 (300 і 500 Гр) та великі за розміром (довжина > 9.5 мм, ширина $> 7,5$ мм) у лінії ЛКС 7 (300 і 500 Гр), Temida (300 Гр).

Морфологічні порушення часто проявляються одночасно за кількома органами та типами мутацій. Наприклад, нами спостерігались деформація форми листів з білими або жовтими смугами, фасціація та подвоєння стебла у основі, подвоєння стебла і стерильність та ін.

Досліджувані зразки неоднаково реагували на дію мутагена. Сортові особливості проявилася у спектрі індукованих форм. Найбільш сприйнятливими до дії мутагену виявились сорти льону-довгунця Ласка, М 38, лінії ЛКС 4 і ЛКС 7. У них виявлені майже всі типи морфозів. У сортів Орион, Temida і гібриду Т 10/Viking спектр морфозів виявився значно меншим (табл. 3).

Таким чином, обробка насіння льону-довгунця різними дозами гама-променів впливає в першому поколінні на появу різного роду морфозів, пов'язаних зі зміною як вегетативних, так і генеративних органів. Враховуючи частоту таких змін, можна очікувати досить широкого спектру спадкових змін у наступних поколіннях.

Таблиця 3 – Частота морфозів льону-довгунця виявлених у результаті обробки насіння гама-променями у M_1

Генотип	Доза опромінення, Гр	Всього рослин, шт.	У тому числі морфозів*						Разом	
			1	2	3	4	5	6	шт.	%
Ласка	300	697	-	17	32	-	-	95	144	20,7
	400	749	32	316	25	29	5	62	469	62,6
	500	806	17	70	97	2	-	140	326	40,4
М 38	300	703	19	106	68	32	-	24	249	35,4
	400	784	13	201	28	79	5	235	561	71,6
	500	815	12	204	53	91	1	265	626	76,8
Орион	300	835	-	3	5	-	-	-	8	1,0
	400	914	8	12	14	6	1	155	196	21,4
	500	875	3	15	14	3	-	97	132	15,1
Temida	300	665	7	36	64	62	5	133	307	46,2
	400	677	25	38	35	31	4	131	264	39,0
	500	601	-	40	56	20	6	149	271	45,1
ЛКС 7	300	679	-	161	55	24	7	69	316	46,5
	400	743	5	130	15	8	-	343	501	67,4
	500	716	-	318	-	21	4	89	432	60,3
ЛКС 4	300	802	15	129	58	72	1	270	545	68,0
	400	734	10	82	20	42	-	283	437	59,5
	500	804	5	118	19	76	-	265	483	60,1
T 10/Viking	300	700	6	39	20	2	1	19	87	12,4
	400	643	5	133	16	7	1	74	236	36,7
	500	733	5	141	10	28	-	133	317	43,2

*Типи морфозів: 1 – порушення синтезу хлорофілу у сходів та дорослих рослин; 2 – морфози листків; 3 – морфози стебла, 4 – морфози насіння; 5 – морфози коробочок; 6 – морфози стерильності.

Висновки.

1. Оброблення насіння льону-довгунця різними дозами гама-променів призвело до погіршення польової схожості у всіх сортів та негативно вплинуло на виживання рослин льону-довгунця у процесі вегетації. Дані показники залежить як від дози опромінення, так і від генотипу рослин.

2. Виявлено в поколінні M_1 широкий спектр морфозів з порушенням синтезу хлорофілу у сходів та дорослих рослин, структури стебла і листків, розміру та форми коробочок, розміру і кольору насіння, стерильності рослин льону-довгунця.

3. Генетичні особливості сортів льону-довгунця зумовлюють різну реакцію на дію мутагена. Найбільш сприйнятливими виявились сорти льону-довгунця Ласка, М 38, лінії ЛКС 4 і ЛКС 7.

Список використаної літератури

1. Королев К. П., Богдан В. З., Богдан Т. М. Индуцированный мутагенез как способ создания нового исходного материала для селекции сортов интенсивного типа различных культур. Аграрный вестник Верховолжья. 2016. №4 (17). С. 11–16.
2. Тигова А. В., Сорока А. И. Влияние новых химических мутагенов на растения *Linum humile* Mill. в поколении M_1 . Вісник Запорізького національного університету Біологічні науки. 2016. №1. С. 15–22.
3. Гудым Е. В. Митотическая активность и частота хромосомных нарушений в корешках амаранта под влиянием гамма-излучения. Весник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. 2016. №4. С. 39–42.
4. Логинов М. И., Логинов А. М., Кандыба Н. Н., Дынник А. В. Экспериментальный мутагенез и его роль в создании сортов льна-долгунца с высоким качеством волокна. Материалы международной научно-технической конференции. Торжок, 2005. С. 116–122.
5. Симаш С. В., Королев К. П. Создание нового исходного материала льна-долгунца с использованием метода индуцированного мутагенеза. Молодежь и инновации: материалы Междунар. молод. конф. (Горки, 13–16 мая 2012 г.). Горки, 2012. С. 34–36.
6. Симаш С. В., Богдан В. З., Богдан Т. М. Создание новых селекционно ценных форм льна-долгунца с использованием индуцированного мутагенеза. Земляробства і ахова растин. 2011. № 3 (76). С. 63–65.
7. Бачялис К. П. Индуцированные мутанты льна-долгунца и их хозяйственно-биологическая характеристика. Селекция, семеноводство и агротехника возделывания льна-долгунца. Торжок, 2002. Вип.30. Т.1. С. 116–122.

CHANGE OF SIGNS OF FIBER FLAX PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF DIFFERENT DOSES OF GAMMA RAYS IN M_1

Kryvosheeva L.M.

Peculiarities of the influence of different doses of gamma rays on the change in the morphophysiological and biological characteristics of flax plants have been revealed. It was determined that pre-sowing seed treatment with gamma rays negatively affects the field similarity and survival of plants during the growing season, which depend on both the dose of mutagen and the genotype. The following types of morphoses in M_1 obtained: chlorophilic, stem and leaf structure, color, shape, seed size, shape, size of bolls and morphosis of sterility.

ИЗМЕНЕНИЕ ПРИЗНАКОВ РАСТЕНИЙ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ГАММА-ЛУЧЕЙ У M_1

Кривошеева Л.М.

Выявлено особенности влияния разных доз гамма-лучей на изменение морфофизиологических и биологических признаков растений льна-долгунца. Определено, что предпосевная обработка семян гамма-лучами отрицательно влияет на полевую схожесть и выживаемость растений в период вегетации, которые зависят, как от дозы мутагена, так и от генотипа. Полученные следующие типы морфозов в M_1 : хлорофильные, структуры стебля и листков, цвета, формы, размера семян, формы, размера коробочек и морфозы стерильности.