

ИЗПОЛЗВАНЕ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИЯ МУТАГЕНЕЗ ПРИ НАХУТА (*CICER ARIETINUM L.*)

Добринка Атанасова, Михо Михов

Добруджански земеделски институт - гр. Генерал Тошево

Резюме

*Атанасова Д., М. Михов, 2004. Използване на експерименталния мутагенез при нахута (*Cicer arietinum L.*).*

Два сорта нахут с контрастни признаци са подложени на мутагенно третиране с гама-лъчи и етилметан сулфонат (EMS), самостоятелно и комбинирано. Гама-лъчите са в дози 50 Gy, 100 Gy, 150 Gy, 200 Gy, 250 Gy, 300 Gy и 350 Gy. EMS е в концентрации 0.05%, 0.1% и 0.2%. Комбинираните варианти са 50Gy + EMS 0.05% и 50Gy + EMS 0.1%. Резултатите показват, че ниските и средни дози гама-лъчи имат слаб положителен ефект върху полската кълняемост и преживяемостта. EMS понижава наполовина преживяемостта с увеличаване на концентрацията. Увеличаването на дозите на двата мутагена води до намаляване процента на фертилните растения и повишаване този на частично фертилните и стерилните. Индуцирането на мутации зависи от генетичната структура на използваните материали. Честотата на мутациите проявява сортова зависимост, както и ефект от приложената доза на мутагените. Гама-лъчите и EMS се различават по мутационните спектри на индуцираните хлорофилни и морфологични мутации. Получено е голямо разнообразие от мутации, които обогатяват генофонда при нахута. Интерес представляват морфологичните мутации, като една част от тях се включват директно в селекционния процес, а друга служат за изходен материал в хибридационните програми.

Ключови думи: Нахут, Мутации, Честота, Спектър

Abstract

*Atanasova D., M. Mihov, 2004. Using experimental mutagenesis on chickpea (*Cicer arietinum L.*).*

Two chickpea varieties with contrast features were treated with gamma rays and ethylmetan sulphonate (EMS), independently and in combination. Gamma rays were applied at doses 50 Gy, 100 Gy, 150 Gy, 200 Gy, 250 Gy, 300 Gy and 350 Gy. EMS was in concentration 0.05%, 0.1% и 0.2%. The combined varieties were 50Gy + EMS 0.05% и 50Gy + EMS 0.1%. The results showed that the lower and middle doses of gamma rays have a slight positive effect on field germination and survival. EMS reduced in half the survival with increasing the concentration. Increasing the doses of the two mutagens lead to reducing the percent of the fertile plants and increasing those of

the partially fertile and sterile plants. Induced mutations depended on the genetic architecture of the used materials. The mutation frequency showed varietal dependency as well as an effect of the applied mutagen's dose. Gamma rays and EMS differed in mutation spectrum of induced chlorophyll and morphological mutations. A wider diversity of mutations were obtained which enrich the chickpea's germplasm.

Morphological mutations are of great interest. Some of them are directly used in selection. Another part is used as initial material in hybridization programs.

Key words: Chickpea, Mutations, Frequency, Spectrum

УВОД

Нахутът е бобова култура, която се характеризира с добра сухоустойчивост, продуктивност, пригодност за механизирано отглеждане и прибиране. Селекционно-подобрителната работа при нахута, както в световен мащаб, така и в България, е започната сравнително късно. Експерименталният мутагенез като похват се прилага у нас след 1970 г. (Рукмански и Радков, 1979). При нахута са използвани различни мутагени и дози. Получено е голямо разнообразие от мутантни форми (Kharkwal et al., 1988; Naq et al., 1994).

