

УДК 631.527.528.62:633.854.54

ЧАСТОТА И СПЕКТР МУТАЦИЙ У РАСТЕНИЙ ЛЬНА (*LINUM HUMILE* MILL.) ПОД ДЕЙСТВИЕМ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ДИМЕТИЛСУЛЬФАТА

А.В. ТИГОВА, А.И. СОРОКА

*Институт масличных культур Национальной академии аграрных наук Украины
69063 Запорожская обл., Запорожский р-н, пос. Солнечный, ул. Институтская, 1
e-mail: anna.tigova@gmail.com*

Изучено влияние новых химических мутагенов ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9 — производных диметилсульфата (ДМС) — на частоту и спектр мутаций у *Linum humile* Mill. в поколении M_2 . В поколении M_1 у сортов льна Айсберг и Солнечный изучены выживаемость растений и ряд морфометрических характеристик. Показано, что производные ДМС оказывали как ингибирующее, так и стимулирующее действие на исследованные признаки. В следующем поколении M_2 предварительно оценены частота и спектр мутаций. Окончательный вывод о наличии мутаций в M_2 делали после подтверждения их проявления в поколении M_3 . Установлено, что суммарная частота мутаций, вызванных мутагенами серии ДГ, существенно превышала частоту мутаций, индуцированных исходным соединением ДМС, и составляла от 1,96 до 20,37 % в зависимости от сорта и концентрации мутагена. Частота мутаций, обусловленных новыми мутагенами, не превышала частоту мутаций, вызванных мутагеном этилметансульфонатом (ЭМС), однако эти мутагены отличались по спектру индуцируемых мутаций. В результате мутагенной обработки выявлено 27 типов мутаций, которые были разделены на пять групп в зависимости от характера и направленности изменений. Установлена повышенная мутабельность сорта Солнечный по сравнению с сортом Айсберг. Показано, что при повышении концентрации мутагенов частота мутаций у обоих сортов существенно увеличивалась.

Ключевые слова: *Linum humile* Mill., лен, мутагенез, поколение M_1 , поколение M_2 , диметилсульфат, производные диметилсульфата, этилметансульфонат, мутация, спектр, частота.

Использование метода экспериментального мутагенеза открывает широкие возможности для создания ценного исходного материала в селекции культурных растений [1, 4—7, 9, 11, 15, 16]. Мутагенез занимает одно из ведущих мест среди приемов, которые с успехом можно использовать для создания новых линий. С помощью данного метода уже создано 1611 сортов, в том числе 13 сортов льна. Среди этих образцов, принадлежащим к 141 виду культурных растений, 1152 являются мутантными сортами, созданными методом прямого отбора, и 459 сортов получены путем вовлечения мутантов в процесс гибридизации [3, 7]. В многочисленных работах по экспериментальному мутагенезу растений показано, что мутации, индуцированные физическими и химическими мутагенами, качественно равноценны мутациям, возникающим спонтанно [5, 6, 10]. Частота и спектр видимых мутаций характеризуют интенсивность

мутационного процесса и мутабельность сортов. При этом изменение признаков происходит как в положительную, так и отрицательную сторону. Индуцирование мутаций увеличивает частоту измененных форм в 1000 раз по сравнению со спонтанным уровнем [10]. На сегодня среди химических мутагенов наиболее широко в мире используются алкилирующие агенты, а именно нитро- и diaзосоединения. В связи с этим важным направлением в области экспериментального мутагенеза и мутационной селекции растений является поиск новых мутагенов, индуцирующих мутации с высокой частотой, а также изучение специфики их действия для получения ценных мутаций.

Целью нашей работы было выявление особенностей действия новых химических мутагенов ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9 в зависимости от их концентрации на различные признаки растений льна в поколениях M_1 и M_2 , а также установление эффективности индуцирования мутаций льна с помощью этих химических соединений по сравнению с ДМС и ЭМС.

