

## СЕЛЕКЦИЯ НА БОБОВИ КУЛТУРИ



### ИНДУЦИРАНЕ НА МОРФОЛОГИЧНИ МУТАНТИ ПРИ ФАСУЛА ПОД ДЕЙСТВИЕ НА ХИМИЧНИТЕ МУТАГЕНИ НЕК И ЕМС

Дяна Светлева

Катедра "Генетика и селекция", Аграрен университет - Пловдив

#### Резюме

*Светлева, Д., 2004. Индуциране на морфологични мутанти при фасула под действие на химичните мутагени НЕК и ЕМС.*

Проучен е ефектът от третирането с различни концентрации на N-нитрозо-N-етил карбамид (НЕК) и етилметан сулфонат (ЕМС) на семена от сортовете фасул Добруджански 7, Добруджански 2, Пловдив 10, Пловдив 11М и Чер Старозагорски при индуциране на морфологични мутанти. Установено е, че проучваните сортове проявяват специфична реакция по отношение на третирането с НЕК и ЕМС. Индуцира се различна мутационна честота и ширина на мутационните спектри под действие на различните концентрации на двата мутагена. Най-мутабилни са сортовете Добруджански 2 и Пловдив 11М. Въздействието с ЕМС в концентрации  $6,2 \cdot 10^{-3}M$  и  $1,25 \cdot 10^{-2}M$  индуцира най-голям брой мутанти с едри семена и бобове, ран цъфтеж, къс вегетационен период и промяна в хабитуса на растенията. Резултатите са обработени статистически с метода "ф" (фи) на Фишер.

**Ключови думи:** Фасул, Мутагени, НЕК, ЕМС, Морфологични мутанти

#### Abstract

*Svetleva, D., 2004. Induction of morphological mutants in common bean under the effect of chemical mutagens NEU and EMS.*

Effect of treatment with different concentrations of N-nitroso-N-ethyl urea (NEU) and ethylmethan sulfonate (EMS) on seeds of common bean Dobroudjanski 7, Dobroudjanski 2, Plovdiv 10, Plovdiv 11M and snap bean Tcher Starozagorski varieties for induction of morphological mutants was studied. It was established that the investigated varieties manifested specific reactions to treatment with NEU and EMS. Different mutation frequency and width of mutation spectra were induced under the effect of different concentrations of the two mutagens. The most mutable were the varieties Dobroudjanski 2 and Plovdiv 11M. Treatment with EMS in concentrations  $6,2 \cdot 10^{-3}M$  and  $1,25 \cdot 10^{-2}M$  induced the highest number of mutants with bigger seeds and pods, early flowering, shorter vegetation period and changes in the plant architecture.

Results were statistically elaborated by the Fisher's method "φ".

**Key words:** Common bean, Mutagens, NEU, EMS, Morphological mutants

## УВОД

В сравнение с хлорофилните мутанти, морфологичните представляват по-голям интерес за селекционерите, тъй като сред тях могат да се открият форми, представляващи определен селекционен интерес.

Gaul (1965) посочва, че изборът на подходящ генотип е от голямо значение за получаването на индуцирани мутации и може да окаже решаващо влияние върху успеха на селекцията. Изборът на мутагенните фактори също е от значение, като се има предвид, че те проявяват специфично действие в зависимост от тяхната доза или концентрация и начина им на прилагане. Авторът установява, че по-високите дози и концентрации на мутагенните фактори индуцират по-широк мутационен спектър.

В България индуцирането на морфологични мутанти при фасула под действие на различни мутагенни фактори е изследвано от Рукмански (1972, 1979) и Станева (1972, 1978).

Целта на настоящата разработка е да се проучи ефектът от действието на N-нитрозо-N-етил карбамида (НЕК) и етилметан сулфоната (ЕМС) при индуциране на морфологични мутанти от фасул.

## 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. В  $M_2$ -поколение са отделени и групирани по типове морфологичните мутанти, които са определени по класификацията на Иванов (1961). За установяване честотата на мутиране е използван метода на Gaul (1964), отчитане броя на мутантите на 100  $M_2$ -растения.

Получените резултати са обработени статистически чрез методът "φ" (фи) на Фишер (Плохинский, 1967). В  $M_3$ -поколение, семената от отделените в  $M_2$  фертилни и витални мутанти, както и семената от нормалните  $M_2$ -растения са засети за отчитане и отбор на новопоявили се мутанти. В  $M_3$ -поколение е проверено унаследяването на изменените признаци, появили се в  $M_2$ , и са отстранени растенията с модификационни изменения.

