

УДК 631.531.027.34:[631.524.01:633.854.78]

В. А. ВАСЬКО, препод.

Харьковский нац. аграр. ун-т им. В. В. Докучаева

e-mail: viktorija-vasko.1991@mail.ru

## **ВЛИЯНИЕ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ $^{60}\text{Co}$ И ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНА ДМС НА НАРУШЕНИЯ В МЕЙОЗЕ В $M_1$ И ПОЛУЧЕНИЕ МУТАЦИЙ ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА (*HELIANTHUS ANNUUS L.*)**

*Создание новых гибридов подсолнечника как важнейшей масличной культуры требует исходного материала, характеризующегося высокими показателями качества продукции и других агрономических свойств. Одним из эффективных методов получения такого материала является химический и физический мутагенез. Целью наших исследований является получение мутантных форм подсолнечника в  $M_3$  с измененными морфологическими признаками как исходного материала для селекции. Использовали две инбредные линии-закрепители стерильности подсолнечника (X1008Б, X1002Б) и две линии-восстановители фертильности пыльцы (X0816В, XIP1Г (X201В) селекции Института растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН. Семена линий обрабатывали гамма-лучами в дозах 120 и 150 Гр и диметилсульфатом (ДМС) в концентрации 0,01 и 0,05 %. Контролем служили необработанные семена. Для выявления влияния гамма-лучей на мейоз в клетках  $M_1$  линий подсолнечника использовали метафазно-анафазный метод. Анализ частоты хромосомных перестроек показал, что гамма-лучи повлияли на структуру хромосом, нарушив ход мейоза в материнских клетках пыльцы. Установлено, что по сравнению с ДМС гамма-лучи вызывают больше нарушений мейоза. То же наблюдается и при повышении дозы и концентрации мутагенов. Во всех четырех опытных образцах, семянки которых были облучены гамма-лучами, количество дефектных клеток больше, чем в образцах, обработанных ДМС.*

*Ключевые слова: подсолнечник, самоопыленная линия, селекция, индуцированная мутация, мутаген, хромосома, мейоз, абберрация.*

**Введение.** Хромосомные абберрации являются одним из надежных показателей повреждающего действия мутагенов и основным показателем генетической изменчивости организмов на клеточном уровне. По поводу механизма образования хромосомных абберраций существует много гипотез, но до сих пор нет единого мнения [1]. Ход мейоза высших растений контролируется генами *As* (отвечают за конъюгацию гомологичных хромосом), *Ds* (влияют на возникновение и частоту хиазм) и *ms* (вызывают нарушение мейоза в микроспорогенезе) [2].

Изучение зависимости цитогенетической активности от генотипа вызвано необходимостью поиска новых высокомутабильных сортов и гибридов. Среди широкого многообразия изученных мутагенов, исследованных в широком диапазоне концентраций, наиболее эффективными в индукции хромосомных перестроек оказались гамма-лучи, с увеличением дозы которых значительно возрастает количество поврежденных клеток и число перестроек на одну клетку [3], что доказано и в наших исследованиях.

В исследованиях действия гамма-лучей ( $^{60}\text{Co}$ ), быстрых нейтронов и этилметансульфоната (ЭМС) на  $M_1$  семян пяти инбредных линий подсолнечника [4] установлено, что наибольший мутагенный эффект имели  $\gamma$ -лучи, за ними — быстрые нейтроны и затем — ЭМС в различных дозах. В дальнейших исследованиях [5] теми же мутагенами были обработаны восемь инбредных линий. Проявление мутаций отмечено в  $M_2$  и  $M_3$ . Выделены семь мутантов: один раннецветущий, два низкорослых, один высокорослый, два с высоким содержанием масла, один ветвистый.

О важности мутационных опытов в селекции подсолнечника, в том числе на качество продукции, свидетельствуют результаты многочисленных исследований во всем мире. Так, изучение генетических особенностей мутанта Первенец с содержанием олеиновой кислоты в семенах до 65 % проводили французские ученые [6]. Они установили FLP, связанные с высоким содержанием олеиновой кислоты, но природа доминантной мутации Первенца еще до конца не изучена. Группа исследователей из США и Германии установили, что химически индуцированная доминантная мутация подсолнечника *O1* значительно повышает содержание олеиновой кислоты и коррелирует со снижением экспрессии в семенах FAD2–1. Ими разработаны SSR- и INDEL-маркеры для определения наличия или отсутствия *O1*-мутации. Это упрощает подбор исходного материала в селекции высокоолеинового подсолнечника [7].

