

ИЗУЧЕНИЕ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛД-50 ПРИ ГАММА- ОБЛУЧЕНИИ СЕМЯН ЧЕЧЕВИЦЫ ТАРЕЛОЧНОЙ (LENS ESCULENTA MAKROSPERMA)

Г.С. ПОСЫПАНОВ, А.А. САПОЖКОВА, М.М. МАЙОРОВА

(Кафедра растениеводства)

Исследовали влияние разных доз (30, 70, 100, 130, 160 и 190 Гр) гамма-облучения сухих семян чечевицы тарелочной (*Lens esculenta makrosperma*) на лабораторную всхожесть, энергию прорастания, силу роста, накопление сухого вещества растениями, динамику появления всходов и их изреживания. Результаты показали, что доза 30 Гр не оказывает существенного влияния на изучаемые показатели, доза ЛД-50 находится между 70 и 100 Гр, а дозы 130, 160 и 190 Гр вызывают столь сильное угнетение, что часто не дифференцируются по степени воздействия.

Являясь ценной кулинарной, диетической, лечебно-профилактической и кормовой культурой [1, 14], чечевица, однако, имеет комплекс недостатков, обуславливающих низкие урожан семян (0,5—1,5 т/га), сильное их варьирование по годам и большие потери при уборке. Это индетерминантный тип роста и связанные с ним склонность стебля к сильному ветвлению и израстанию во влажные годы, растянутый период цветения (до 2/3 вегетационного), раскидистая форма куста, низкое прикрепление нижних бобов, ломкость ветвей [10, 11].

К настоящему времени разработана модель технологического

высокопродуктивного сорта чечевицы [13], однако достигнута параметров такого модельного сорта препятствуют трудности в селекции этой культуры: чечевица — самоопылитель (естественное перекрестное опыление составляет всего 2—5%), опыление происходит в нераскрывшихся белых бутонах, в связи с этим гибридизацию нужно проводить в фазу беловатых бутонов — легкоповреждаемых мелких (2—4 мм длиной) структур, поэтому завязываемость составляет всего 0,1—8,9% [12].

Трудности, связанные с гибридизацией, можно преодолеть с помощью экспериментального, в

частности радиационного, мутагенеза. На это указывают успехи его применения на других бобовых культурах [4, 7, 15, 16]. Но работ по радиомутагенезу чечевицы проводилось очень мало, и важные для ускорения селекционного процесса параметры — критические дозы, доза ЛД-50, установленные для других бобовых культур, для нее не найдены. Этим обусловлена необходимость проведения данного исследования.

Методика

Лабораторные, вегетационные и полевые опыты проводили в 1995 и 1996 гг. в Тимирязевской академии. Семена чечевицы тарелочной сорта ПСЕ-4 1994 г. урожая (масса 1000 семян 66,5 г) подвергали облучению на гамма-установке «Алмаз» с источником ^{137}Cs в Институте им. Гамалея. Условия облучения: семена сухие, расстояние до источника 1 м, дозы в 1995 г. — 30, 70 и 100 Гр (1 Гр = 100 рад = 113,6 р); в 1996 г. — 30, 70, 100, 130, 160 и 190 Гр. Дозиметрия осуществлялась дозиметром 27012. Мощность дозы соответственно по годам 4,0 и 1,9 сГр/с.

Энергию прорастания и всхожесть облученных семян определяли в растительных во влажном песке (80% ППВ), в 4-кратной повторности по 100 семян в каждом повторении. Сосуды выдерживали в темноте при температуре 20°С. Анализ энергии прорастания проводили через 3 сут после закладки опыта, анализ всхожести — через 7 сут. Учитывали проростки, имеющие коре-

шок и побег длиной не менее 0,5 диаметра семени без видимых аномалий. В 1995 г. проводили 2 серии опытов, в 1996 г. — одну, но с большим диапазоном доз облучения.

Изменение силы роста в зависимости от дозы гамма-облучения изучали в 1995 и 1996 гг. на влажном песке в алюминиевых сосудах, в 2 повторностях по 50 семян в каждой на свету при температуре воздуха 20°С. На 10-е сутки от закладки проводили подсчет полноценных (высотой не менее 2 см от поверхности песка) и неполноценных проростков, а также взвешивание сырой надземной массы. Срезы выполнены на уровне поверхности сухого песка.

Полевые опыты проведены в 1995 г. на опытном поле лаборатории растениеводства Тимирязевской академии. Агрохимическая характеристика почвы: рН — 6,1, содержание гумуса — 2,1%, легкогидролизуемого азота — 8,0 мг, подвижного фосфора по Кирсанову — 16,0, обменного калия — 12,0 мг на 100 г. Размещение вариантов систематическое: st, 30, 70, 100 Гр и т.д.