Методика

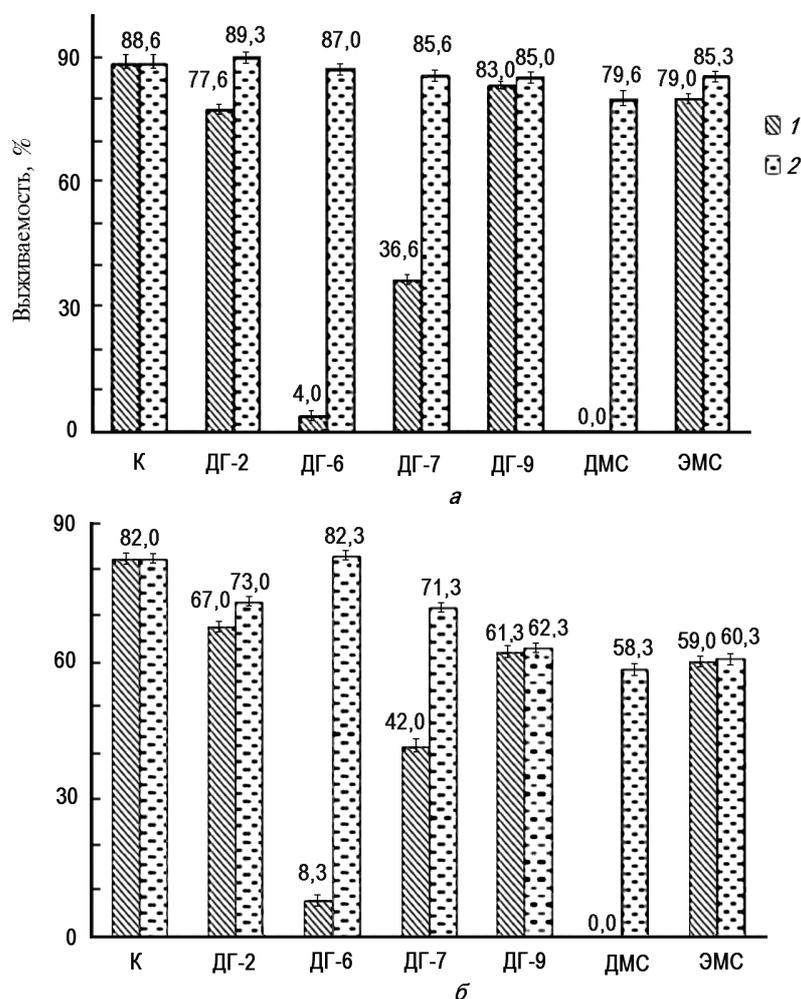
Семена льна масличного *Linum humile* Mill. сортов Айсберг и Солнечный в количестве 300 на вариант замачивали в 0,05 и 0,5 %-х водных растворах мутагенов ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9, ДМС, ЭМС на 16 ч. В контрольном варианте семена замачивали в дистиллированной воде. Мутагены ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9 являются производными ДМС. Они были синтезированы в Институте биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины и любезно предоставлены П.Г. Дульневым.

ДМС и ЭМС — мутагены, которые довольно часто используются в целях мутационной селекции [8, 12–14, 17, 18], однако производные серии ДГ являются новыми химическими соединениями и ранее в экспериментальном мутагенезе на культуре льна не применялись. Обычно при действии ЭМС происходит алкилирование гуанина по месту 7-го атома азота (N-7), который после этого приобретает способность спариваться с тиминном, что приводит к транзиции, вследствие чего и может произойти мутация [14, 17, 18]. Из литературных данных также известно [12, 13, 18], что ЭМС и ДМС вызывают разрывы хромосом и что большинство воссоединений происходит внутривнутрихромосомно, приводя к образованию большого числа хромосомных инверсий.

Для анализа влияния мутагена на растения в поколении M_1 исследовали такие показатели, как выживаемость растений, а также измеряли высоту растений, подсчитывали количество боковых побегов на главном стебле и количество коробочек на одном растении.

В M_2 предварительно оценивали спектр и частоту мутаций. Частоту предполагаемых мутантных изменений определяли как отношение числа мутантных семей к общему их количеству. Для получения поколения M_3 семена растений с мутационными изменениями, отобранные в M_2 , высевали в открытый грунт питомника. Семьи M_2 , в которых мутации были летальными, собирали полностью с целью выявления растений с данными изменениями в поколении M_3 . Окончательный вывод о наличии мутаций в M_2 делали после подтверждения их проявления в поколении M_3 .

Статистическую обработку результатов, расчет средних, погрешностей, уровня значимости отличий по t -критерию проводили согласно общепринятым методикам [19].



Выживаемость растений М₁ после обработки семян льна масличного сортов Айсберг (а) и Солнечный (б) химическими мутагенами концентрацией 0,5 (1) и 0,05 % (2)

Результаты и обсуждение

В поколении М₁ мутагены ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9, ДМС и ЭМС в концентрациях 0,5 и 0,05 % оказывали существенное влияние на выраженность таких признаков растений льна, как выживаемость растений, а также ряда морфологических характеристик (высота растений, количество боковых побегов на главном стебле, количество коробочек на одном растении).

Из рисунка видно, что мутагенный фактор в поколении М₁ по-разному повлиял на такой важный показатель, как выживаемость растений.