Целта на нашето изследване е да се проучат методите на експерименталния мутагенез с оглед създаване на ново генетично разнообразие при нахута.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследването е проведено в периода 1997-2001 г. в ДЗИ - гр. Ген. Тошево. На мутагенно третиране са подложени въздушно сухи семена от два сорта: *Образцов чифлик 1* (с черни, грапави семена, с неправилна форма, средноедри) и *Степной 1* (с кремави, гладки семена, с граховидна форма, дребни). Използвани са два вида мутагенни фактори: физични (гама-лъчи) и химични (етилметан сулфонат - EMS) самостоятелно и комбинирано. Гама-лъчите са приложени в дози от 50 Gy, 100 Gy, 150 Gy, 200 Gy, 250 Gy, 300 Gy, 350 Gy. Облъчването е извършено в гама-установката на Института по генетика - София. EMS се използва в три концентрации - 0.05%, 0.1% и 0.2%. Третирането е извършено в мутагенната лаборатория на ИГ - София. Комбинираното приложение на двата мутагена е в следните съотношения: 50 Gy + EMS 0.05% и 50 Gy + EMS 0.1%, като семената първо са облъчени и след това са третирани с химичния мутаген при експозиция 4 часа и 21°C. Използвани са два вида контроли: суха и мокра (накисната само във вода).

На следващия ден след третирането семената са засети на полето в 4-метрова лека и 0.45 m междуредие по стандартен метод за M_1 . Част от растенията в M_1 са прибрани отделно и засети като M_2 -потомства. Останалата част от семената са събрани по варианти и засети като бълк.

Полската кълняемост и преживяемостта в M_1 са отчетени в процент спрямо контролните варианти. Степента на стерилност е отчетена в процент спрямо реколтираните растения.

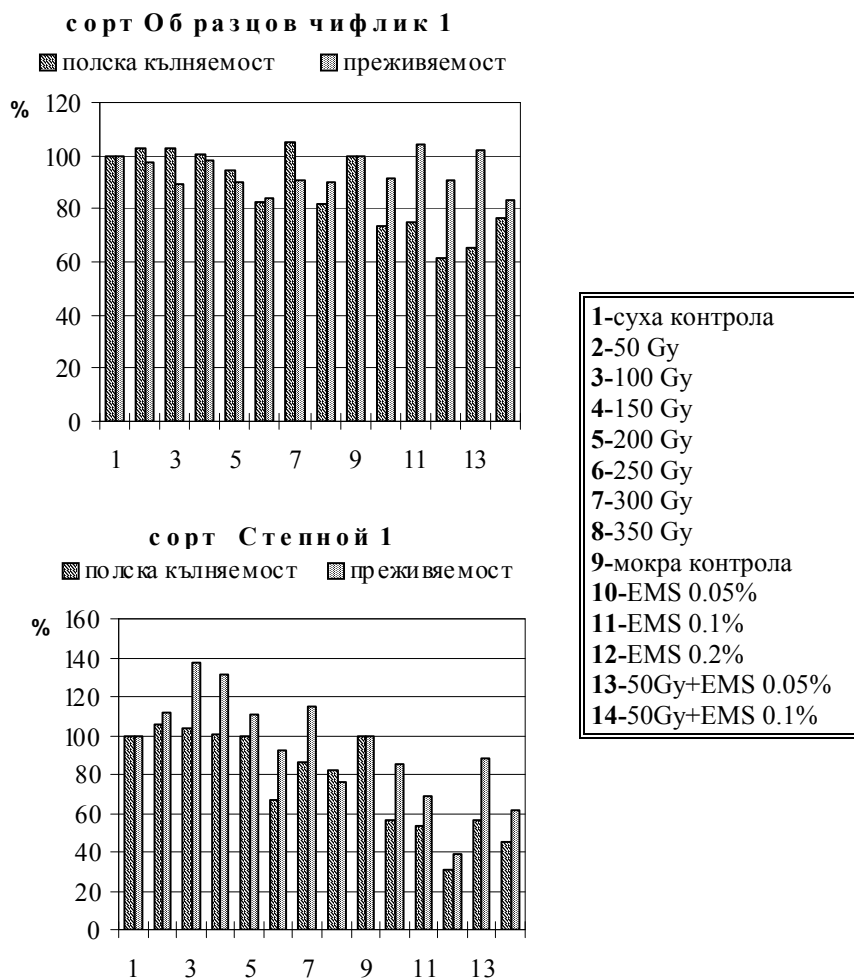
По време на вегетацията на M_1 - и M_2 -поколения са маркирани растения с явни отклонения от нормалните. В M_2 са отделени и групирани по типове морфологичните и хлорофилните мутации.