Важным достижением в мутационной селекции подсолнечника является исследование J. M. Fernandez-Martinez et al. [8] по созданию мутанта CAS-12 с высоким содержанием пальмитиновой ( $\approx 30\%$ ) и пальмитоолеиновой ( $\approx 7\%$ ) кислоты на фоне высокого содержания олеиновой кислоты. Мутант создан методом рентгеновского облучения сухих семян инбредной линии с нормальным содержанием пальмитиновой ( $\approx 3\%$ ) и высоким ( $\approx 88\%$ ) — олеиновой кислоты.

Широко развернута мутационная селекция подсолнечника в Украине. Мутагенез как химический, так и физический, использовали В. В. Кириченко с сотрудниками [9]. Ими создано более 97 мутантных высокоолеиновых (75–92%), высокопальмитиновых (25%), низкопальмитиновых и низкостеариновых (с суммой этих кислот не более 8%) форм. При этом лучшим исходным материалом были признаны самоопыляющиеся линии [10].

А. И. Сорока изучал мутационную изменчивость двух линий подсолнечника при воздействии ЭМС 0,02 %, которым обрабатывали недозревшие семянки, что влияло на экспрессию морфологических и физиологических признаков растений  $M_1$  — они зацветали с существенным опозданием, отличались по высоте. В результате обработки ЭМС в  $M_2$  получен широкий спектр мутаций, среди них — табакоподобное растение [11].

Так как индуцированные мутации по-прежнему остаются одним из основных способов повышения генетической изменчивости у подсолнечника, необходимо исследовать эффективность мутагенных факторов. Arslan O. et al. [12] в результате обработки семян подсолнечника сорта Ekiz 1 гамма-лучами в дозах 10, 20, 30, 40 и 50 Гр получены генотипы, у которых отмечали наличие в мейозе униввалентов, мультивалентов и слипания в диакинезе, отставания и слипания в метафазе I, мостов и аутсайдеров в анафазе и телофазе I-II и микроядра в телофазе II [12].

Исследованиями влияния химических и физических мутагенов на частоту ценных хозяйственных мутаций занимались S. Jayakumar, R. Selvaraj [13], S. Goyal, S. Khan [14], G. Kumar, V. Singh [15]. P. Prabakaran, S. Jayakumar исследовали влияние гамма-лучей (доза облучения 10, 15, 20, 25 Гр, источник облучения  $^{60}\text{Co}$ ) и ЭМС (0,5, 0,1, 0,15, 0,2 и 0,25 % концентрации) на нарушения в хромосомах в мейозе в  $M_1$  подсолнечника сорта CO-4. С увеличением дозы / концентрации обоих мутагенов частота хромосомных aberrаций возрастает, гамма-лучи провоцируют больший процент хромосомных нарушений по сравнению с химическим мутагеном ЭМС [16], что подтверждено и в наших исследованиях.

А. А. Калайджян с сотрудниками [17; 18] в результате обработки семян 0,08 %-ным раствором NEU получили мутанты с очень коротким стеблем, т. е. карликовые формы M-1748, M-1595, M-1610 и полукарликовые — M-951, 1988 и 1904 (NEU 0,05 % и 0,05 % DMS).

M. Christov, V. Nikolova [19] обнаружили значительные агрономически полезные мутации в  $M_2$  и  $M_3$ , такие как снижение высоты стебля, ранний срок созревания, увеличение площади листовой поверхности, корзинки и размера семян, высокая самофертильность, увеличение массы 1000 семян, высокое содержание масла, измененный состав жирных кислот.

J. R. Lofgren, N. V. Ramaraje-Lers [20], обработав семена подсолнечника разными дозами химических мутагенов, получили отдельные растения с ранним сроком цветения и дополнительной устойчивостью к подсолнечниковой ржавчине в  $M_2$  и  $M_3$ .

В отличие от предыдущих работ мы использовали в наших исследованиях по влиянию  $\gamma$ -лучей и химического мутагена на подсолнечник в качестве исходного материала не сорт, а самоопыляющиеся линии. Источником гамма-лучей также был  $^{60}\text{Co}$ , но в дозах 120 и 150 Гр, а химический мутаген ДМС — в концентрациях 0,01 и 0,05 %. Мы пришли к тому же выводу, что и ряд вышеупомянутых ученых: с увеличением дозы / кон-

центрации мутагена процент клеток с нарушениями растет. Так, количество полученного материала с нарушениями у линии-закрепителе стерильности подсолнечника X1008Б является существенным и составляет в дозах 120 и 150 Гр  $15,84 \pm 1,09$  и  $20,38 \pm 1,14$  % соответственно. При этом в результате обработки семян этой же линии ДМС частота клеток с нарушениями в мейозе была меньше, чем в опыте с физическим мутагеном (ДМС 0,01 % —  $9,23 \pm 0,08$  %, ДМС 0,05 % —  $19,88 \pm 1,09$  %).