Согласно результатам исследования, выживаемость растений существенно зависела от вида мутагена. По сравнению с контролем выживаемость растений сорта Айсберг в зависимости от использованного мутагена колебалась в пределах 4,0—89,3 %, сорта Солнечный — от 8,3 до 82,3 %. Значимые отличия от контроля по этому признаку наблюдались при действии всех изученных мутагенов, кроме ДГ-9, который не повлиял

ял на выживаемость растений сорта Айсберг. Следует отметить, что при обработке мутагеном ДМС концентрацией 0,5 % у сортов Айсберг и Солнечный погибло 100 % растений. Обработка обоих сортов мутагеном ДГ-6 концентрацией 0,5 % оказывала сильное негативное влияние на растения льна. В результате показатель выживаемости был на уровне 4,0 % у сорта Айсберг и 8,3 % у сорта Солнечный. В связи с низким показателем выживаемости в поколении M₁ при обработке данным мутагеном в поколении M₂ у сорта Айсберг было проанализировано всего 5 семей, у сорта Солнечный — 21 семья.

Важным критерием эффективности мутагенов является изменение высоты и других морфометрических показателей растений в первом мутантном поколении.

ТАБЛИЦА 1. Изменение морфометрических характеристик растений *Linum humile* Mill. сортов Айсберг и Солнечный в результате обработки семян химическими мутагенами

Мутаген	Вариант (концентрация мутагена, %)	Высота растения, см	Количество коробочек на растении, шт.	Количество боковых побегов на главном стебле, шт.	Количество семян на растении, шт.
Сорт Солнечный					
Контроль	0	57,5±0,60	22,1±1,27	8,2±0,24	132,1±7,19
ДГ-2	0,5	49,9±0,58 ^{*3}	18,0±0,76 ^{*2}	6,1±0,20 ^{*3}	115,5±4,90
	0,05	58,9±0,49	24,1±1,12	8,4±0,22	174,2±7,95 ^{*3}
ДГ-6	0,5	57,1±1,46	63,5±4,89 ^{*3}	12,3±0,84 ^{*3}	491,4±38,70 ^{*3}
	0,05	63,1±0,63 ^{*3}	27,1±1,20 ^{*2}	8,3±0,24	206,1±8,94 ^{*3}
ДГ-7	0,5	52,9±0,86 ^{*3}	33,7±2,44 ^{*3}	8,6±0,39	231,2±17,29 ^{*3}
	0,05	60,9±0,52 ^{*3}	28,9±1,36 ^{*3}	8,4±0,24	208,6±9,51 ^{*3}
ДГ-9	0,5	55,3±0,71 ^{*1}	23,8±1,45	7,3±0,24	165,8±10,79 ^{*2}
	0,05	62,7±0,66 ^{*3}	34,7±1,82 ^{*3}	9,9±0,30 ^{*3}	223,6±12,93 ^{*3}
ДМС	0,5	—	—	—	—
	0,05	55,0±0,66 ^{*2}	22,5±1,26	8,9±0,24 ^{*1}	135,5±7,61
ЭМС	0,5	51,2±0,74 ^{*3}	21,1±1,34	7,3±0,22 ^{*2}	73,1±4,83 ^{*3}
	0,05	60,9±0,65 ^{*3}	37,1±2,03 ^{*3}	9,2±0,29 ^{*2}	253,9±15,93 ^{*3}
Сорт Айсберг					
Контроль	0	54,9±0,42	13,3±0,83	5,1±0,22	64,9±4,24
ДГ-2	0,5	53,2±0,37 ^{*2}	24,7±1,15 ^{*3}	6,4±0,18 ^{*3}	156,7±8,06 ^{*3}
	0,05	55,9±0,44	15,4±1,60	6,2±0,26 ^{*2}	76,3±3,79 ^{*1}
ДГ-6	0,5	55,2±2,68	138,2±22,53 ^{*3}	16,8±0,97 ^{*3}	994,8±23,57 ^{*3}
	0,05	56,1±0,36 ^{*1}	13,9±0,49	5,2±0,14	57,8±2,64
ДГ-7	0,5	52,7±0,33 ^{*3}	45,0±3,12 ^{*3}	8,5±0,38 ^{*3}	302,7±22,5 ^{*3}
	0,05	57,4±0,70 ^{*2}	15,3±0,81	5,9±0,16 ^{*2}	67,9±4,38
ДГ-9	0,5	55,0±0,39	17,3±1,07 ^{*2}	4,1±0,21 ^{*3}	98,1±6,34 ^{*3}
	0,05	56,1±0,42 ^{*1}	19,8±1,27 ^{*3}	5,7±0,20	121,0±8,05 ^{*3}
ДМС	0,5	—	—	—	—
	0,05	53,5±0,54 ^{*1}	18,1±1,24 ^{*3}	6,6±0,51 ^{*2}	91,5±6,29 ^{*3}
ЭМС	0,5	53,3±0,61 ^{*1}	13,6±0,91	4,7±0,18	48,8±3,16 ^{*2}
	0,05	53,6±0,43 ^{*1}	19,0±1,15 ^{*3}	5,3±0,19	69,7±5,15

Примечание: ^{*1}, ^{*2}, ^{*3} — отличия от контроля статистически значимы с вероятностью 95, 99 и 99,9 % соответственно.

