

**ВЛИЯНИЕ НА ТРЕТИРАНЕТО С МУТАГЕННИ ФАКТОРИ
ВЪРХУ НЯКОИ БИОЛОГИЧНИ ПРОЯВИ
НА *PHASEOLUS VULGARIS* L.**

Дочка Димова, Дияна Светлева, Божин Божинов
Катедра “Генетика и селекция”, Аграрен университет – Пловдив

Резюме

Димова, Д., Д. Светлева, Б. Божинов, 2004. Влияние на третирането с мутагенни фактори върху някои биологични прояви на Phaseolus vulgaris L.

Изследвано е влиянието върху някои биологични прояви на сортовете фасул Добруджански 7, Добруджански 2, Пловдив 10, Пловдив 11М и Чер Старозагорски в M_1 - и M_2 -поколение след третиране на семена с различни концентрации на N-нитрозо-N-етил карбамид (НЕК) и етилметан сулфонат (ЕМС). Получените резултати са обработени статистически с 3-факторен дисперсионен анализ. Установено е, че третирането с НЕК и ЕМС оказва по-силно влияние върху поникването, преживяването, стерилността, продължителността на вегетационния период, появата на хolorофилни и морфологични изменения по листата на растенията в M_1 -поколение. НЕК проявява по-силно действие, в сравнение с ЕМС. Проучваните сортове реагират специфично към приложените мутагенни фактори.

Ключови думи: Фасул, Мутагени, Поникване, Преживяване, Стерилност

Abstract

Dimova, D., D. Svetleva, B. Bojinov, 2004. Effect of treatment with mutagenic factors on some biological manifestations of Phaseolus vulgaris L.

The effect of seed treatment with different concentrations of N-nitroso-N-ethyl urea (NEU) and ethylmethan sulphonate (EMS) was studied on some biological manifestations of common bean Dobroudjanski 7, Dobroudjanski 2, Plovdiv 10, Plovdiv 11M and snap bean Tcher Starozagorski varieties in M_1 and M_2 generations. Data were statistically processed by 3-factor dispersion analysis (ANOVA). It was established, that treatment with NEU and EMS had a stronger effect on sprout, surviving, sterility, prolongation of vegetation period, appearing of chlorophyll and morphological leaf changes of plants in M_1 generation. NEU had stronger effect than EMS. The investigated varieties reacted specifically to the applied mutagenic factors.

Key words: Common bean, Mutagens, Sprout, Surviving, Sterility

УВОД

Чувствителността на растенията в M_1 -поколение се определя от техните особености и възможността им да нормализират състоянието си след приложеното въздействие (Ранчялис, 1978; Станева, 1978). Като критерии за чувствителността на растенията повечето изследователи използват кълняемата енергия, процента на поникване и преживяване на растенията, динамиката и темпа на растеж, появата на химерност и стерилност (Ранчялис, 1978; Светлева и Петкова, 1992; Ciftci et al., 1994 a, b; Silva et al., 1994). Зоз и др. (1967) установяват специфичност в действието на мутагенните фактори, в зависимост от тяхната концентрация, проявяваща се по отношение на кълняемостта, преживяването на растенията, честотата на химерите в M_1 -поколение и техния спектър.

Целта на проведеното изследване е да се проучи ефектът от въздействието с N-нитрозо-N-етил карбамид (НЕК) и етилметан сулфонат (ЕМС) върху някои биологични особености в развитието на фасула в M_1 - и M_2 -поколение.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проведени са 5-годишни изследвания със сортовете фасул Добруджански 7, Добруджански 2, Пловдив 10, Пловдив 11М и Чер Старозагорски. Мутагените са приложени в следните концентрации: **НЕК** \Rightarrow $6,2 \cdot 10^{-3}$; $3,1 \cdot 10^{-3}$; $1,55 \cdot 10^{-3}$ М; **ЕМС** \Rightarrow $2,5 \cdot 10^{-2}$; $1,25 \cdot 10^{-2}$; $6,2 \cdot 10^{-3}$ М. На следващия ден след третирането семената са засети на полето в лехи с ширина 2 м. Разстоянието между редовете в лехата е 50 см, а между семената - 6-7см.