**Материалы и методы исследования.** Исследование проведено в условиях опытного поля Харьковского национального аграрного университета им. В. В. Докучаева в 2014–2016 гг.

В качестве исходного материала использовали две гомозиготные линии-закрепители стерильности подсолнечника (X1008Б, X1002Б) и две линии-восстановители фертильности пыльцы (X0816В, XIP1Г (X201В) селекции Института растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН. Семена линий были обработаны  $\gamma$ -лучами в дозах 120 и 150 Гр или диметилсульфатом (ДМС) в концентрации 0,01 и 0,05 %. Контролем были необработанные семена. Источник излучения —  $^{60}\text{Co}$ .

В 2014 году первым этапом селекционной работы с индуцированным мутагенезом подсолнечника было исследование последствий ДМС и гамма-лучей на полевую всхожесть, протекание мейоза, возникновение морфозов, исследование влияния мутагенов на количественные признаки (диаметр корзины, высота растений, количество листьев)  $M_1$  гомозиготных линий. Для изучения мейоза в  $M_1$  подсолнечника отделяли сегменты корзинок ( $d = 2\text{--}3$  см) с пыльниками, фиксировали в уксусном спирте (1:3) в течение 24 часов. Затем трижды промывали этиловым спиртом и оставляли на хранение в 70 %-м растворе этилового спирта при температуре  $+4^\circ\text{C}$  [22].

Окрашивали хромосомы материнских клеток пыльцы 2 %-м раствором ацетоорсеина. Мейоз изучали на раздавленных в капле 40 % уксусной кислоты временных препаратах. Для установления влияния мутагенов на мейоз в клетках  $M_1$  линий использовали метафазно-анафазный метод, подсчитывали общее количество клеток в этих фазах и количество нормальных тетрад, определяли процент клеток с нарушениями от общего количества клеток и для каждой фазы отдельно.

В 2015 году на втором этапе работы с мутантными поколениями проведен отбор мутантных растений в семьях  $M_2$  по морфологическим и количественным признакам, отличным от исходной формы. Среди большого количества семей  $M_2$  отобраны отдельные растения, которые дали начало мутантным семьям  $M_3$ . Семьи  $M_2$  характеризовались высоким варьированием количественных признаков, что связано со спецификой  $M_2$  давать расщепление. Полученные мутантные формы изучены и оценены в 2016 году. В 2016 году, на третьем этапе работы с мутантными поколениями, из семян отобранных в 2015 году мутантных растений  $M_2$ , выращены мутантные семьи  $M_3$ , среди которых отобраны лучшие семьи с изменен-

ными количественными признаками и морфологическими изменениями, которые были унаследованы от  $M_2$  и могут считаться мутациями.

**Результаты и обсуждение.** В результате исследования хромосом в  $M_1$  подсолнечника выявлено, что стадии мейоза проходили с многочисленными нарушениями (рис.). Несмотря на наличие аномалий в мейозе, у линий подсолнечника преобладали внешне нормально развитые тетрады.

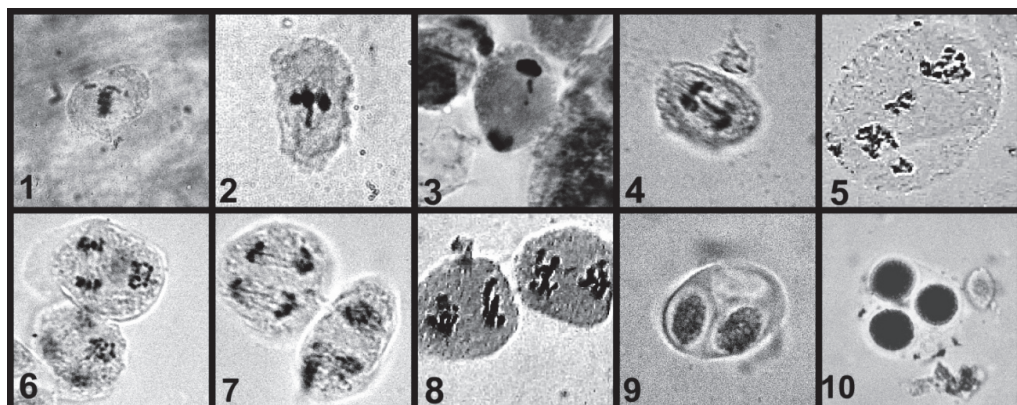


Рис. Нарушения мейоза в  $M_1$  подсолнечника вследствие обработки семян гамма-лучами (120 и 150 Гр): 1, 2 — отдельные фрагменты хромосом в метафазе I; 3 — хромосомы аутсайдеры в анафазе I; 4 — мосты в анафазе I; 5 — отставание (слипание) хромосом и образование мультивалентов в метафазе II; 6 — несинхронное расхождение хромосом к полюсам в анафазе II; 7 — мосты из хромосом в анафазе II; 8 — деформации при расхождении хромосом к полюсам в анафазе II; 9 — диада; 10 — триада

Влияние гамма-лучей на генотип линии-закрепителя стерильности подсолнечника X1008Б является существенным, поскольку доля клеток с нарушениями при облучении в дозе 120 Гр составляла  $15,84 \pm 1,09$  % и 150 Гр —  $20,38 \pm 1,14$  %, что значительно превышает контрольный вариант ( $0,07 \pm 0,07$  %) (табл. 1).