Согласно данным табл. 1, мутагены ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9, ДМС и ЭМС в концентрациях 0,5 и 0,05 % оказали существенное влияние на выраженность большинства морфологических показателей растений льна в поколении M_1 . Изменение ряда морфометрических характеристик и разная выживаемость растений в поколении M_1 после обработки семян льна химическими мутагенами подтвердили эффективность изученных мутагенов, что предполагает получение высокой частоты и широкого спектра мутаций в поколении M_2 .

Таким образом, химические мутагены оказали общее биологическое действие на растения льна в поколении M_1 , вызывали гибель растений, задержку или стимулирование их роста и развития. Поскольку отличия достоверные, а условия выращивания идентичные, можно говорить о разном биологическом влиянии исследованных мутагенов на растения льна в поколении M_1 .

В следующем поколении M_2 нами получен широкий спектр мутаций, представленный 27 типами изменений, которые были разделены на пять групп (табл. 2).

Мутации с нарушением синтеза хлорофилла выявляли у всходов и взрослых растений обоих исследованных сортов. Эти изменения обнаруживали с достаточно высокой частотой (табл. 3, 4). Среди мутагенов, производных ДМС (ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9), максимальная частота появления хлорофилльных изменений у сортов Айсберг и Солнечный наблюдалась при обработке мутагеном концентрацией 0,5 %. Из мутагенов серии ДГ наиболее эффективным в концентрации 0,5 % оказался мутаген ДГ-9, обработка которым привела к появлению хлорофилльных изменений с частотой 6,37 % у сорта Айсберг и 11,64 % у сорта Солнечный. При обработке этим же мутагеном в концентрации 0,05 %

ТАБЛИЦА 2. Спектр мутаций *Linum humile* Mill. в поколении M_2 , индуцированный химическими мутагенами

Группа мутаций	Тип мутаций
I. Мутации с нарушением синтеза хлорофилла у всходов и взрослых растений	Albina (1 [*]); viridis-albina (2 [*]); xantha (3 [*]); chlorina (4 [*]); viridis (5 [*]); lutescent (6 [*]); striata (7 [*]); corroded (8 [*])
II. Мутации структуры стебля, побегов и листьев	Три семядоли (9 [*]); высокорослые (10 [*]); низкорослые (11 [*]); карлики (12 [*]); зигзагообразный стебель (13 [*])
III. Изменение окраски лепестков венчика и пыльников, формы лепестков и бутонов	Сорт Айсберг: светло-голубые лепестки, кремовые пыльники (14 [*]); голубые лепестки, голубые пыльники (15 [*]); измененная форма лепестков (16 [*]). Сорт Солнечный: светло-розовые лепестки, кремовые пыльники, розовый бутон (17 [*]); белые лепестки, кремовые пыльники, белый бутон (18 [*]); нераскрывающийся венчик (19 [*])
IV. Мутации окраски семян	Сорт Айсберг: желтая (20 [*]) Сорт Солнечный: коричневая (21 [*]); горчичная (22 [*]); пестрая (23 [*])
V. Мутации по физиологическим признакам роста и развития	Скороспелые растения (24 [*]); позднеспелые растения (25 [*]); мутация стерильности (26 [*]); нарушение развития семян (27 [*])

*Числовые обозначения типов мутаций, использованные в настоящей работе.

ТАБЛИЦА 3. Частота индуцированных мутаций у *Linum hispidum* Mill. сорта Айсберг в поколениях M_2 , %

Мутации	Конг- роль	ДГ-2	ДГ-6	ДГ-7	ДГ-9	ЭМС	ДГ-2	ДГ-6	ДГ-7	ДГ-9	ДМС	ЭМС
Концентрация мутагена	0			0,5 %		0,05 %						
Количество семей, шт.	100	106	5	101	110	112	104	102	108	109	106	128
I. Мутации с нарушением синтеза хлорофилла												
Всего мутаций, %	0	1,89±1,32	0	0,99±0,98	6,37±2,33	13,40±3,23	0,96±0,96	1,96±1,37	6,47±2,37	4,58±2,00	0	10,93±2,76
II. Мутации структуры стебля, побегов и листьев												
Всего мутаций, %	0	1,89±1,32	0	1,98±1,39	1,82±1,27	6,24±2,28	1,92±1,34	0	1,85±1,30	0	0	3,12±1,55
III. Изменение окраски лепестков венчика и пыльников, формы лепестков и бутонов												
Всего мутаций, %	0	2,83±1,61	0	1,98±1,39	1,82±1,27	3,56±1,75	3,85±1,89	0	0	1,83±1,28	0	0
IV. Мутации окраски семян												
Всего мутаций, %	0	0	0	1,98±1,39	1,82±1,27	0,89±0,89	2,88±1,64	0	0	0,92±0,92	0	0
V. Мутации по физиологическим признакам роста и развития												
Всего мутаций, %	0	0,94±0,94	0	0,99±0,98	0,00	1,78±1,25	0,96±0,96	0	0	0,92±0,92	0,94±0,94	0,78±0,78
Суммарная частота, %	0	7,55	0	7,92	11,83	25,87	10,57	1,96	8,32	8,25	0,94	14,83

