

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭТИЛМЕТАНСУЛЬФОНАТА НА КУНЖУТ В ПОКОЛЕНИИ M₁

А.В. Повхан, А.И. Сорока

Институт масличных культур НААН Украины

Проведены исследования, связанные с возможностью расширения генетического разнообразия кунжута (*Sesamum indicum* L.) путем химического мутагенеза. Изучено влияние этилметансульфоната (ЭМС) в концентрациях 0,01 и 0,001% на рост и развитие растений кунжута в поколении M₁ у генотипов №3, №23, Боярин и Гусар. Показано, что действие мутагена на изученные признаки проявлялось по-разному (ингибирующее или стимулирующее). Изменений, связанных с хлорофилльной недостаточностью, в первом поколении отмечено не было.

Ключевые слова: кунжут, мутагенез, поколение M₁, этилметансульфонат, высота растения, ветвистость.

Вступ. Кунжут - одна из наиболее распространенных масличных культур в мире. Кунжутное масло занимает ведущее место среди пищевых масел, по вкусовым качествам приближается к оливковому и используется в консервной, пищевой, кондитерской промышленности, а также в медицине [4].

Большинство сортов и гибридов кунжута были созданы с помощью классических методов селекции. В связи с этим вопросы по разработке новых способов расширения генетической изменчивости этой культуры нуждаются в постоянном внимании ученых.

Одним из путей расширения генетического разнообразия является метод индуцированного мутагенеза, применение которого для кунжута почти не исследовано. Мутагенез занимает ведущее место среди тех приемов, которые можно с успехом использовать для получения новых сортов. Использование метода химического мутагенеза позволяет за короткий срок создать новый исходный материал с разнообразными морфологическими и физиологическими признаками, биохимическими показателями, увеличить частоту и расширить спектр оригинальных мутаций [1].

Известно, что самым удобным и чаще всего используемым объектом исследований являются семена. В то же время разработка других методов воздействия мутагенами на растения и установление оптимальных доз мутагенов будут способствовать расширению спектра изменчивости и увеличению выхода селекционно-ценных мутаций. Подобные исследования проводились на других культурах с использованием иных объектов воздействия – незрелых семян и зародышей, что приводило к увеличению выхода мутаций [3, 9, 10].

Одним из наиболее актуальных вопросов в исследованиях по индуцированному мутагенезу является выбор доз мутагенов, поскольку выход мутаций и их спектр зависят как от концентрации мутагена, так и от экспозиции воздействия. Вопрос о рациональности использования для селекции сильных и слабых доз мутагенов до сих пор является спорным. При слабых дозах отмечается много малых, или микромутаций, которые довольно часто представляют непосредственный интерес для селекции. В зависимости от

поставленной задачи можно использовать как высокие, так и низкие дозы мутагенов [6].

При изучении влияния мутагенов необходимо выявить эффективность их воздействия в разных концентрациях на растения. Эта задача довольно сложная и ее разрешение связано с поисками таких показателей растений M_1 , которые коррелировали бы с высокой частотой появления мутаций в M_2 . Для достижения этой цели проводят изучение всхожести, развития растений M_1 , их высоты и образования боковых ветвей.

Целью нашей работы было выявить особенности действия разных концентраций химического мутагена этилметансульфоната на различные характеристики растений кунжута в поколении M_1 .

Материал и методы исследований. Объектом исследований служили образцы кунжута (*Sesamum indicum* L.) из генетической коллекции Института масличных культур: Боярин, Гусар, № 3 и № 23, которые представляют селекционную ценность и отличаются рядом морфологических и биохимических признаков. Для индуцирования генетической изменчивости был использован химический мутаген этилметансульфонат (ЭМС). Данное вещество является супермутагеном, который способен вызывать мутации даже при слабых концентрациях. Этилметансульфонат вызывает 50-70% наследственных изменений. Обычно при действии этилметансульфоната происходит алкилирование пуринов, в частности гуанина, который после этого приобретает способность спариваться с тиминном, что приводит к транзиции [2]. Данный мутаген использовался в исследованиях с масличными культурами, в результате чего были получены селекционно-ценные образцы горчицы и льна [5, 7].

В вариантах обработки кунжута мутагеном использовали по 250 семян, в контроле - по 100. Семена в капроновых, свободно завязанных мешочках замачивали в растворах ЭМС концентрации 0,01 и 0,001%. Экспозиция воздействия мутагеном составляла 18 часов. В контроле семена выдерживали такое же время в дистиллированной воде. После обработки их промывали проточной водой в течении 30 минут и сразу высевали в грунт в питомнике. В течение вегетационного периода обеспечивали уход за растениями – прополку от сорняков и рыхление почвы для удаления почвенной корки. Перед цветением растения изолировали индивидуальными изоляторами с целью получения семян для проведения дальнейших исследований. Уборка осуществлялась вручную, отдельно с каждого растения.