С повышением дозы мутагена процент клеток с нарушениями увеличивается. У линии X1008Б, обработанной ДМС, частота таких клеток в мейозе была меньше, чем в опыте с физическим мутагеном, однако значительно выше, чем в контроле. Так, при обработке ДМС в концентрации 0,01 % доля клеток с нарушениями составляла  $9,23 \pm 0,08$  %, в концентрации 0,05 % —  $19,88 \pm 1,09$  %, тогда как в контроле —  $0,07 \pm 0,07$  %.

В контрольном варианте с линией X1002Б были исследованы 1219 клеток на разных стадиях мейоза, из них выделены  $0,16 \pm 0,11$  % клеток с нарушениями. В исследованиях по химическому мутагенезу в зависимости от концентрации мутагена ДМС обнаружены клетки с хромосомными аберрациями —  $13,63 \pm 1,02$  и  $15,49 \pm 1,12$  % соответственно. Однако  $\gamma$ -лучи вызвали больший выход клеток с нарушениями мейоза. Так, в вариантах облучения 120 и 150 Гр было  $16,81 \pm 0,95$  и  $24,52 \pm 1,12$  % клеток

Таблиця 1  
Частота материнських кліток пилці з порушеннями на різних стадіях мейоза в M<sub>1</sub> подсолнечника вследствие обработки семян гамма-лучами, 2014 год

Доза γ-излуче- ния, Гр	Изучено клеток на разных стадиях мейоза		Метафаза I		Анафаза I		Метафаза II		Анафаза II		Тетрады	
	Всего	% с наруше- ниями P±Sp	Всего	% с наруше- ниями P±Sp	Всего	% с наруше- ниями P±Sp	Всего	% с наруше- ниями P±Sp	Всего	% с наруше- ниями P±Sp	Всего	% с наруше- ниями P±Sp
♀ X1008 Б												
Контроль	1413	0,07±0,07	302	0	219	0	163	0	226	0	503	0,39±0,28
120	1130	15,84±1,09*	486	10,70±1,40	99	27,27±4,47	142	26,06±3,68	93	30,11±4,76	486	7,16±1,17
150	1251	20,38±1,14*	126	12,70±2,97	104	25,0±4,25	232	42,24±3,24	119	20,17±3,68	670	13,58±1,32
♀ X1002 Б												
Контроль	1219	0,16±0,11	213	0	112	0	119	0	66	0	719	0,14±0,14
120	1559	16,81±0,95*	675	13,48±1,31	234	21,37±2,68	120	50,0±4,56	90	36,67±5,08	440	10,91±1,49
150	1472	24,52±1,12*	550	22,91±1,79	177	37,29±3,63	147	43,54±4,09	190	25,79±3,17	408	13,73±1,70
♂ X08–16 В												
Контроль	1592	0,19±0,11	421	0	164	0,61±0,61	192	0,52±0,52	108	0	707	0,14±0,14
120	1583	15,79±0,92*	404	13,12±1,68	58	16,46±2,95	200	37,0±3,41	111	12,61±3,15	710	11,69±1,21
150	1611	21,42±1,02*	342	22,81±2,27	148	27,70±3,68	274	35,77±2,90	97	24,74±4,38	750	16,0±1,34
♂ XIP 1Г(X201В)												
Контроль	1298	0	315	0	232	0	57	0	25	0	669	0
120	1267	18,78±1,10*	376	18,88±2,02	111	27,93±4,23	177	21,47±3,09	264	15,53±2,23	339	16,81±2,03
150	1168	25,26±1,27*	392	15,56±1,83	144	32,64±3,91	127	44,09±4,41	88	20,45±4,30	417	27,10±2,18

Примечание: \* — достоверно отличается от контроля при уровне вероятности P<0,99.

с нарушениями соответственно. При этом в вариантах с  $\gamma$ -излучением по сравнению с вариантами обработки ДМС процент тетрад с нарушениями больше. Так, при дозе облучения 120 Гр доля тетрад с нарушениями составляла  $10,91 \pm 1,49$  %, 150 Гр —  $13,73 \pm 1,70$  %, тогда как в вариантах обработки ДМС в концентрации 0,01 % —  $5,70 \pm 1,01$  %, 0,05 % —  $6,58 \pm 1,07$  % соответственно.