Сеитбата е извършена по стандартен метод за M_1 -поколение, като след всеки вариант са засети 4-5 реда контролни растения (семената са третирани с буфер с рН 6,0 и рН 7,0). Отчетено е поникването, преживяването, стерилността, появата на хлорофилни и морфологични изменения по листата и продължителността на вегетационния период на растенията. Проследена е динамиката на растеж и развитие на 50 маркирани растения от всеки вариант на 30-37^{mm}, 45-46^{mm} и 52-53^{mm} ден от сеитбата. Посочените отчитания и измервания са извършени в M_1 - и M_2 -поколение.

Получените резултати са обработени статистически с 3-факторен дисперсионен анализ.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В резултат от нашите изследвания се установява, че съществува зависимост между поникването, преживяването, стерилността, появата на хлорофилни и морфологични изменения по листата на растенията в M_1 - и M_2 -поколение, които са по-силно изразени в M_1 . Сортовете Пловдив 10 и Чер Старозагорски проявяват сравнително по-голяма чувствителност към мутагенното влияние. Очертава се тенденция към намаляване процента на поникване и преживяване на растенията, както и увеличаване на стерилността, появата на хлорофилни и морфологични изменения с увеличаване на концентрацията на мутагенния фактор, което съвпада със заключенията на други автори (Станева, 1975; Светлева, 1983; Ciftci et al.,

1994 a, b; Silva et al., 1994). При равни степени на леталност НЕК проявява по-силно действие в сравнение с ЕМС. В M_2 -поколение ефектът от мутагенното третиране по отношение на тези показатели е много слабо проявен.

Третирането с най-високите концентрации от двата мутагена ($6,2 \cdot 10^{-3}$ М НЕК и $2,5 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС) предизвикват удължаване на вегетационния период при различните сортове с 8-14 дни в M_1 -поколение. В сравнение с контролите и въздействието с ЕМС, при равни по леталност концентрации НЕК оказва по-силно влияние при сортовете Добруджански 7 и Пловдив 11М. Ефектът от действието на двата мутагена е почти еднакво при сорт Чер Старозагорски.

Получените резултати след въздействие с мутагенните фактори, от проучените биологични прояви на растенията - поникване, преживяване, морфологични и хлорофилни изменения, както и признаците “вегетационен период” и “стерилност”, са обработени статистически чрез трифакторен дисперсионен анализ. Във всеки комплекс като фактор *A* се приемат двете проучвани поколения - M_1 и M_2 . Анализираните генотипове са характеризирани като фактор *B*, а вариантите на третиране - като фактор *C*. Преценено е влиянието на всеки фактор поотделно върху процента на изброените по-горе признаци.

По отношение на признака “поникване” се установява, че процентът на поникналите растения в M_2 -поколение е доказано по-висок от този в M_1 -поколение. Аналогични са резултатите и по отношение на признаците “преживяване” и “продължителност на вегетационния период”, отразени в таблица 1.

Таблица 1. Доказаност на разликите между степените на фактора *A* (поколения M_1 и M_2)

Поникване, %			Преживяване, %			Вегетационен период		
Вариант	\bar{x}	Доказаност	Вариант	\bar{x}	Доказаност	Вариант	\bar{x}	Доказаност
M_2	84,48	a	M_2	82,52	a	M_1	101,27	a
M_1	63,89	b	M_1	47,76	b	M_2	97,04	b

Процентът на преживелите растения в M_2 е почти два пъти по-висок от този в M_1 -поколение. Вегетационният период в M_1 -поколение е по-дълъг от този в M_2 . По отношение на признаците “поникване” и “преживяване” проучваните сортове реагират почти еднакво (Табл. 2). Доказано най-висок е процентът на поникналите и преживелите растения при сортовете Пловдив 10 (П-10) и Пловдив 11 М (П-11М).