ТАБЛИЦА 4. Частота индуцированных мутаций у *Linum humile* Mill. сорта Солнечный в поколениях M_2 , %

Мутатен	Конт-роль	ДГ-2	ДГ-6	ДГ-7	ДГ-9	ЭМС	ДГ-2	ДГ-6	ДГ-7	ДГ-9	ДМС	ЭМС
Концентрация мутагена	0	0,5 %										
Количество семей, шт.	100	102	21	101	103	122	103	103	101	103	105	107
Всего мутаций, %	0	8,82±2,81	0	4,95±2,16	11,64±3,16	22,14±3,76	1,94±1,36	9,70±2,92	5,94±2,35	6,79±2,49	0,95±0,95	17,83±3,70
		I. Мутации с нарушением синтеза хлорофилла										
Всего мутаций, %	0	0	0	0	0	11,48±2,89	0	2,91±1,66	1,98±1,39	0	0	2,80±1,59
		II. Мутации структуры стебля, побегов и листьев										
Всего мутаций, %	0	3,92±1,92	0	3,96±1,94	2,91±1,66	8,20±2,48	6,80±2,48	1,94±1,36	2,97±1,69	0,97±0,97	1,90±1,33	0,93±0,93
		III. Изменение окраски лепестков венчика и пыльников, формы лепестков и бутонов										
Всего мутаций, %	0	2,94±1,67	0	2,97±1,69	1,94±1,36	10,66±2,79	7,76±2,64	5,82±2,31	2,97±1,69	0,97±0,97	0,95±0,95	0,93±0,93
		IV. Мутации окраски семян										
Всего мутаций, %	0	0,98±0,97	0	0,99±0,98	0	2,46±1,40	1,94±1,85	0	0,99±0,98	0	0,95±0,95	0
		V. Мутации по физиологическим признакам роста и развития										
Суммарная частота, %	0	16,66	0	12,87	16,49	54,94	18,44	20,37	14,85	8,73	4,75	22,49

появление хлорофилльных изменений составило 4,58 % у сорта Айсберг и 6,79 % у сорта Солнечный.

Тем не менее при использовании мутагена ЭМС частота появления мутаций с нарушением синтеза хлорофилла была существенно больше и составила при концентрации 0,5 % у сорта Айсберг 13,40 %, у сорта Солнечный — 22,14 % (см. табл. 3, 4). При обработке этим же мутагеном концентрацией 0,05 % общая частота появления хлорофилльных нарушений была существенно ниже, и составила у сорта Айсберг — 10,93 %, у сорта Солнечный — 17,83 %. Как видно из приведенных данных, появление хлорофилльных мутаций в нашем эксперименте в значительной степени зависело от сорта. Наибольшее их разнообразие и частоту наблюдали у сорта Солнечный. Сорт Айсберг в этом отношении оказался более стабильным.

Вторая группа мутаций — структуры стебля, побегов и листьев — представлена пятью типами изменений. Частота появления этих изменений была разной и зависела от многих факторов. Из серии мутагенов ряда ДГ более эффективными в концентрации 0,5 % оказались мутагены ДГ-2, ДГ-7 и ДГ-9, действие которых у сорта Айсберг вызвало появление изменений с достаточно высокой частотой, которая составляла соответственно 1,89, 1,98 и 1,82 % (см. табл. 3). В концентрации 0,05 % у сорта Айсберг мутагены ДГ-2 и ДГ-7 также были эффективными и индуцировали изменения с общей частотой 1,92 и 1,85 %. У сорта Солнечный мутагены ДГ-6 и ДГ-7 в концентрации 0,05 % были наиболее эффективными и вызвали изменения с частотой 2,91 и 1,98 %. Однако частота этих изменений не превышала частоту мутаций, индуцируемых мутагеном ЭМС, действие которого в концентрации 0,05 % привело к появлению изменений с частотой 3,12 % у сорта Айсберг и 2,80 % — у сорта Солнечный. Обработка этим же мутагеном, но в более высокой концентрации 0,5 %, привела к появлению изменений с частотой от 6,24 % у сорта Айсберг до 11,48 % у сорта Солнечный. Кроме того, в нашем эксперименте обнаружена мутация изменения структуры стебля, которая в литературе не описана. Мы назвали изменение данного типа «зигзагообразный стебель» (13). Оно было обнаружено при обработке мутагеном ЭМС в концентрации 0,5 % с частотой 0,82 %. Растения данного типа не отличались от контрольных растений по высоте, однако их стебель был зигзагообразно деформирован.