За установяване честотата на мутиране е използван метода на Gaul (1964) -

като брой мутанти на 100 M₂-растения.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Гама-лъчите и етилметан сулфонатът влияят по различен начин върху полската кълняемост и преживяемостта при двата сорта нахут (фигура 1). Самостоятелното използване на гама-лъчите в дози 50 и 100 Gy оказват лек стимулационен ефект върху полската кълняемост и при двата сорта.



Фиг. 1. Полска кълняемост и преживяемост при нахута

С увеличаване на дозите се намаляват стойностите на този показател - до 81.6% (при Обр. чифлик 1) и до 82.2% (при Степной 1). Изключение прави дозата от 300 Gy при сорт Образцов чифлик 1, където стойността на полската кълняемост е по-висока от тази на контролата с 5.1%.

Самостоятелното използване на EMS при двата сорта води до понижаване на полската кълняемост в сравнение с контролата с 38.2% (при Обр. чифлик 1) и

69.4% (при Степной 1). Комбинираното приложение на двата мутагена действа различно върху показателя при двата сорта. Въпреки че стойностите на показателя са под тези на контролата, при сорт Образцов чифлик 1 при варианта с по-високата концентрация на EMS се наблюдава леко покачване.

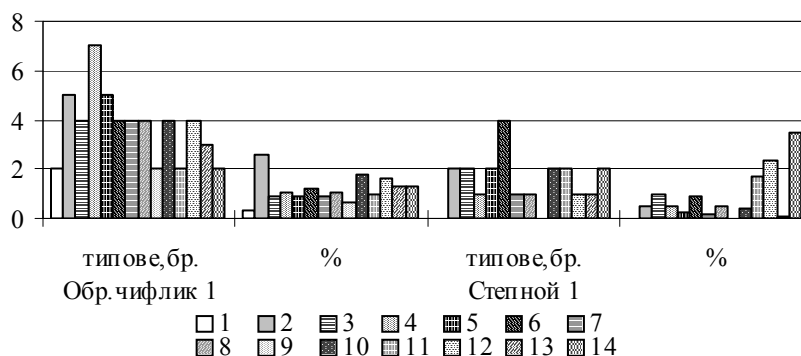
Действието на мутагените върху преживяемостта показва сортова зависимост. При сорт Обр. чифлик 1 се наблюдава ефект от дозата - с увеличаване на дозите гама-лъчи се понижава преживяемостта. При сорт Степной 1 ниските и средни дози гама-лъчи действат положително и повишават преживяемостта от 11.2 до 37.2% над контролата.

Действието на EMS също се влияе от генотипа. При сорт Степной 1 увеличаването на концентрацията намалява процента на преживелите растения повече от два пъти - с 61%. При сорт Обр. чифлик 1 концентрацията от 0.1% повишава преживяемостта с 4.1% над контролата. Увеличаване на концентрацията на EMS при комбинираното използване води до намаляване на преживяемостта при Образцов чифлик 1 и Степной 1 - съответно с 16.8% и 38%.

Друг показател за радио- и хемичувствителността на растенията е тяхната стерилност. С увеличаване дозите на облъчване се намалява процентът на нормалните растения, а се увеличава този на частично фертилните и стерилните (таб. 1). При сорт Обр. чифлик 1 най-висок процент на стерилни и частично фертилни растения спрямо реколтираните се наблюдава при 200-250 Gy - съответно 15.7% и 31.6%. Етилметан сулфонатът също увеличава процента на стерилните растения. Най-висок е той при комбинираното приложение на 50Gy+EMS 0.1% - 14.3%. При Степной 1 се наблюдава същата тенденция. При него процентите на стерилните и частично фертилните растения са по-високи от тези при Обр. чифлик 1 – респективно 45.9% и 77.7%. Високото ниво на стерилност при Степной 1 е свързано с ниския процент на преживяемост. Това се наблюдава особено ясно при неблагоприятни условия през вегетацията. До подобни изводи достигат и други изследователи (Khanna et al. (1981); Bhatnagar (1984); Sharma et al. (1986); Михов и Механджиев (1990)).

