## ХИМИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ В СЕЛЕКЦИИ СМОРОДИНЫ (RIBES L.) И КРЫЖОВНИКА (GROSSULARIA MILL.)

### И.Э. БУЧЕНКОВ<sup>1</sup>, А.Г. ЧЕРНЕЦКАЯ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Международный экологический университет им. А.Д. Сахарова, г. Минск, Республика Беларусь, butchenkow@mail.ru

<sup>2</sup>Полесский государственный университет, г. Пинск, Республика Беларусь, chrysanthemum@list.ru

Введение. Продовольственная проблема с годами не теряет своей актуальности. Ее суть заключается в несоответствии растущего спроса населения на продукты питания и возможностей сельскохозяйственного производства, ограниченного имеющимися земельными и водными ресурсами и уровнем развития самой отрасли. В связи с этим возникает необходимость перехода к биологизации технологий селекции сельскохозяйственных растений, предусматривающей максимальное согласование их с биологическими требованиями культуры, к стратегии интегрированного использования генетических, природных и техногенных факторов для обеспечения устойчивого роста продуктивности, ресурсосбережения и экологической безопасности.

В интегрированной системе выращивания сельскохозяйственных культур все больше будет возрастать роль сорта, так как он является наиболее надежным и экологически выгодным фактором повышения урожайности и ее стабильности. В перспективе в мире рост продуктов питания и другой сельскохозяйственной продукции будет определяться, прежде всего, уровнем разработки и применения новых технологий [10].

Созданию сортов предшествует работа по получению на основе гибридизации исходного разнообразия генотипов. Однако данный метод селекции плодово-ягодных кустарников требует 15-20 лет. Одним из методов, позволяющим получать в короткие сроки разнообразный по многим признакам исходный материал, является индуцированный мутагенез.

Основные преимущества индуцированного мутагенеза по сравнению с традиционными методами селекции заключаются в более быстром улучшении исходного материала для дальнейших селекционных целей как по одному, так и по ряду хозяйственно ценных признаков [3, 12]. Однако очень редкое выявление доминантных мутаций и сравнительно частое появление различных хромосомных аберраций при использовании физических мутагенов (высокие и низкие температуры, рентгеновское излучение,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -лучи, ультрафиолетовое излучение) создают существенные затруднения для более плодотворного использования индуцированного мутагенеза в селекции. Это в значительной мере может быть устранено путем использования химических мутагенов, которые резко уменьшают количество хромосомных аберраций и увеличивают долю доминантных мутаний [1, 9].

Среди ягодных кустарников, выращиваемых в Беларуси, важными культурами являются смородина (*Ribes L.*) и крыжовник (*Grossularia Mill.*). Их ягоды, богатые ценным набором витаминов, минеральных солей, ферментов играют существенную роль в рациональном питании, профилактике, успешном лечении многих заболеваний человека. В этой связи селекционная работа с этими культурами имеет особую важность [2].

Смородине и крыжовнику свойственна широкая изменчивость, в том числе и по таким хозяйственно важным признакам, как устойчивость к американской мучнистой росе, урожайность, величина ягод, их вкус, химический состав, окраска и др. [2].

В настоящее время по вопросу мутационной изменчивости смородины и крыжовника накоплен обширный фактический материал.

В Германии действием γ-лучей у черной смородины получены ценные в практическом отношении формы с мощным ростом, укороченными междоузлиями, удлиненными кистями, более крупными ягодами, улучшенным вкусом, более поздним созреванием ягод, устойчивые к антракнозу. По мнению R. Bauer, создание сортов методом радиационного мутагенеза является более перспективным в селекции черной смородины, чем межсортовая гибридизация [15].

В Швеции получены мутанты, несущие изменения в сроках созревания ягод, форме листьев, силе роста [17].

В Латвии изучены наиболее эффективные мутагенные факторы, дозировки, мутабильность различных сортов черной смородины и характер изменчивости морфологических признаков. Уста-

новлено, что облучение черенков черной смородины  $\gamma$ -лучами в пределах испытанных доз приводит к резкому увеличению изменчивости, при этом у различных сортов 0,7-6,7% всех изменений выходит за пределы признаков вида [4].

К. Grober в Германии, облучив черенки черной смородины, выделил мутанты с повышенным содержанием аскорбиновой кислоты в ягодах [16].