Использованные химические мутагены в поколении M_2 вызвали изменения в окраске лепестков венчика и пыльников у обоих сортов. Так, у сорта Айсберг наблюдалось два типа изменений, а именно — белая окраска лепестков и кремовая окраска пыльников менялись на «светло-голубую окраску лепестков, кремовые пыльники» (14) и «голубую окраску лепестков, голубые пыльники» (15). Последняя мутация (15) является возвратной, поскольку сорт Айсберг создан путем обработки гамма-лучами сорта Циан, для которого характерны голубые лепестки и голубые пыльники. Из серии мутагенов ряда ДГ более эффективными в концентрации 0,5 % оказались мутагены ДГ-2, ДГ-7 и ДГ-9, действие которых у сорта Айсберг вызвало появление достаточно высокой частоты изменений, составляющей соответственно 2,83, 1,98 и 1,82 % (см. табл. 3). Более низкая концентрация 0,05 % оказалась менее эффективной, поскольку изменение окраски лепестков венчика и пыльников наблюдалось при действии только двух изученных мутагенов — ДГ-2 и

ДГ-9 с частотой 3,85 и 1,83 %. Изменение окраски типа «светло-голубые лепестки, кремовые пыльники» (14) наблюдалось лишь в одном варианте — при обработке мутагеном ЭМС в концентрации 0,5 % с частотой 0,89 %, что вместе с другими изменениями в данной группе составило 3,56 %.

У сорта Солнечный встречались два типа изменений окраски лепестков венчика и пыльников — «светло-розовые лепестки, кремовые пыльники, розовый бутон» (16) и «белые лепестки, кремовые пыльники, белый бутон» (17), которые в сумме составили от 0,93 до 8,20 % (см. табл. 4). Мутация формы цветка — «нераскрывающийся венчик» (19) была представлена двумя типами. У одного типа бутоны имели обычную коническую форму, однако они не раскрывались. У другого типа формировались бутоны не конической, а шарообразной формы. В обоих случаях венчик не опадал, а засыхал на растении. Данная мутация «закрытого цветения» наблюдалась при обработке мутагеном ЭМС в концентрации 0,5 % с частотой 0,82 % (входит в III группу мутаций с частотой 8,20 %).

Обработка химическими мутагенами исходного материала привела к изменению с определенной частотой окраски семян у обоих сортов льна в поколении M_2 (см. табл. 3, 4). Как правило, это была комплексная мутация, в которой окраска семян менялась вместе с цветом окраски лепестков венчика и пыльников. Однако встречались семьи, в которых происходила смена окраски лепестков венчика и пыльников, а цвет семян не изменялся. Спектр индуцированных мутаций у обоих исследованных сортов был не одинаков. Так, у сорта Айсберг спектр изменений окраски семян был уже и составил только один тип, тогда как у сорта Солнечный — три типа. У сорта Айсберг цвет семян с коричневой окраски в контроле менялся на «желтый». Данная мутация была индуцирована мутагенами ДГ-7, ДГ-9 и ЭМС в концентрации 0,5 % с частотой соответственно 1,98, 1,82 и 0,89 % (см. табл. 3). При более низкой концентрации 0,05 % эффективными были мутагены ДГ-2 и ДГ-9, которые индуцировали данную мутацию с частотой 2,88 и 0,92 %. У сорта Солнечный в мутантных семьях мы наблюдали смену желтой окраски семян на «коричневую», «горчичную» и «пеструю». В целом мутации в этой IV группе индуцировали практически все изученные мутагены в обеих концентрациях, однако с разной частотой. Исключение составил лишь мутаген ДГ-6 в концентрации 0,5 % (см. табл. 4).

В группу V мутаций по физиологическим признакам роста и развития нами были отнесены как более «скороспелые» (24), так и «позднеспелые» (25) по сравнению с исходными генотипами мутанты. Они наблюдались у обоих изученных сортов (см. табл. 3, 4). Мутация «стерильности» (26) была представлена несколькими типами: отсутствием коробочек и недоразвитыми коробочками. Мутация «нарушения развития семян» (27) обнаружена при обработке мутагеном ЭМС в концентрации 0,5 % у сорта Солнечный.