В  $M_1$  гомозиготной линии (восстановителя фертильности пыльцы) X08–16В также выявлена значительная часть клеток с нарушениями в мейозе. При облучении в дозе 120 Гр таких клеток было  $15,79 \pm 0,92$  %, в дозе 150 Гр —  $21,42 \pm 1,02$  %, что значительно превышает процент клеток с нарушениями у контрольного варианта —  $0,19 \pm 0,11$  %. Нарушения проявлялись, в основном, в отстаивании хромосом при формировании метафазной пластины в метафазе II. В частности, при облучении в дозе 120 Гр доля клеток с отдельными фрагментами хромосом составляла  $37,0 \pm 3,41$  %, 150 Гр —  $35,77 \pm 2,90$  %. При расхождении к полюсам в анафазе I процент нарушений в зависимости от дозы облучения был разным — при 120 Гр  $16,46 \pm 2,95$ , при 150 —  $27,70 \pm 3,68$  %. В результате многочисленных нарушений выход дефектных тетрад составил при облучении в дозе 120 Гр  $11,69 \pm 1,21$ , 150 —  $16,0 \pm 1,34$  %.

Следует отметить высокий процент материнских клеток пыльцы (МКП) с нарушениями у опытного образца ХИР1Г (Х201В) в зависимости от дозы облучения. Так, в варианте облучения 120 Гр процент МКП с нарушениями был  $18,78 \pm 1,10$  %, 150 Гр —  $25,26 \pm 1,27$  %. Как и у других образцов, мейоз проходил со значительными отклонениями, однако выход тетрад с нарушениями в процентном соотношении был выше и составил при облучении 120 Гр  $16,81 \pm 2,03$ , 150 —  $27,10 \pm 2,18$  %.

По сравнению с облучением обработка химическим мутагеном дала менее значительные результаты. Так, при обработке этой же линии ХИР1Г (Х201В) мутагеном ДМС получили меньший, чем при облучении, процент тетрад с нарушениями (ДМС 0,01 % —  $1,55 \pm 0,51$ , ДМС 0,05 % —  $5,48 \pm 1,09$  %), несмотря на высокий общий процент клеток с нарушениями на всех стадиях мейоза (ДМС 0,01 % —  $6,70 \pm 0,6$ , ДМС 0,05 % —  $11,87 \pm 0,89$  %).

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о сильном мутагенном действии гамма-лучей на генотипы всех изученных гомозиготных линий, выращенных из обработанных мутагеном семян, что проявилось в частоте aberrаций в  $M_1$ .

**Выделение мутантных форм.** В результате воздействия мутагенов на семена опытного образца X08–16В выделены мутантные формы с измененной высотой — № 465 ( $124,2 \pm 9,6$  см) в варианте с действием ДМС в концентрации 0,05 %, № 1028 ( $127,1 \pm 5,1$  см), № 1035 ( $115,1 \pm 6,9$  см) в варианте с действием гамма-лучей в дозе 120 Гр и № 1048 ( $123,7 \pm 12,3$  см), № 1039 ( $119,0 \pm 5,5$  см) в варианте с действием гамма-лучей в дозе 150 Гр. При этом высота контрольного образца составляла  $139,6 \pm 9,7$  см.

У линии ХИР1Г (Х201В) выделены более интересные мутантные формы — не только с измененной высотой, но и с новыми морфологическими признаками. В результате действия ДМС 0,01 % индуцированы низкорослые формы — № 666 ( $112,4 \pm 9,6$  см) и № 63 ( $101,0 \pm 4,8$  см) при  $139,8 \pm 5,5$  см в варианте без обработки. При последствии ДМС 0,05 % выделены низкорослые формы № 724 ( $117,3 \pm 6,8$  см), № 727 ( $109,1 \pm 7,3$  см), а также принципиально отличающаяся от исходной формы многолиственная семья № 7426 (153–245 шт. листьев) с высотой  $151,4 \pm 7,1$  см (при  $139,8 \pm 5,5$  см у контроля) и измененной формой и размером корзинки. Кроме того, в варианте с действием  $\gamma$ -излучения в дозе 120 Гр отобрана семья № 1133л с высотой  $122,0 \pm 9,6$  см и лимонной окраской лепестков (у контроля оранжевая), а в дозе 150 Гр — № 1159 (высота  $116,8 \pm 6,1$  см) и № 1143 ( $108,3 \pm 4,9$  см). Высота контроля составляла  $139,8 \pm 5,5$  см (табл. 2). Некоторые линии имеют меньший коэффициент вариации по высоте, чем у контроля, что указывает на их стабильность по изученному признаку.