В.К. Юрцев и Н.А. Горланов отмечали положительное действие облучения  $\gamma$ -лучами черенков смородины и крыжовника на процесс регенерации корней, на рост и развитие укорененных черенков [14].

А.С. Равкин, изучая воздействие хронического облучения  $\gamma$ -лучами в течение вегетации на растения черной смородины, установил оптимальную дозу для получения радиоморфозов, степень устойчивости и мутабильность разных сортов [8].

Параллельно с изучением влияния ионизирующей радиации на растения были начаты экспериментальные исследования мутагенного действия ряда химических соединений. Однако первые эксперименты по получению соматических мутаций химическими мутагенами не дали эффективных результатов. Сказалась специфическая реакция растений на обработку химическими соединениями [7].

Дальнейшее расширение экспериментальных исследований по индуцированному химическому мутагенезу смородины черной базировалось на учете специфических особенностей развития самой культуры, объяснении особенностей возникновения новых признаков, изучении полученных морфозов и детальном учете частоты и спектра всех наследуемых изменений. Вместе с тем, способность смородины к вегетативному размножению дала возможность закрепить полученные наследственные соматические и почковые мутации в последующих вегетативных поколениях [5, 7, 11, 13].

В Беларуси исследования по использованию химических мутагенов в селекции смородины и крыжовника находятся на начальном этапе выяснения эффективных мутагенов, доз, экспозиций воздействия, мутабильности сортов и характера изменчивости признаков. Начиная с 1976 по 1980 гг. Г.А Бавтуто на основе радиационного и химического мутагенеза получены мутантные формы смородины черной с отклонениями в морфологии листа, побега, размерах плодов, времени их созревания, урожайности, иммунности, зимостойкости, силе роста, степени самоплодности [2].

Несмотря на достигнутые успехи, многие аспекты химического мутагенеза смородины черной, смородины красной и крыжовника остаются не ясными до настоящего времени.

**Методика и объекты исследования.** В период с 1998 по 2003 гг. проводили обработку почек смородины черной, смородины красной и крыжовника супермутагенами. Исследования по отбору и изучению мутантных форм проводили с 1999 по 2009 гг. на агробиологической станции БГПУ им. М. Танка, а с 2009 по 2012 гг. на опытном поле ПолесГУ.

Объектами исследования являлись сорта: смородина черная – Памяти Вавилова, Минай Шмырев, Кантата 50, Церера, Катюша; смородина красная – Ненаглядная, Голландская красная, Прыгажуня; крыжовник – Яровой, Беларусский красный, Машека.

Верхушечные почки вышеуказанных сортов обрабатывали нитрозометилмочевиной (НММ), нитрозоэтилмочевиной (НЭМ), этиленимином (ЭИ), диметилсульфатом (ДМС) и диэтилсульфатом (ДЭС) в концентрациях 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1% при экспозициях 6, 12, 24 часа. При обработке верхушечные почки побегов указанных сортов помещали в желатиновые капсулы с водными растворами мутагенов соответствующих концентраций. В каждом варианте обрабатывали по 160 – 180 почек. После определенной экспозиции воздействия почки промывали в воде. На следующий год выросшие из обработанных почек побеги отчеренковывали и укореняли.

В качестве критерия определения чувствительности различных сортов смородины и крыжовника использовали показатель количества измененных растений, выращенных из обработанных химическими мутагенами почек. Чувствительность определяли на второй год роста черенков, развившихся из обработанных мутагенами почек.

Полевые опыты и наблюдения проводили по Программе и методике сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур [6].

**Результаты и их обсуждение.** За годы исследований обработано 4808 почек, выращено 404 растения, из которых отобрано 81, с более чем 20 различными типами морфозов и мутаций. В процессе исследований установлено, что частота мутационных изменений зависит от исходного сорта, мутагена, концентрации мутагена и экспозиции его воздействия и в среднем составляет у смородины черной  $-2,07\pm0,28\%$ ; смородины красной  $-1,94\pm0,15\%$ ; крыжовника  $-1,07\pm0,08\%$  (табл.).