Таким образом, показано, что ряд изученных производных диметилсульфата (ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9) являются эффективными соединениями в плане индуцирования мутационной изменчивости разного типа у льна масличного. Характер этой изменчивости определялся видом и концентрацией использованного мутагена, а также генотипическими особенностями сорта. Отличия в мутабельности проявлялись в различ-

ных частоте и спектре видимых мутаций. При изучении спектра мутаций на фенотипическом уровне у разных сортов обнаружен параллелизм в индуцированной мутационной изменчивости.

Мутагены ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9 в концентрациях 0,5 и 0,05 % оказывают существенное влияние на выраженность многих морфологических признаков растений льна в поколении M_1 .

Частота мутаций, вызванная мутагенами — производными диметилсульфата — была существенно выше по сравнению с исходным соединением. У сорта Айсберг она оказалась на уровне 1,96—10,57 %, у сорта Солнечный — 8,73—20,37 %. При повышении концентрации мутагенов у обоих сортов частота мутаций существенно увеличивалась.

Спектр полученных в поколении M_2 морфофизиологических мутаций был достаточно широким, зависел от вида и концентрации мутагена и составлял 27 типов изменений. Хлорофиллдефицитные мутации включали группу из 8 типов изменений, мутации структуры стебля, побегов и листьев — 5 типов, мутации окраски лепестков венчика и пыльников, формы и размера цветка — 6 типов, мутации окраски семян — 4 типа, мутации по физиологическим признакам роста и развития — 4 типа. Сорт Айсберг характеризовался более узким спектром изменений (16 типов) по сравнению с сортом Солнечный (22 типа).

Частота мутаций, вызванных мутагенами серии ДГ, не превышала частоту мутаций, вызванных мутагеном ЭМС, однако эти мутагены отличались по спектру мутаций.

1. Васько В.А., Гудим О.В., Рожков О.Г. Применение экспериментального мутагенеза в селекции растений // Селекція і насінництво. — 2015. — Вип. 107. — С. 8—18.
2. Кириченко В.В., Васько В.О. Мутантна дія диметилсульфату на мейоз M_1 соняшнику // Там само. — Вип. 108. — С. 99—105.
3. Королев К.П., Богдан В.З., Богдан Т.М. Индуцированный мутагенез льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) как метод создания нового исходного материала для приоритетных направлений в селекции // Вестн. Белорус. гос. с.-х. академии. — 2016. — № 4. — С. 73—75.
4. Кротова Л.А. Химический мутагенез как метод создания исходного материала для селекции мягкой пшеницы // Электронный научно-методический журнал Омского гос. аграр. ун-та. — 2015. — № 2 (2). — С. 13—17.
5. Лях В.А., Полякова И.А., Сорока А.И. Индуцированный мутагенез масличных культур. — Запорожье: Изд-во Запорож. нац. ун-та, 2009. — 266 с.
6. Моргунов В.В., Логвиненко В.Ф. Мутационная селекция пшеницы. — Киев: Наук. думка, 1995. — 625 с.
7. Опалко А.І., Опалко О.А. Індуковані мутації рослин: історія і перспективи // Індукований мутагенез в селекції рослин: Зб. наук. праць. — Біла Церква, 2012. — С. 38—45.
8. Пирко И.Ф. Использование диметилсульфата в селекции хризантемы садовой (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey.) // Промышленная ботаника. — 2003. — Вып. 3. — С. 178—179.
9. Погреблюк М.В., Куліш О.Ю., Ковальчук З.В. та ін. Застосування методу експериментального мутагенезу для овочевої кукурудзи // Фактори експерим. еволюції організмів. — 2016. — 18. — С. 102—105.
10. Полякова И.А., Лях В.А. Индуцирование изменчивости в M_2 у различных генотипов льна масличного. Частота мутаций // Вісн. Запоріж. нац. ун-ту. Сер. Біологічні науки. — 2002. — № 1. — С. 1—5.
11. Chopra V.L. Mutagenesis: Investigating the process and processing the outcome for crop improvement // Curr. Sci. — 2005. — 89 (2). — P. 353—359.
12. Deepthi T., Remesh K.N. Imhact of EMS induction on morphological, anatomical and physiological traits of bhindic *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench // Int. Recent Res. Life Sci. — 2016. — 3. — P. 4—11.