Таблица 2

Мутантные формы  $M_3$  подсолнечника с измененной высотой, 2016 г.

Вид воздействия мутагена, № формы	Высота растений (h), см	Lim (см)	Коэффициент вариации V, %	Критерий t Стьюдента $t_{\text{факт.}} > t_{\text{теор.}}$
<b>X1002Б</b>				
<b>Контроль</b>	<b>175 ± 4,7</b>	<b>169–185</b>	<b>2,7</b>	<b><math>t_{\text{факт.}} &gt; t_{\text{теор.}}</math></b>
(ДМС 0,01 %) 204	152 ± 12,5	135–167	8,2	5,4 > 2,1
(ДМС 0,01 %) 209	144 ± 8,7	133–156	6,0	9,4 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 120 Гр) 870	154 ± 6,1	145–162	4,0	8,2 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 150 Гр) 886	158 ± 7,1	151–170	4,5	5,9 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 150 Гр) 981	147 ± 6,7	141–156	4,5	8,9 > 2,1
<b>X1008Б</b>				
<b>Контроль</b>	<b>156,0 ± 5,7</b>	<b>146–163</b>	<b>3,6</b>	<b><math>t_{\text{факт.}} &gt; t_{\text{теор.}}</math></b>
(ДМС 0,01 %) 245	100 ± 0	100	0,0	19,3 > 2,1
(ДМС 0,01 %) 269	95 ± 13,6	80–106	14,3	13,7 > 2,1
(ДМС 0,05 %) 327	119 ± 7,6	111–126	6,4	5,9 > 2,1
(ДМС 0,05 %) 309	94 ± 18,3	80–115	19,4	11,0 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 120 Гр) 897	125 ± 22,9	87–148	18,3	4,1 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 120 Гр) 896	118 ± 21,8	87–135	18,5	5,3 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 150 Гр) 819	124 ± 12,9	95–141	10,4	7,1 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 150 Гр) 941	100 ± 12,9	80–115	13,0	12,3 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 150 Гр) 821	78 ± 2,8	76–80	3,6	32,0 > 2,1
<b>X08–16В</b>				
<b>Контроль</b>	<b>139,6 ± 9,7</b>	<b>128–154</b>	<b>7,0</b>	<b><math>t_{\text{факт.}} &gt; t_{\text{теор.}}</math></b>
(ДМС 0,05 %) 465	124 ± 6,4	115–134	5,2	3,4 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 120 Гр) 1028	127 ± 5,1	120–135	4,0	3,4 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 120 Гр) 1035	115 ± 6,9	104–125	6,0	6,3 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 150 Гр) 1048	124 ± 12,3	110–143	9,9	2,9 > 2,1
( $\gamma$ -лучи 150 Гр) 1039	119 ± 5,5	110–125	4,6	4,3 > 2,1



Окончание табл. 2

Вид воздействия мутагена, № формы	Высота растений (h), см	Lim (см)	Коэффициент вариации V, %	Критерий t Стьюдента $t_{\text{факт.}} > t_{\text{теор.}}$
<b>ХИР 1Г (Х201В)</b>				
<b>Контроль</b>	<b>140 ± 5,5</b>	<b>133–150</b>	<b>3,9</b>	<b><math>t_{\text{факт.}} &gt; t_{\text{теор.}}</math></b>
(ДМС 0,01 %) 666	112 ± 9,6	92–123	8,6	7,5 > 2,1
(ДМС 0,01 %) 663	101 ± 4,8	95–108	4,8	13,4 > 2,1
(ДМС 0,05 %) 742 б.	151 ± 7,1	140–164	4,7	4,1 > 2,1
(ДМС 0,05 %) 724	117 ± 6,8	110–126	5,8	7,3 > 2,1
(ДМС 0,05 %) 727	109 ± 7,3	100–120	6,7	10,5 > 2,1
(γ-лучи 120 Гр) 1133л.	122 ± 9,6	115–136	7,8	4,7 > 2,1
(γ-лучи 120 Гр) 1135	114 ± 8,6	105–125	7,5	7,2 > 2,1
(γ-лучи 150 Гр) 1159	117 ± 6,1	110–125	5,2	7,4 > 2,1
(γ-лучи 150 Гр) 1143	108 ± 4,9	100–115	4,5	12,8 > 2,1

**Выводы.** Во всех четырех опытных образцах, семянки которых были облучены γ-лучами, выход дефектных клеток был выше, чем у образцов, обработанных ДМС. Несмотря на высокую частоту аномалий в мейозе, в пыльниках растений  $M_1$  преобладали внешне нормально развитые тетрады. Вероятнее всего это можно объяснить тем, что большая часть нарушений в мейозе, наблюдаемых на ранних стадиях, нивелируются системами репарации клеток.