Таблица 2. Доказаност на разликите между степените на фактор *B* (сортове)

Поникване, %			Преживяване, %			Вегетационен период		
Сорт	\bar{x}	Доказаност	Сорт	\bar{x}	Доказаност	Сорт	\bar{x}	Доказаност
П-10	75,22	a	П-10	66,00	a	Д-7	104,48	a
П-11М	74,91	a	П-11М	65,82	a	Д-2	103,98	a
Д-7	73,72	b	Ч. Ст.	65,05	ab	П-11М	97,23	b
Д-2	73,65	b	Д-7	64,74	b	Ч. Ст.	95,67	b
Ч. Ст.	73,41	b	Д-2	64,68	b	П-10	94,44	bc

Таблица 3. Доказаност на разликите между степените на фактор С (третираня)

Поникване, %			Преживяване, %			Вегетационен период		
Вариант	\bar{x}	Доказаност	Вариант	\bar{x}	Доказаност	Вариант	\bar{x}	Доказаност
Контрола рН 6,0	93,04	a	К-рН 6,0	90,82	a	6,2·10 ⁻³ М НЕК	103,57	a
Контрола рН 7,0	92,75	a	К-рН 7,0	89,75	a	2,5·10 ⁻² М EMC	101,90	a
1,55·10 ⁻³ М НЕК	82,67	b	6,2·10 ⁻³ М EMC	67,09	ab	3,1·10 ⁻³ М НЕК	101,27	b
6,2·10 ⁻³ М EMC	82,13	b	1,55·10 ⁻³ М НЕК	66,22	b	1,55·10 ⁻³ М НЕК	98,20	c
1,25·10 ⁻² М EMC	68,16	c	1,25·10 ⁻² М EMC	58,12	B	1,25·10 ⁻² М EMC	97,87	c
3,1·10 ⁻³ М НЕК	67,88	c	3,1·10 ⁻³ М НЕК	56,31	B	К-рН 6,0	97,20	c
2,5·10 ⁻² М EMC	55,02	d	2,5·10 ⁻² М EMC	48,78	B	6,2·10 ⁻³ М EMC	97,17	c
6,2·10 ⁻³ М НЕК	51,83	d	6,2·10 ⁻³ М НЕК	44,99	Bc	К-рН 7,0	96,10	d

Установява се, че продължителността на вегетационния период е най-малка при сорт Пловдив 10 - 94,44 дни. В една и съща група по ниво на доказаност са сортовете Чер Старозагорски (Ч. Ст.) и Пловдив 11М. Най-дълъг е вегетационният период при сортовете Добруджански 7 (Д-7) и Добруджански 2 (Д-2), независимо от проучваното поколение.

В таблица 3 са отразени резултатите за доказаността на разликите между вариантите на третиране за трите разглеждани признака, независимо от проучваното поколение или анализирания сорт. Прави впечатление, че по отношение на признаците “поникване” и “преживяване” вариантите на третиране имат сходно действие. Най-висок е процентът на поникване и преживяване при двете контроли, между които няма значима разлика. Следващи в градацията по тези признаци са вариантите на третиране с най-ниските концентрации от двата мутагена (1,55·10⁻³М НЕК и 6,2·10⁻³М EMC). Най-малък е процентът на поникване и преживяване след третиране с най-високите концентрации на двата мутагена - 6,2·10⁻³М НЕК и 2,5·10⁻²М EMC.

По отношение на признака “продължителност на вегетационния период” градирането на вариантите е напълно аналогично и в съответствие с разгледаните вариантни влияния при другите изследвани признаци.

Таблица 4. Доказаност на разликите между степените на фактора А (поколения М₁ и М₂)

Морфологични изменения, %			Хлорофилни изменения, %			Стерилност, %		
Вариант	\bar{x}	Доказаност	Вариант	\bar{x}	Доказаност	Вариант	\bar{x}	Доказаност
М ₁	14,57	a	М ₁	8,19	a	М ₁	12,10	a
М ₂	3,84	b	М ₂	2,84	b	М ₂	3,94	b

**Влияние на третирането с мутагенни фактори
върху някои биологични прояви на *Phaseolus vulgaris* L.**

Процентът на морфологичните, хлорофилните изменения и стерилните растения е доказано по-висок в M_1 в сравнение с M_2 -поколение (Табл. 4).