13. Luan Y.S., Zhang J., Gao X.R., An L.J. Mutation induced by ethyl methane sulphonate (Ems), in vitro screening for salt tolerance and plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 2007. — **88** (1). — P. 77–81.
14. Mahla H.R., Shekhawat A., Kumar D. A study on EMS and gamma mutagenesis of cluster-bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) // Plant Mutat. Rep. — 2010. — **2**, N 2. — P. 28–32.
15. Micke A., Donini B., Maluszynskiy M. Induced mutations for crop improvement // Mutat. Breed. — 1990. — **7**. — P. 1–41.
16. Raina A., Laskar R.A., Khursheed S. et al. Role of mutation breeding in crop improvement — past, present and future // Asian Res. J. Agricult. — 2016. — **2** (2). — P. 1–13.
17. Rajarajan D., Saraswathi R., Sassikumar D., Ganesh S. Fixation of lethal dose and effect of ethyl methane sulphonate induced mutagenesis in rice Adt (R) 47 // Life Sci. Leaflets. — 2014. — **57**. — P. 65–72.
18. Talebi Ali B., Talebi Amin B., Shahrokhifar B. Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenesis in Malaysian rice (cv. MR219) for lethal dose determination // Amer. J. Plant Sci. — 2012. — **3**. — P. 1661–1665.
19. Wasserman L. All of statistics: A concise course in statistical inference. — Springer, 2005. — 444 p.

Получено 30.10.2017

ЧАСТОТА І СПЕКТР МУТАЦІЙ У РОСЛИН ЛЬОНУ (*LINUM HUMILE* MILL.) ПІД ДІЄЮ НОВИХ ПОХІДНИХ ДИМЕТИЛСУЛЬФАТУ

A.V. Tigova, A.I. Soroka

Інститут олійних культур Національної академії аграрних наук України, Запорізька обл., Запорізький р-н, сел. Сонячне

Вивчено вплив нових хімічних мутагенів ДГ-2, ДГ-6, ДГ-7, ДГ-9 — похідних диметилсульфату (ДМС) — на частоту і спектр мутацій у *Linum humile* Mill. в поколінні M_2 . У поколінні M_1 у сортів льону Айсберг і Сонячний вивчено виживаність рослин і низку морфометричних характеристик. Показано, що похідні ДМС виявляли як інгібувальну, так і стимулювальну дію на досліджені ознаки. В наступному поколінні M_2 попередньо оцінено частоту і спектр мутацій. Остаточний висновок про наявність мутацій в M_2 робили після підтвердження їх прояву в поколінні M_3 . Встановлено, що сумарна частота мутацій, викликаних мутагенами серії ДГ, істотно перевищувала частоту мутацій, індукованих вихідною сполукою ДМС, і становила від 1,96 до 20,37 % залежно від сорту і концентрації мутагену. Частота мутацій, зумовлених новими мутагенами, не перевищувала частоту мутацій, спричинених мутагеном етилметансульфонатом (ЕМС), однак ці мутагени відрізнялися за спектром індукованих мутацій. У результаті мутагенної обробки виявлено 27 типів мутацій, які поділено на п'ять груп залежно від характеру і спрямованості змін. Встановлено підвищену мутабельність сорту Сонячний порівняно із сортом Айсберг. Показано, що з підвищенням концентрації мутагенів частота мутацій в обох сортів істотно збільшувалася.

FREQUENCY AND SPECTRUM OF MUTATIONS IN FLAX (*LINUM HUMILE* MILL.) UNDER THE ACTION OF NEW DIMETHYL SULPHATE DERIVATIVES

A.V. Tigova, A.I. Soroka

Institute of Oilseed Crops, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
1 Instytutska St., Settl. Soniachny, Zaporizhzhia, 69093, Ukraine

The effect of new chemical mutagens DG-2, DG-6, DG-7, DG-9 — derivatives of dimethyl sulfate (DMS) — on the frequency and spectrum of mutations in *Linum humile* Mill. was studied in the M_2 generation. In the M_1 generation, in flax varieties Iceberg and Solnechny, the survival of plants and a number of morphometric characteristics were evaluated. It was shown that the DMS

derivatives exerted both an inhibitory and stimulating effect on the investigated traits. In the next M_2 generation, a preliminary estimation of the frequency and spectrum of induced mutations was made. The final conclusion on the presence of mutations in M_2 was made after confirmation of their manifestation in the M_3 generation. It was found that the total frequency of mutations caused by DG mutagens significantly exceeded the mutation rate induced by the initial DMS agent, and varied from 1.96 to 20.37 %, depending on the type and concentration of the mutagen. The mutation rate caused by the novel mutagens did not exceed the mutation frequency caused by the EMS mutagen (ethyl methane sulfonate), however those mutagens differed in the spectrum of the induced mutations. Regarding the spectrum of the changes obtained, 27 types of mutations were identified, which were subdivided into five groups, depending on the type and direction of the changes. The increased mutability of the variety Solnechny in comparison with the variety Iceberg was revealed. It was demonstrated that with an increase in the concentration of mutagens, the frequency of mutations increased significantly for both flax varieties.

Key words: *Linum humile* Mill., flax, mutagenesis, M_1 and M_2 generations, dimethyl sulfate, dimethyl sulfate derivatives, ethyl methane sulfonate, mutation, spectrum, frequency.