Таблица – Обобщенные средние данные обработки верхушечных почек сортов смородины и крыжовника

Культура	Обрабо-	Распустивших-		Укоренив-		Изменен-		Отобрано форм с	
	тано	ся верхушеч-		шихся		ных		хозяйственно	
	почек,	ных почек		растений		растений		ценными признаками	
	шт.	ШТ.	%	ШТ.	%	ШТ.	%	шт.	%
Смородина черная	1783	1041	58,38	154	8,64	37	2,07	4	0,22
Смородина красная	1341	921	68,68	152	11,33	26	1,94	2	0,15
Крыжовник	1684	1002	59,50	98	5,82	18	1,07	3	0,18

Изучение влияния химических мутагенов на сорта смородины черной, смородины красной, крыжовника показало линейную зависимость степени развития мутантных форм растений от концентрации и экспозиции воздействия мутагенов.

Анализ полученных результатов показал, что с целью получения хозяйственно ценных форм у смородины черной, смородины красной и крыжовника оптимальными концентрациями растворов мутагенов для обработки сортов являются варианты с 0,005% НЭМ; 0,01% ДЭС; 0,1% ЭИ; 0,05% ДМС при экспозиции 12 часов. При использовании более высоких концентраций мутагенов (от 0,5 до 1%), наряду, с увеличением общего числа мутантных форм, снижается процент растений с хозяйственно полезными изменениями. При концентрации растворов мутагенов 1% не происходит развитие побегов из верхушечных почек вследствие их усыхания.

Установлено, что большей мутабильностью характеризуются сорта Памяти Вавилова (4,38%), Минай Шмырев (4,26%), Кантата 50 (3,87%), Яровой (2,63%), Белорусский красный (2,79%), Ненаглядная (4,32%). Меньшей мутабильностью обладают сорта Церера (0,84%), Катюша (0,78%), Машека (0,63%), Голландская красная (0,72%), Прыгажуня (0,71%).

Наши исследования также показали, что химические мутагены индуцируют у смородины и крыжовника большое количество наследственных изменений, преобладающая часть которых не связана с хозяйственно ценными признаками (табл.). Под влиянием мутагенов изменяются практически все признаки и свойства: увеличение или уменьшение размера и формы ягод; изменение вкуса плодов; уменьшение числа семян; более раннее или позднее созревание ягод; повышение или снижение устойчивости к болезням; изменение способности к самоопылению; ослабление роста; изменение габитуса; варьирование размеров, формы, окраски и параметров листа; изменение сроков наступления фенофаз.

Изучение полученных и отобранных форм по основным хозяйственно ценным признакам позволило выделить среди выявленных уклонений макро- и микромутации. Мутантные формы первой группы резко отличаются от родительских форм по структуре листьев, габитусу куста, характеру роста ветвей. У мутантных форм второй группы основные признаки материнского сорта сохраняются, а небольшие отклонения затрагивают морфологию листа.

Наиболее ценными для селекционных целей новообразованиями у смородины и крыжовника являются: более мощное развитие, укороченные междоузлия, длинная кисть, штамбовый габитус куста, более крупные плоды, улучшение вкуса плодов, повышение устойчивости к заболеваниям. Однако частота желательных для практической селекции мутаций очень мала. Часто желательные признаки в полученной форме сочетаются со снижением фертильности, что фенотипически проявляется более мелкими ягодами, уменьшением их количества, сильным опадением завязей и плодов. В целом, в наших исследованиях отобрано только 9 форм, которые превосходят исходные сорта по комплексу признаков.

Изучали также соматические мутации смородины и крыжовника. При этом использовали фенотипически четко проявляющиеся изменения, связанные с хлорофильной недостаточностью и морфологическим строением листьев (характер зазубренности края листовой пластинки, ее поверхность, расчлененность, размер и форма). Учеты проводили в конце роста побегов.

Большее количество соматических мутаций было индуцировано НЭМ и ДЭС, меньше ЭИ и ДМС. НЭМ и ДЭС способствовали появлению в большинстве случаев хлорофильных мутаций, а

ЭИ и ДМС вызывали обычно сопутствующие друг другу хлорофильные и морфологические муташии.

Изучение соматических мутаций смородины и крыжовника проводили с целью установления корреляционных связей мутантного признака, проявляющегося на ранних этапах развития (хлорофильная недостаточность, морфологическое строение листа) с хозяйственно ценными показателями (штамбовый габитус, крупные плоды и т.д.), обычно проявляющимися на поздних этапах развития.

В зависимости от степени изменения листьев все изученные мутантные формы морфологического типа были разделены на три группы:

- 1 с резко выраженной расчлененностью листьев;
- 2 с сильной деформацией поверхности листовой пластинки;
- 3 с измененными размерами листовой пластинки.