Проучваните сортове реагират аналогично по отношение на трите признака. Най-високи стойности по отношение на индуцираните морфологични и хлорофилни изменения, както и стерилността при растенията, са получени при сортовете Чер Старозагорски и Добруджански 7. Вероятно тези сортове са най-чувствителни към мутагенните въздействия. Като най-слабо чувствителен се проявява сорт Добруджански 2 (Табл. 5).

Таблица 5. Доказаност на разликите между степените на фактор **B** (сортове)

Морфологични изменения, %			Хлорофилни изменения, %			Стерилност, %		
Сорт	\bar{x}	Доказаност	Сорт	\bar{x}	Доказаност	Сорт	\bar{x}	Доказаност
Ч. Ст.	13,13	a	Ч. Ст.	8,43	a	Ч. Ст.	9,23	a
Д-7	9,67	b	Д-7	5,56	b	Д-7	8,24	b
П-11М	8,18	c	П-11М	4,83	c	П-10	7,89	c
П-10	7,99	c	П-10	4,57	c	П-11М	7,56	cd
Д-2	7,07	d	Д-2	4,20	d	Д-2	7,24	d

При отчитане доказаността на разликите между вариантите на третиране (Таблица 6) се установява, че доказано най-малък е този процент при контролите. Доказано най-високи стойности са отчетени след въздействие с високите концентрации на двата мутагена ($6,2 \cdot 10^{-3}$ М НЕК и $2,5 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС). Установява се, че комбинациите между M_1 -поколение и посочените две концентрации се характеризират с най-висок процент на възникнали хлорофилни и морфологични изменения на листата при проучваните сортове.

Таблица 6. Доказаност на разликите между степените на фактор **C** (третирания)

Морфологични изменения, %			Хлорофилни изменения, %			Стерилност, %		
Вариант	\bar{x}	Доказаност	Вариант	\bar{x}	Доказаност	Вариант	\bar{x}	Доказаност
$6,2 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	25,60	a	$6,2 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	17,59	a	$6,2 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	14,22	a
$2,5 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС	19,43	b	$2,5 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС	11,10	b	$2,5 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС	12,97	b
$3,1 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	10,84	c	$3,1 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	6,15	c	$3,1 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	11,74	c
$1,25 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС	8,65	d	$1,25 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС	4,14	d	$1,25 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС	9,93	d
$1,55 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	4,47	e	$1,55 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	3,0	e	$1,55 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	7,67	de
$6,2 \cdot 10^{-3}$ М ЕМС	3,41	e	$6,2 \cdot 10^{-3}$ М ЕМС	2,0	f	$6,2 \cdot 10^{-3}$ М ЕМС	6,41	e
К-рН 6,0	0,67	f	К-рН 6,0	0,1	g	К-рН 6,0	0,79	f
К-рН 7,0	0,59	f	К-рН 7,0	0,07	g	К-рН 7,0	0,73	f

Изследванията върху растенията от M_1 -поколение показват, че въздействието с мутагенните фактори оказва влияние върху динамиката им на растеж.

С увеличаване концентрацията на мутагенните фактори, при всички изследвани сортове се засилва потискането на растежа им.

Сортовете проявяват специфична динамика на растеж, като сорт Чер Старозагорски се развива по-бавно и растенията са с по-малка височина.

В таблица 7 са представени резултатите от проведения дисперсионен анализ по отношение на растежа на растенията в M_1 - и M_2 -поколение. Отчетено е влиянието на проучваните фактори – концентрации на приложените мутагени, сортови различия, измервания и взаимодействията между тях.