Для анализа влияния мутагена на растения первого поколения проводили учет всхожести семян, выживаемости растений, продолжительности периода «всходы - цветение» и длины вегетационного периода для каждого растения, а перед уборкой измеряли высоту растений и подсчитывали количество боковых ветвей.

Результаты исследований и их обсуждение. Влияние ЭМС на всхожесть семян различалось в зависимости от генотипа. Так, всхожесть семян у образцов №3 и Гусар была выше, чем в контроле. При этом прослеживается тенденция повышения данного показателя с увеличением концентрации мутагена, что можно объяснить его стимулирующим действием на проявление этого признака у вышеуказанных генотипов. У образцов Боярин и № 23 при концентрации ЭМС 0,001% изменений во всхожести семян не наблюдали, однако при большей концентрации мутагена у сорта Боярин прослеживается значительное снижение всхожести семян (табл. 1).

Таблица 1

Влияние обработки ЭМС семян кунжута на некоторые признаки растений в поколении M₁
(данные за 2012 г.)

Генотип	Вариант обработки	Всхожесть семян, %	Выживаемость растений, %	Период «всходы - цветение», дни
№3	Контроль	26,0±8,60	80,8±8,60	41,3±2,83
	0,001%	31,6±5,23	92,4±3,10	38,0±0,40
	0,01%	55,6±4,21**	95,0±1,90	37,9±0,29
№23	Контроль	20,0±8,94	90,0 ±7,07	38,6±0,80
	0,001%	32,8±5,18	95,1±2,44	39,5±0,45
	0,01%	28,8±5,33	97,2±1,96	39,9±0,52
Боярин	Контроль	52,0±6,92	92,3±3,85	40,9±1,25
	0,001%	60,0±4,00	96,0±1,63	39,9±0,30
	0,01%	30,0±2,59**	98,7±1,33	39,2±0,36
Гусар	Контроль	4,0±9,79	100	39,5±0,29
	0,001%	38,8±4,95**	95,9±4,95	37,4±0,28***
	0,01%	41,6±7,64**	96,2±1,92*	38,0±0,29***

Примечание. *, **, *** – отличия от контроля значимы при $p < 0,05$, 0,01 и 0,001 соответственно.

Выживаемость растений была достаточно высокой как в опыте, так и в контроле, и составляла от 80,8 до 100%. Исключением являлся сорт Гусар, у которого выживаемость в контрольном варианте была больше, чем у растений, обработанных ЭМС.

Этилметансульфонат может оказывать воздействие на изменение продолжительности периода «всходы-цветение». Однако в нашем эксперименте вариаций по данному признаку не наблюдалось, за исключением сорта Гусар, у которого отмечено зацветание растений обработанных этилметансульфонатом раньше контрольных на 2-3 дня.

Важным критерием действия мутагена на растения являются изменения растений по высоте в фазе созревания (табл. 2).

Таблица 2

Морфометрические показатели растений кунжута, обработанных этилметансульфонатом в поколении M₁
(данные за 2012 г.)

Генотип	Вариант обработки	Высота растений, см	Ветвистость	Вегетационный период, дни
№3	Контроль	75,1±3,02	3,1±0,38	110,8±2,00
	0,001%	70,3±1,25	2,2±0,19*	106,0±1,13*
	0,01%	64,7±1,09**	1,1±0,13***	108,7±0,70
№23	Контроль	80,8±2,86	4,6±0,58	108,6±1,85
	0,001%	77,2±1,60	3,3±0,24*	112,6±1,11
	0,01%	89,6±1,42**	3,9±0,27	114,5±0,99**
Боярин	Контроль	78,9±1,58	0,6±0,16	121,6±0,75
	0,001%	76,4±1,04	1,0±0,10*	138,2±1,68***
	0,01%	86,7±1,49***	2,7±0,23***	128,5±1,20***
Гусар	Контроль	92,5±1,55	7,0±1,00	111,3±0,25
	0,001%	80,8±1,40***	3,7±0,16**	112,1±0,31*
	0,01%	85,5±1,24***	2,9±0,18***	112,3±0,35*

Примечание. *, **, *** – отличия от контроля значимы при $p < 0,05$, 0,01 и 0,001 соответственно.

Увеличение концентрации мутагена вызывало постепенное существенное снижение высоты растений у генотипа № 3 и сорта Гусар. У образцов № 23 и Боярин, наоборот отметили увеличение данного показателя при 0,01% концентрации ЭМС.

ЭМС оказывал влияние и на такой показатель как «ветвистость растений». Из представленных данных видно, что у образцов № 3 и Гусар наблюдается тенденция к уменьшению количества боковых ветвей при увеличении концентрации мутагена. У генотипов Боярин и № 23 увеличение концентрации мутагена приводит к увеличению показателя ветвистости. Это указывает на специфичность реакции разных генотипов кунжута на действие этилметансульфоната.

Продолжительность вегетационного периода также является важным признаком в селекции растений. В нашем опыте под действием мутагена изменений этого показателя в большинстве случаев не наблюдалось, за исключением сорта Боярин и Гусар, у которых обработка мутагеном приводила к увеличению данного показателя, а вариант 0,001% ЭМС у образца №3 приводила к некоторому уменьшению продолжительности вегетационного периода.