Отобранные первоначально измененные формы размножали вегетативно. Результаты учетов во втором и третьем вегетативном поколениях показали связь степени изменения листовой пластинки с другими признаками.

Первой группе растений свойствена слаборослость, граничащая с карликовостью, поздние сроки прохождения фенофаз. Преобладающему большинству растений этой группы характерна хлорофильная недостаточность. Причем зоны измененной по окраске ткани сосредоточены вдоль крупных жилок.

Вторая группа растений характеризуется пониженной фертильностью пыльцы и хлорофильной недостаточностью, которая проявляется в виде светло-зеленой окраски листьев. Растениям этой группы свойственна пониженная урожайность за счет уменьшения числа соцветий, цветков в соцветии, диаметра ягод.

Третья группа растений не отличается от исходных родительских сортов по силе роста, окраске листьев, но характеризуется повышенной стерильностью пыльцы, уменьшением числа цветков в соцветии, мелкоплодностью.

Таким образом, среди морфологических мутантов выявлена четкая связь характера изменения листовой пластинки с целым комплексом других признаков, в первую очередь урожайностью и габитусом куста.

Изучены также хлорофильные мутантные формы, представленные растениями с измененной окраской листьев, наблюдаемой в течение всего периода вегетации. В отличие от морфологических мутантных форм, имеющих лишь отдельные участки листа с хлорофильной недостаточностью, указанные выше формы характеризуются изменением окраски всей листовой пластинки.

В целом, все выявленные формы с хлорофильными изменениями можно объединить в три группы:

- 1 одноцветные желтые, светло-зеленые, зеленовато-желтые;
- 2 двухцветные часть листьев на кусте светло-зеленые или желто-зеленые, а остальные обычные;
- 3 со сменяющейся окраской зеленая окраска листьев в течение вегетации меняется на бледно-желтовато-зеленую.

Выявление среди групп хлорофильных мутантов корреляционных связей с другими хозяйственно ценными признаками в течение трех вегетативных поколений показало, что первой группе растений характерна слаборослость или штамбовый габитус куста, второй – компактный с приподнятыми ветвями габитус куста, третьей – раскидистая форма куста и отставание в сроках прохождения фенологических фаз развития. Выявленные закономерности характерны как для смородины черной, так и смородины красной и крыжовника.

**Выводы.** В результате изучения возможности использования химического мутагенеза в селекции смородины и крыжовника установлено:

- 1. Оптимальными концентрациями растворов мутагенов для получения хозяйственно ценных форм смородины черной, смородины красной и крыжовника являются: 0,005% НЭМ; 0,01% ДЭС; 0,1% ЭИ; 0,05% ДМС при экспозиции 12 часов. При использовании более высоких концентраций мутагенов (от 0,5 до 1%), наряду, с увеличением общего числа мутантных форм, снижается процент растений с хозяйственно полезными изменениями. При концентрации растворов мутагенов 1% не происходит развитие побегов из верхушечных почек вследствие их усыхания.
- 2. Большей мутабильностью характеризуются сорта Памяти Вавилова (4,38%), Минай Шмырев (4,26%), Кантата 50 (3,87%), Яровой (2,63%), Белорусский красный (2,79%), Ненаглядная