В результате изучения мейоза и учета морфологических изменений, биометрических измерений, отбора из популяций  $M_1$ – $M_3$  линий подсолнечника мы выделили ряд мутантных форм с разного рода морфологическими мутациями, с изменением высоты растения, продолжительности периода вегетации. Эти образцы можно использовать в селекционном процессе в качестве исходных форм.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Козаченко М. Р. Экспериментальный мутагенез в селекції ячменю / М. Р. Козаченко. — Харків: НААН України, Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва. — 2010. — С. 206.
2. Gottshalk W. The genetics control of meiosis / W. Gottshalk // Тез. XII МБК. — 1975. — № 1. — С. 215.
3. Škorić D. et al. Sunflower genetics and breeding: international monography / D. Škorić et al. — Novi Sad: Graphics, 2012. — С. 520.
4. Cvejic S. Radio sensitivity of sunflower restorer lines to different mutagenic treatments / S. Cvejic, S. Bado // Proceed. 5th confer. of young scientists and specialists. — Krasnodar, 2009. — P. 255–259.
5. Cvejic S. New genetic variability in sunflower inbred lines created by mutagenesis / S. Cvejic, S. Josic, M. Jockovic, I. Imerovski, A. Dimitrijevic, D. Miladinovic, S. Prodanovic // Romanian agricultural research. — 2015. — № 32. — P. 27–34. Available at [www.incda-fundulea.ro](http://www.incda-fundulea.ro).
6. Lacombe S. A dominant mutation for high oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed oil is genetically linked to a single oleate-desaturase

- RFLP locus / S. Lacombe, A. Berville // *Molecular Breeding*. — 2001. — № 8, Issue 2. — P. 129–137. DOI: 10.1023/A:1013358711651.
7. Shuppert G. F. The sunflower high-oleic mutant *O* carries variable tandem repeats of FAD2–1, a seed-specific oleoyl-phosphatidyl choline desaturase / G. F. Shuppert, Sh. Tang, M. B. Slabaugh, S. J. Knapp // *Molecular Breeding*. — 2006. — № 17, Issue 3. — P. 241–256. DOI: 10.1007/S11032–005–5680-y.
  8. Fernandez-Martinez J. M. Sunflower mutant containing high levels of palmitic acid in high oleic background / J. M. Fernandez-Martinez, M. Mancha, J. Osorio, R. Garces // *Euphytica*. — 1997. — № 97. — P. 113–116.
  9. Кириченко В. В. Мутантна дія диметилсульфату на мейоз  $M_1$  соняшнику / В. В. Кириченко, В. О. Васько // *Селекція і насінництво*. — 2015. — Вип. 108. — С. 99–105.
  10. Кириченко В. В. Селекція и семеноводство подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) / В. В. Кириченко. — Харьков: Ин-т растениеводства им. В. Я. Юрьева, 2005. — С. 385.
  11. Сорока А. И. Мутационная изменчивость у подсолнечника при воздействии мутагеном на незрелые зародыши / А. И. Сорока // *Наук.-техн. бюл. Института олійних культур*. — 2013. — № 18. — С. 19–24.
  12. Arslan O. Meiotic studies in the  $M_2$  generation of *Helianthus annuus* L. variety EKIZ 1 / O. Arslan, S. Bal, S. Mirici, N. Yenice // *Helia*. — 2001. — № 24, вып. 35. — С. 33–38.
  13. Jayakumar S. Mutagenic effectiveness and efficiency of Gamma rays and ethylmethane sulphonate in sunflower (*Helianthus annuus* L.) / S. Jayakumar, R. Selvaraj // *Madras Agricultural Journal*. — 2003. — № 90. — P. 574–576.
  14. Goyal S. Induced mutagenesis in urdbean (*Vigna mungo* L. Hepper): A review / S. Goyal, S. Khan // *Int. J. Botany*. — 2010. — № 6. — P. 194–206.
  15. Kumar G. Comparative analysis of meiotic abnormalities induced by gamma rays and EMS in barley / G. Kumar, V. Singh // *JIBS*. — 2002. — № 45. — P. 139–142.
  16. Prabakaran P. Effect of Gamma rays and EMS on meiotic Chromosomal behavior in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) / P. Prabakaran, S. Jayakumar // *Indian Journal of Advances in Plant Research*. — 2014. — № 1(7). — P. 1–4.
  17. Калайджян А. А. Российский солнечный цветок / А. А. Калайджян, Л. В. Хлевной, Н. Н. Нещадим, В. П. Головин [и др.]. — Краснодар: Совет. Кубань, 2007. — С. 1–352.
  18. Калайджян А. А. Кубанский подсолнечник — подарок миру / А. А. Калайджян, Н. Н. Нещадим, В. О. Осипян, Д. Шкорич. — Краснодар, 2009. — С. 1–498.
  19. Christov M. A new sunflower mutant form / M. Christov // *Helia*. — 1996. — № 19(24). — P. 39–46.
  20. Lofgren J. R. Chemically induced mutations in sunflower. In: *Proc. 10<sup>th</sup> Int. sunflower conf. Surfers Paradise* / J. R. Lofgren, N. V. Ramaraje-Lers // *Australia, March 15–18. — Int. Sunflower Assoc. Toowoomba, Australia*. — 1982. — P. 264–267.
  21. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. — М.: Агропромиздат, 1988. — С. 267.
  22. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. — М.: Высшая школа, 1990. — С. 348.