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При нашите изследвания се установява ефект от приложената мутагенна концентрация. При всички сортове с увеличаване на концентрацията се увеличава честотата на индуцираните мутанти, като при равни по леталност концентрации НЕК индуцира морфологични мутанти с по-голяма честота в сравнение с ЕМС (Табл. 1).

От проведените изследвания се установява, че общо за всички сортове и варианти на третиране са индуцирани 15 типа морфологични мутанти. От тях с

**Таблица 1.** Честота и спектър на индуцираните морфологични мутанти, потвърдени в М<sub>3</sub> поколение

Варианти	Общ брой растения в М <sub>2</sub>	Брой мутантни типове	Общ брой мутанти	Мутационна честота, в % спрямо общия брой растения
<b>Сорт Добруджански 7</b>				
Контрола рН 6,0	1026	1	1	0,10 ± 0,10
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1050	5	106	10,09 ± 0,93
3,1 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	911	6	91	9,99 ± 0,99
1,55 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1258	4	91	7,23 ± 0,73
Контрола рН 7,0	2250	1	4	0,18 ± 0,09
2,5 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1298	3	95	7,32 ± 0,72
1,25 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1194	2	86	7,20 ± 0,75
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М ЕМС	2231	2	77	3,45 ± 0,39
<b>Сорт Добруджански 2</b>				
Контрола рН 6,0	1044	1	2	0,19 ± 0,13
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1132	10	140	12,37 ± 0,98
3,1 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1268	8	144	11,36 ± 0,89
1,55 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1200	6	126	10,50 ± 0,88
Контрола рН 7,0	1295	1	2	0,15 ± 0,11
2,5 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1136	9	116	10,20 ± 0,90
1,25 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1277	6	122	9,50 ± 0,82
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М ЕМС	1224	4	57	4,60 ± 0,60
<b>Сорт Пловдив 11 М</b>				
Контрола рН 6,0	1243	1	2	0,16 ± 0,11
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1226	14	181	14,76 ± 1,01
3,1 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1210	10	158	13,06 ± 0,97
1,55 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1265	8	149	11,78 ± 0,91
Контрола рН 7,0	1112	1	2	0,18 ± 0,13
2,5 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1207	10	150	12,43 ± 0,95
1,25 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1212	9	135	11,14 ± 0,90
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М ЕМС	1224	6	102	8,33 ± 0,79
<b>Сорт Пловдив 10</b>				
Контрола рН 6,0	1134	1	1	0,09 ± 0,09
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1084	9	73	6,73 ± 0,76
3,1 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1165	7	49	4,21 ± 0,59
1,55 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1234	4	26	2,11 ± 0,41
Контрола рН 7,0	1275	1	1	0,09 ± 0,08
2,5 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1228	10	53	4,31 ± 0,58
1,25 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1152	5	37	3,21 ± 0,52
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М ЕМС	1018	5	20	1,96 ± 0,43
<b>Сорт Чер Старозагорски</b>				
Контрола рН 6,0	1214	-	-	-
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1032	8	55	5,33 ± 0,70
3,1 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1300	8	67	5,15 ± 0,61
1,55 · 10 <sup>-3</sup> М НЕК	1226	7	27	2,20 ± 0,42
Контрола рН 7,0	1249	-	-	-
2,5 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1001	9	40	4,00 ± 0,62
1,25 · 10 <sup>-2</sup> М ЕМС	1124	7	33	2,93 ± 0,50
6,2 · 10 <sup>-3</sup> М ЕМС	1209	8	21	1,74 ± 0,38

най-висока честота спрямо общия брой мутанти са стерилните растения (61,7%). От останалите типове с висока честота са високорастящите растения (7,6%), растенията със скъсени междувъзлия (7,4%) и растенията с къдрави листа (5,9%).

**Индуциране на морфологични мутанти при фасула  
под действие на химичните мутагени НЕК и ЕМС**

С най-ниска честота са растенията с дребни семена (0,2%) и със заоблени листа (0,1%).

**Таблица 2.** Доказаност на резултатите,  
получени за морфологичните мутанти

Ва- ри- анти	Кон- трола рН 6,0	$6,2 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	$3,1 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	$1,55 \cdot 10^{-3}$ М НЕК	Кон- трола рН 7,0	$2,5 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС	$1,25 \cdot 10^{-2}$ М ЕМС	$6,2 \cdot 10^{-3}$ М ЕМС
<b>Сорт Добруджански 7</b>								
<b>F<sub>f</sub></b>		177,5	163,1	130,5		176,1	163,8	91,9
<b>P</b>	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%
<b>Сорт Добруджански 2</b>								
<b>F<sub>f</sub></b>		217,2	202,7	124,5		198,5	194,2	79,3
<b>P</b>	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%
<b>Сорт Пловдив 11 М</b>								
<b>F<sub>f</sub></b>		311,1	264,9	242,0		233,2	204,7	145,7
<b>P</b>	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%
<b>Сорт Пловдив 10</b>								
<b>F<sub>f</sub></b>		119,7	71,8	31,9		81,9	55,7	29,4
<b>P</b>	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%
<b>Сорт Чер Старозагорски</b>								
<b>F<sub>f</sub></b>		119,9	129,9	54,3		90,0	69,2	41,8
<b>P</b>	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%	P > 0,01%