Эффективность действия мутагена косвенно может оцениваться и по уровню проявления морфологических изменений. Такие модификации определяются визуально. Однако в наших исследованиях подобных изменений отмечено не было. Очень часто у растений, обработанных ЭМС, в поколении M_1 наблюдаются различные нарушения пигментации [3, 8]. Тем не менее, в популяции изученных нами растений M_1 хлорофилльных нарушений не обнаруживали. Визуально опытные растения по характеру пигментации не отличались от контрольных.

Выводы. ЭМС в концентрациях 0,01 и 0,001% оказывал существенное влияние на выраженность многих морфологических признаков кунжута в поколении M_1 .

Наибольшие отклонения от контроля наблюдались у генотипов № 3 и Гусар.

Обработка семян кунжута этилметансульфонатом в концентрации 0,01%, по сравнению с 0,001% вызывала большие изменения исследуемых признаков.

Литература

1. Алексеева Е.С. Экспериментальный мутагенез как метод селекции // Радиационный мутагенез растений, - М., 1985. С. 49-54.
2. Алиханян С.И. Общая генетика / С.И. Алиханян, А.П. Акифьев, Л.С. Чернин. – М.: Высш. шк., 1985. – 448 с.
3. Васин В.А., Сорока А.И., Лях В.А. Влияние обработки этилметансульфонатом зрелых и незрелых семян подсолнечника на частоту и спектр мутаций в M_2 // Физиология и биохимия культурных растений. - 2006. - Т. 38, № 1. – С. 34-44
4. Гаврилюк М.М., Салатенко В.Н., Чехов А.В. Олійні культури в Україні: Монографія. / За ред. А.В. Чехова. К.: Основа, 2007. – 416с.
5. Журавель В.Н., Лях В.А. Влияние этилметансульфоната на растения различных видов горчицы в поколении M_1 // Зб. наук. пр. Інституту олійних культур УААН – Запоріжжя, 2001. – С. 69-73.
6. Зоз Н.Н. Методика использования химических мутагенов в селекции сельскохозяйственных культур // Мутационная селекция. – М.: Наука, 1968. – С. 217-230.

7. Лагрон В.А. Изучение действия этилметансульфоната на лен масличный в M_1 . // Зб. наук. пр. Інституту олійних культур УААН – Запоріжжя, 2003. – С. 31-37.

8. Лагрон В.А., Лях В.А. Влияние этилметансульфоната на растения *Linum grandiflorum* Dest. в поколении M_1 . // Зб. наук. пр. Інституту олійних культур УААН – Запоріжжя, 2000. – С. 3-8.

9. Лях В.А. Индуцированный мутагенез масличных культур: монография / В.А. Лях, И.А. Полякова, А.И. Сорока; под ред. В.В. Моргуна. – Запорожье: ЗНУ, 2009. – 266 с ил.

10. Тищенко В.М., Сорока А.И., Лях В.А. Влияние обработки этилметансульфонатом незрелых зародышей подсолнечника и характеристика полученных растений // Зб. наук. пр. Інституту олійних культур УААН – Запоріжжя, 2000. – С. 32-37.

ВИВЧЕННЯ ДІЇ ЕТИЛМЕТАНСУЛЬФОНАТУ НА КУНЖУТ У ПОКОЛІННІ M_1

А.В. Повхан, А.І. Сорока

Проведено дослідження, пов'язані з можливістю розширення генетичного різноманіття кунжуту (*Sesamum indicum* L.) шляхом хімічного мутагенезу. Досліджено вплив етилметансульфонату (ЕМС) в концентраціях 0,01 і 0,001% на ріст і розвиток рослин кунжуту в поколінні M_1 у генотипів №3, №23, Боярин та Гусар. Встановлено, що мутаген впливає на вивчені ознаки по різному (інгібуючи або стимулюючи). Змін, пов'язаних із хлорофільною недостатністю, у першому поколінні відмічено не було.

Ключові слова: кунжут, мутагенез, покоління M_1 , етилметансульфонат, висота рослини, гіллястість.

STUDYING OF ETHYL METHANESULFONATE INFLUENCE ON SESAME IN M_1 GENERATION

A.V. Povhan, A.I. Soroka

The research related to possibility of expanding genetic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.) by chemical mutagenesis was conducted. The influence of ethyl methanesulfonate (EMS) in concentrations of 0.01 and 0.001% on the growth and development of sesame plants in M_1 generation for genotypes № 3, № 23, Boyarin, and Gusar was studied. It was shown that the mutagen effected the traits studied in a different manner (inhibitory or stimulatory). Changes, associated with chlorophyll deficiency in the first generation, were not observed.

Keywords: sesame, mutagenesis, M_1 generation, ethyl methanesulfonate, plant height, branching.

Рецензент: В.А. Лях, доктор биол. наук, професор, зав. кафедрой садово-паркового хозяйства и генетики растений Запорожского национального университета.