UDC 631.531.027.34:[631.524.01:633.854.78]

**Vasko V. O.** Kharkiv National Agrarian University and a V. V. Dokuchaiev**INFLUENCE OF  $^{60}\text{Co}$  RADIOACTIVE RADIATION AND CHEMICAL MUTAGEN DMS ON IRREGULARITIES IN MEIOSIS OF  $M_1$  AND MUTATIONS CREATION OF SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS L.*) LINES**

Creation of new sunflower hybrids as the leading oil crop requires starting material with high indices of product quality and other agronomic properties. Chemical and physical mutagenesis is an effective method for obtainment of such material. The purpose of our research is to obtain mutant forms of a sunflower in the  $M_3$  with modified morphological characteristics as the starting material for breeding. The starting material was two inbred sunflower lines — sterility fixers (Kh1008B, Kh1002B) and two lines — pollen fertility restores (Kh0816V, Kh1R1H (Kh201V) bred at the Plant Production Institute and a V. Ya. Yuryev NAAS. Seeds of lines were irradiated with  $\gamma$ -rays at the doses of 120 and 150 Gy treated with DMS at the concentrations of 0.01 % and 0.05 %. Untreated seeds served as the control. To investigate the effect of  $\gamma$ -rays on meiosis in cells of  $M_1$  sunflower lines, metaphase-anaphase method was used. Analysis of the chromosomal rearrangement frequency showed that  $\gamma$ -rays influenced the chromosome structure, disturbing meiosis in pollen cells. Has been established that, compared with dimethyl sulfate (DMS), gamma rays cause greater disturbances in meiosis. The same is observed with increasing doses and concentrations of mutagens. In all four prototypes whose achenes had been irradiated with gamma rays, the number of defective cells is greater than that of the samples treated with DMS.

УДК 631.531.027.34:[631.524.01:633.854.78]

**Васько В. О.** Харківський національний аграрний університет ім. В. В. Докучаєва**ВПЛИВ РАДІОАКТИВНИХ ВИПРОМІНЮВАНЬ  $^{60}\text{Co}$  ТА ХІМІЧНОГО МУТАГЕНА ДМС НА ПОРУШЕННЯ В МЕЙОЗІ В  $M_1$  ТА ОТРИМАННЯ МУТАЦІЙ ЛІНІЙ СОНЯШНИКУ (*HELIANTHUS ANNUUS L.*)**

Створення нових гібридів соняшнику як провідної олійної культури вимагає вихідного матеріалу, що характеризується високими показниками якості продукції та інших агрономічних властивостей. Одним з ефективних методів отримання такого матеріалу є хімічний і фізичний мутагенез. Метою досліджень є отримання мутантних форм соняшнику в  $M_3$  зі зміненими морфологічними ознаками як вихідного матеріалу

для селекції. Вихідним матеріалом були дві інбредні лінії — закріплювачі стерильності соняшнику (Х1008Б, Х1002Б) і дві лінії — відновлювачі фертильності пилку (Х08–16В, ХІР1Г (Х201В) селекції Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН. Насіння ліній було оброблено гама-променями в дозах 120 і 150 Гр та диметилсульфатом (ДМС) в концентрації 0,01 і 0,05 %. Контролем слугувало необроблене насіння. Для встановлення впливу гама-променів на мейоз у клітинах  $M_1$  ліній соняшнику використовували метафазно-анафазний метод. Аналіз частоти хромосомних перебудов показав, що гама-промені вплинули на структуру хромосом, порушивши хід мейозу в материнських клітинах пилку. Встановлено, що в порівнянні з ДМС гама-промені викликають більше порушень мейозу, те саме спостерігається і при підвищенні дози та концентрації мутагенів. У всіх чотирьох дослідних зразках, сім'янки яких були опромінені гама-променями, кількість дефектних клітин більше, ніж у зразках, оброблених ДМС.