Таблица 7. Резултати от проведения дисперсионен анализ за динамиката на растеж на растенията от M_1 - и M_2 -поколение след третиране с НЕК и ЕМС

Причини за варирането	s^2		F - опитно		F - таблично	
	M_1 поколение	M_2 поколение	M_1 поколение	M_2 поколение	$P_{5\%}$	$P_{1\%}$
<i>A</i> (концентрации)	494,12	28,5	12,27 ⁺⁺	1,53 ^{n.s.}	2,03	2,69
<i>B</i> (сортове)	153,00	387,07	3,80 ⁺⁺	20,87 ⁺⁺	2,40	3,39
<i>C</i> (измервания)	19037,82	17307,34	472,87 ⁺⁺	933,51 ⁺⁺	3,03	4,68
<i>A x B</i>	991,87	27,25	24,63 ⁺⁺	1,47 ^{n.s.}	1,51	1,77
<i>A x C</i>	329,52	29,66	8,18 ⁺⁺	1,60 ^{n.s.}	1,73	2,15
<i>B x C</i>	85,35	254,74	2,12 ⁺	13,74 ⁺⁺	1,97	2,57
<i>A x B x C</i>	197,50	25,40	4,90 ⁺⁺	1,37 ^{n.s.}	1,40	1,59
Грешки <i>E</i>	40,26	18,54				

Изчислените стойности на критерия F на Фишер в M_1 са значимо по-високи от съответните критични стойности на F за $P_{5\%}$ и $P_{1\%}$, което определя и значимостта на изпитваните фактори върху проучваните параметри.

В M_2 -поколение влиянието на мутагенното третиране при всички варианти е по-слабо и статистически недостоверно.

Сортовите особености, измерванията и взаимодействията между тях са от съществено значение за растежа на растенията и във второ поколение.

ИЗВОДИ

Въз основа на получените резултати могат да се направят следните изводи:

1. Мутагенното въздействие с НЕК и ЕМС оказва влияние върху поникването, преживяването, стерилността, продължителността на вегетационния период, както и появата на хлорофилни и морфологични изменения на листата на растенията. Това влияние е по-силно изразено в M_1 -поколение;
2. При равни по леталност концентрации НЕК проявява по-силно действие в сравнение с ЕМС;
3. В M_1 -поколение се проявява ефект от приложената мутагенна концентрация;
4. Проучените сортове проявяват специфична реакция към третирането с мутагенните фактори и изследваните биологични прояви на растенията в M_1 - и M_2 -поколение.

ЛИТЕРАТУРА

- Зоз, Н.Н., Н.Н. Кожанова, Т.В. Сальникова. 1967.** Чувствителность различных сельскохозяйственных культур к воздействию химическими мутагенами. Генетика, 2, стр. 78-85.
- Ранчялис, В. 1978.** Регуляция чувствительности высших растений к мутагенным факторам. Вильнюс, Мокслас, 186 стр.
- Светлева, Д., С. Петкова. 1992.** Връзка между промените в M_1 и мутабилността в M_2 -поколение при фасул сорт N 564 след комбинирано въздействие с гама-радиация и N-нитрозо-N-етилкарбамид. Сб. резюмета II научна конф. по генетика и селекция, 13 ноември 1987, Разград, резюме стр. 35, Сп. "Генетика и селекция", 25: 3, стр. 254-260.
- Станева, Б. 1978.** Индуцирани мутации при вида *Phaseolus vulgaris* L. (S). Докторска дисертация, Русе, 245 стр.
- Ciftci, C.Y., N. Celik, S. Unver. 1994 a.** Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. var. nanus Dekap.) tohumlarına uygulanan farklı EMS (ethyl methane sulphonate) dozlarının M_1 bitkilerinin bazı özelliklerine etkileri (I). Ankara Univ. Ziraat Fakültesi Yıllığı, 44: 1-2, p. 65-71.
- Ciftci, C.Y., N. Celik, S. Unver. 1994 b.** Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. var. nanus Dekap.) tohumlarına uygulanan farklı EMS (ethyl methane sulphonate) dozlarının M_1 bitkilerinin bazı özelliklerine etkileri (II). Ankara Univ. Ziraat Fakültesi Yıllığı, 44: 1-2, p. 73-80.
- Silva, E.G., H.M. Barbosa, C.D. Cruz, C. Vieira. 1994.** Danos biológicos induzidos pela azida sodica em plantas M_1 de *Phaseolus vulgaris* L. Revista-Ceres, Jul-Aug 1994, v. 41: 236, p. 431-441.