- (4,32%); меньшей Церера (0,84%), Катюша (0,78%), Машека (0,63%), Голландская красная (0,72%), Прыгажуня (0,71%).
- 3. Большее количество соматических мутаций индуцировано НЭМ и ДЭС, меньше ЭИ и ДМС. НЭМ и ДЭС способствовуют появлению в большинстве случаев хлорофильных мутаций, а ЭИ и ДМС вызывают обычно сопутствующие друг другу хлорофильные и морфологические мутации.
- 4. У мутантных форм смородины черной, смородины красной и крыжовника с морфологическим изменением листовой пластинки и хлорофильной недостаточностью выявлена четкая связь между характером изменения листа, урожайностью и габитусом куста.
- 5. Отобрано 4 формы смородины черной, 2 смородины красной и 3 крыжовника, которые превосходят исходные родительские сорта по комплексу признаков. Выделенные формы представляют исходный селекционный материал для дальнейшей селекции.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1. Ауэрбах, Ш. Проблемы мутагенеза / Ш. Ауэрбах. М.: Мир, 1978. 458 с.
- 2. Бавтуто,  $\Gamma$ .А. Обогащение генофонда и создание исходного материала плодово-ягодных культур на основе экспериментальной полиплоидии и мутагенеза: автореф. дис. ... д-ра биол. наук:  $03.00.05 / \Gamma$ .А. Бавтуто; Тартуский гос. ун-т. Тарту, 1980. 49 с.
- 3. Зоз, Н.Н. Методика исследования химических мутагенов в селекции сельскохозяйственных культур / Н.Н. Зоз // Мутационная селекция. М.: Наука, 1968. С. 217 230.
- 4. Мелехина, А.А. Изменчивость черной смородины под влиянием ионизирующих излучений / А.А. Мелехина // Изв. АН ЛатвССР, 1966. − № 10(231). − c. 83-88.
- 5. Потапов, С.П. Химический мутагенез в селекции черной смородины // С.П. Потапов // Индуцированный мутагенез в селекции садовых растений. М.: Изд-во МГУ, 1977. с. 131-141.
- 6. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / ВНИИСПК; под общ. ред. Е.Н. Седова и Т.П. Огольцовой. Орел: ВНИИСПК, 1999. 608 с.
- 7. Равкин, А.С. Действие ионизирующих излучений и химических мутагенов на вегетативно размножаемые растения / А.С. Равкин. М.: Наука, 1981. 192 с.
- 8. Равкин, А.С. Типы индуцированных химер черной смородины и некоторые особенности их формирования / А.С. Равкин // Плодоводство и ягодоводство нечерноземной полосы. М.: НИЗИСНП, 1972. с. 322-331.
- 9. Рапопорт, И.А. Генетические ресурсы доминантности в химическом мутагенезе и их селекционное значение / И.А. Рапопорт // Химический мутагенез и гибридизация. М.: Наука, 1978. с.3-33.
- 10. Россихин, В.П. Эволюционное направление селекции сельскохозяйственных растений / В.П. Россихин, Т.В. Россихина Зерноград, 2006. 48 с.
- 11. Сальникова, Т.В. Факторы, влияющие на спектр и типы мутантов при химическом мутагенезе / Т.В. Сальникова // Химический мутагенез и качество сельскохозяйственной продукции: сб. научн. трудов М.: Наука, 1983. С. 38-51.
- 12. Стрельчук, С.И. Основы экспериментального мутагенеза / С.И. Стрельчук. Киев: Вища школа, 1981. -216 с.
- 12. Эглите, М.А. Влияние N-нитрозоэтилмочевины на черную смородину в год обработки / М.А. Эглите // Химический мутагенез и селекция. М.: Наука, 1971. с. 379-388.
- 13. Юрцев, В.К. Влияние гамма-лучей на укоренение и развитие черенков смородины и крыжовника / В.К. Юрцев, Н.А. Горланов // Новое в размножении садовых растений. М.: Колос, 1969. с. 67-79.
  - 14. Bauer, R. The induction of vegetative mutations in Ribes nigrum / Heredidas. − 1957. − № 2. − p. 323-337.
- 15. Grober, K. Some results of mutation experiments an apples and black currants / K. Grober // Induced mutations and their utilization. Bonn, 1967. p. 377-382.
- 16. Nybom, N. Induced mutations and breeding methods in vegetatively propagated plants / N. Nybom, A. Koch // Rad. Bot. -1965.  $-\cancel{N}$  4. -661-678.

# CHEMICAL MUTAGENESIS IN SELECTION CURRANTS (RIBES L.) AND GOOSEBERRY (GROSSULARIA MILL.)

### I.E. BUCHENKOV, A.G. CHERNECKAYA

### **Summary**

The optimum concentration of the solutions for the treatment of mutagens varieties of black currants, red currants and gooseberries: 0.005% nitrozoetilmochevina, 0.01% diethyl sulfate, 0.1% ethyleneimine, 0.05% dimethyl sulfate exposure at 12 hours. When using higher concentrations of mutagens (0.5 to 1%), along with an increase in the total number of mutants, reduced the percentage of plants with economic utility changes. At a concentration of 1% solutions of mutagens is no shoot development of terminal buds due to shrinkage.

The higher number of somatic mutations induced nitrozoetilmochevinoy and diethyl less ethylenimine and dimethyl sulfate. Mutant forms of black currants, red currants and gooseberries with morphological change and leaf chlorophyll violations revealed a clear relation to yield and bush habit.

© Бученков И.Э., Чернецкая А.Г.

Поступила в редакцию 7 октября 2013г.