Таблица 1. Влияние на различните дози на мутагените върху стерилността на растенията в М₁ при сортовете Образцов чифлик 1 (1) и Степной 1 (2)

Вариант	Реколтирани раст.бр.		Фертилни раст., %		Частично фертилни,%		Стерилни растения, %	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Суша контрола	144	105	73.6	17.2	20.4	48.8	6.1	34.0
50Gy	146	124	63.8	16.2	22.6	60.7	13.7	23.1
100Gy	136	146	57.4	21.2	29.9	63.4	12.7	15.4
150Gy	145	135	62.1	22.3	27.7	51.7	10.7	26.0
200Gy	133	119	56.5	19.0	30.2	55.3	13.3	25.7
250Gy	107	89	52.8	16.9	31.6	53.7	15.7	29.4
300Gy	138	113	62.8	16.4	28.5	58.4	8.7	25.2
350Gy	103	79	78.4	15.3	16.2	77.7	5.5	45.9
Мокра контрола	144	80	62.6	29.6	30.0	59.7	7.4	10.7
EMS 0.05%	105	43	59.2	32.9	31.2	51.8	9.6	15.3
EMS 0.1%	119	36	61.3	41.7	25.8	41.7	12.9	16.7
EMS 0.2%	90	20	57.2	25.6	34.6	64.1	8.14	10.3
50Gy+EMS0.05%	100	48	66.5	35.8	26.2	44.2	7.3	20.0
50Gy+EMS0.1%	107	31	56.4	37.1	29.0	51.6	14.3	11.3



Фиг. 2. Честота и спектър на хлорофилните мутации

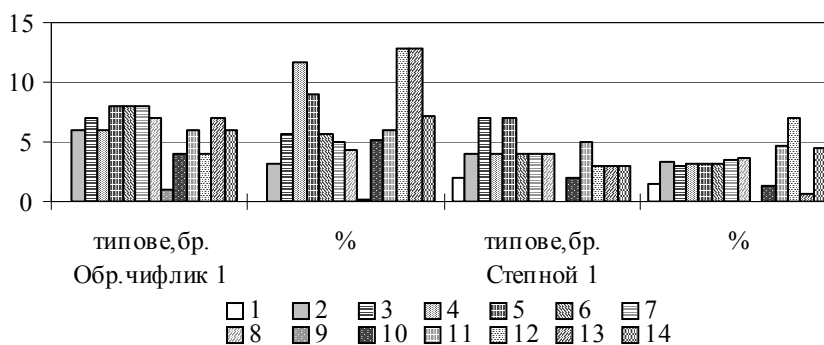
Сортовете, включени в изследването, се различават по честотата и спектъра на индуцираните хлорофилни мутации (фиг. 2). Сорт Образцов чифлик 1 се отличава с по-висока честота и по-широк спектър на мутациите от сорт Степной 1. Установява се ефект от концентрацията на приложения химически мутаген при сорт Степной 1, където с увеличаване на концентрацията се повишава и честотата на хлорофилните мутации. При самостоятелното използване на EMS повишението е от 0.43 до 2.31%. При комбинираното приложение това увеличение е от 0.11 до 3.5%. Такава тенденция не се установява при другия сорт, както и при прилагането на гама-лъчите.

Двата сорта се различават и по броя на индуцираните мутации. При Обр. чифлик 1 те варират от 2 до 7, а при Степной 1 - от 1 до 4. И при двата сорта гама-лъчите предизвикват повече хлорофилни мутации от EMS. Дозата от 150 Gy при Обр. чифлик 1 предизвиква най-голям брой изменения (7 бр.), а при Степной 1 - дозата от 250 Gy (4 бр.).

В сравнение с хлорофилните, морфологичните мутации представляват по-голям интерес за селекцията. Сред тях могат да се открият форми с полезни стопански качества и такива, които да обогатят генофонда на културата.

Проследявайки резултатите, се установява известен паралел между закономерностите, установени при индуциране на хлорофилните и морфологични мутации при нахута.