$$F_{st} (3,8 - 6,6 - 10,8) = P (0,5 - 0,1 - 0,01\%)$$



**Фиг. 1.** Мутант (М-8-D<sub>7</sub>) с ран цъфтеж и едри бобове, получен след въздействие с  $1,25 \cdot 10^{-2}$  М ЕМС върху семена от сорт Добруджански 7

Индуцирани са сравнително голям брой растения с едри бобове (4,0%) и едри семена (3,2%). Необходимо е да се отбележи, че при много от тези мутанти се наблюдава ран цъфтеж, къс вегетационен период и промяна в хабитуса на растенията.

Най-ефективно за индуциране на такъв тип мутанти е въздействието с ниската ( $LD_{25-30} - 6,2 \cdot 10^{-3}$  М) и средната ( $LD_{45-50} - 1,25 \cdot 10^{-2}$  М) по леталност концентрации на ЕМС. След въздействие с тези концентрации са получени и нашите мутантни сортове Пловдив 11 М и Пловдив 15 М.

През годините на изследване не са отчетени морфологични мутанти от типа розетка - при сортовете Добруджански 7 и Чер Старозагорски; високорастящи растения – при Добруджански 7; нискорастящи растения – при Добруджански 7 и

Добруджански 2; растения със скъсени междувъзлия – при Добруджански 7; растения със заоблени листа – при Пловдив 10 и Чер Старозагорски и растения със заострени листа – при Чер Старозагорски. Растения с едри семена не са открити при сорт Добруджански 7. Растения с едри и дребни листа, както и с дребни семена са открити само при сорт Пловдив 11М. Растения с различно оцветяване на семената (сиви, бежови с напетняване и други) са открити само при сорт Чер Старозагорски.

Най-голямо разнообразие от морфологични мутанти е индуцирано при сорт Пловдив 11 М (14 типа), а най-малко – при сорт Добруджански 7 (6 типа).

### ИЗВОДИ

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

1. Проучваните сортове проявяват специфична реакция по отношение на третирането с двата мутагена, която се изразява в различна честота на мутиране и индуциране на различни типове морфологични мутанти.

2. Най-висока мутационна честота и най-широк мутационен спектър са отчетени при сортовете Добруджански 2 и Пловдив 11 М.

3. Въздействието с етилметан сулфонат в концентрации  $6,2 \cdot 10^{-3}$  М и  $1,25 \cdot 10^{-2}$  М индуцира най-голям брой мутанти с едри семена и бобове. Част от тези мутанти са с ран цъфтеж, къс вегетационен период и промяна в хабитуса на растенията.

### ЛИТЕРАТУРА

- Иванов, Н.Р.** 1961. Фасоль. Изд. Сельхозгиз, Ленинград.
- Плохинский, Н.А.** 1967. Алгоритмы биометрии. Изд. Моск. У-та, 81 стр.
- Рукмански, Г.Я.** 1972. Изучение мутационного действия гамма-облучения, этиленимина и некоторых его производных при их раздельном и совместном применении на *Phaseolus vulgaris L. (Savi)*. Кандидатская дисертация.
- Рукмански, Г.Я.** 1979. Проучване изменчивостта на признаците при фасула под въздействие на различни мутагенни фактори и възможностите за получаването на ценни за селекцията изменения. Научни трудове на ВСИ “В.Коларов” – Пловдив, 24: 1, стр. 97-101.
- Станева, Б.** 1978. Индуцирани мутации при вида *Phaseolus vulgaris L. (S)*. Докторска дисертация, Русе, 245 стр.
- Станева, Б.И.** 1972. Индуцирани мутанти при фасула. I. Малки сребристи листа. Тъмнозелени набръчкани листа. Сп. Генетика и селекция, 5: 5, стр 409-412.
- Gaul, H.** 1964. Mutation in plant breeding. Radiation Botany, 4: 3, p. 155.
- Gaul, H.** 1965. Genetics today. Proceedings XI Int. Congress Genet., 3, p. 689.