Честотата на мутиране е различна и е по-висока при сорт Образцов чифлик 1 (фиг. 3). Тя варира от 3.24 до 12.9%, а при Степной 1 - от 0.66 до 6.92%. При Образцов чифлик 1 се наблюдава и по-широк спектър на морфологични мутации.



Фиг. 3 Честота и спектър на морфологичните мутации

Гама-лъчите и при двата сорта предизвикват по-голям брой и по-разнообразни мутации. При Обр. чифлик 1 морфологичните мутации достигат до 8 броя, като най-много са при дозите от 200 до 300 Gy. При Степной 1 най-голям е броят им при 200 Gy - 7 броя.

Действието на EMS е в пряка зависимост от концентрацията и при двата сорта – с увеличаване на концентрацията се повишава честотата на мутиране - от 5.11 до 12.9% (при Обр. чифлик 1) и от 1.3 до 6.92% (при Степной 1). Използването на гама-лъчите не е свързано със строга закономерност. При сорт Обр. чифлик 1 по-високи честоти се наблюдават при средните дози гама-лъчи – 150 Gy – 200 Gy. По-нататъшното увеличаване на дозата води до намаляване на честотите.

ИЗВОДИ

Ниските до средни дози гама-лъчи влияят положително върху полската кълняемост и при двата сорта, както и върху преживяемостта при сорт Степной 1. EMS при Степной 1 намалява процента на преживелите растения повече от два пъти.

Повишаване на дозите гама-лъчи и концентрацията на EMS води до намаляване процента на фертилните растения и увеличаване този на частично фертилните и стерилните.

От двата сорта нахут по-едросеменният (сорт Образцов чифлик 1) е по-радиочувствителен и по-мутабилен от дребносеменния (сорт Степной 1). При него честотата и спектъра на хлорофилните и морфологичните мутации са по-високи.

Двата вида мутагени се различават в своето действие. Гама-лъчите предизвикват мутации с по-висока честота и по-широк спектър от EMS. Високите дози стесняват спектъра на мутациите. С увеличаване концентрацията на EMS и при двата сорта се повишава честотата на морфологичните мутации.

ЛИТЕРАТУРА

- Михов М. и Ат. Механджиев. 1990.** “Влияние на различните дози гама лъчи (Co^{60}) върху кълняемостта, растежната сила, преживяемостта и стерилитета на лещата в M_1 ”, в Сборник IV Национална конференция Йонизиращата радиация и лазерите в селското стопанство и хранителната промишленост”, 20-23.09, МДУ “Ж. Кюри”, Варна, СНД - клон Ст. Загора.
- Рукмански Г. и П. Радков. 1979.** “Агробиологична характеристика на някои мутантни форми нахут”, Растениевъдни науки, год. XVI, №4, стр. 51-58.
- Bhatnagar S.M. 1984.** “Interaction of physical and chemical mutagens in kabuli chickpeas”, International Chickpea Newsletter, №11, p. 17.
- Gaul H. 1964.** “Mutation in plant breeding”, Radiation Botany, 4: 3, p. 155.
- Haq, M.A., K.B. Singh, Z. Abidin and M.S. Ahmad. 1994.** “Mutation studies in chickpea (*Cicer arietinum* L.) III. Selection of mutants in M_2 generation”, Pakistan Journal of Agricultural Science, vol. 31, №1, p. 13-22.
- Khanna V.K. and Maherchandani N. 1981.** “Comparison of radiosensitivity of different genotypes of chickpea (*Cicer arietinum* L.)”, International Chickpea Newsletter, №5, p. 8-9.
- Kharkwal, M.C., H.K. Jain and B. Sharma. 1988.** “Induced mutations for improvement of chickpea, lentil, pea and cowpea”, In: Improvement of Grain Legume Production Using Induced Mutations (Proc. Workshop Pullman, 1986) IAEA, Vienna, 89-109.
- Sharma S.K. and Sharma B. 1986.** “Mutagen sensitivity and mutability in lentil”, Theoretical and applied genetics, 71 (6), p. 820-825.