Вегетационный опыт проведен в 1996 г. в пластмассовых вегетационных сосудах в 6-кратной повторности. В сосуд помещали по 3 кг влажной почвы с опытного поля академии. Для создания равных условий сосуды раз в 3 дня меняли местами и перемещали по теплице. Периодически проводили подсчеты количества растений в каждом сосуде. В фазу конца цветения в контроле (st) растения каждого сосуда срезали на уров-

не почвы и высушивали при 105°С в бумажных пакетиках в сушильном шкафу. Корни отмывали от почвы и сушили до абсолютно сухого вещества (АСВ). Полученные данные подвергнуты дисперсионному анализу с помощью специальной компьютерной программы.

Результаты

В опытах 1996 г. энергия прорастания и всхожесть семян практически не зависели от дозы гамма-облучения (табл. 1), а в двух сериях опытов 1995 г. было достоверно выявлено «стимуляционное» воздействие доз 30, 70 и 100 Гр.

Таблица 1

Энергия прорастания (% — числитель: % к st — знаменатель) семян чечевицы в зависимости от дозы гамма-облучения

Год	st	Доза, Гр						НСР ₀₅
		30	70	100	130	160	190	
1996	$\frac{74}{100}$	$\frac{78}{106}$	$\frac{75}{101}$	$\frac{73}{99}$	$\frac{76}{103}$	$\frac{77}{105}$	$\frac{71}{96}$	$F_{\phi} < F_{\tau}$
1995:								
1-я серия	$\frac{53}{100}$	$\frac{77}{144}$	$\frac{79}{149}$	$\frac{79}{147}$	—	—	—	10
2-я серия	$\frac{69}{100}$	$\frac{83}{120}$	$\frac{86}{125}$	$\frac{83}{120}$	—	—	—	9

Некоторые авторы [2] отмечали стимуляционные эффекты радиации на ранних стадиях развития растений и объясняли их появление тем, что гамма-излучение индуцирует возникновение свободных радикалов, которые в сухих семенах сохраняются долго, медленно вступая в реакции друг с другом и молекулами клетки. При намачивании семян скорость реакций увеличивается, так что свободные радикалы «гибнут» в первые 40—60 мин после намачивания, включившись в цепь химических реакций. Цепь эта, индуцированная свободными радикалами, приводит, во-первых, к более ранней депрессии генома, а во-вторых, к возникновению не свойственных клетке веществ, ин-

рающих роль стресс-факторов, вызывающих активацию защитных реакций. Все это способствует ускорению метаболизма на первых этапах [6], но индуцирует различные нарушения впоследствии [6, 8, 9].

Биохимические анализы проростков разных культур, полученных из гамма-облученных семян, в подтверждение данной гипотезы свидетельствуют о повышении в них ферментативной и общеметаболической активности по сравнению с контролем: активацию АТФ-азы, каталазы, гексокиназы и кислой фосфатазы, увеличение содержания РНК, гибереллиноподобных веществ [3, 5, 8, 9]. Причем активация наблюдалась на 3—6-е сутки от намачивания

семян, а позднее, на 7—11-е сутки, различия нивелировались или менялись в пользу контроля благодаря включению репарационных и регуляторных (например, по принципу обратной связи) механизмов и проявлению нарушений, вызванных радиацией посредством тех же свободных радикалов [5, 8, 9].

Следовательно, и в наших опытах проявлений угнетающего действия радиации следовало ожи-

дать позднее, чем проводился анализ энергии прорастания.

Действительно, существенное снижение всхожести вызывали дозы гамма-облучения начиная со 100 Гр (табл. 2). Но различия эти не столь велики (в пределах 16%), чтобы дать представление о критических и полуметальной (ЛД-50) дозах.

Наибольшее влияние различные дозы гамма-облучения оказали на силу роста. Доза 70 Гр снижала

Таблица 2

Всхожесть семян чечевицы (% — числитель; % к st — знаменатель) в зависимости от дозы гамма-облучения

Год	st	Доза. Гр						НСР ₀₅
		30	70	100	130	160	190	
1996	$\frac{91}{100}$	$\frac{92}{101}$	$\frac{92}{101}$	$\frac{84}{92}$	$\frac{80}{88}$	$\frac{83}{91}$	$\frac{77}{84}$	5
1995:								
1-я серия	$\frac{98}{100}$	$\frac{99}{100}$	$\frac{97}{98}$	$\frac{94}{96}$	—	—	—	3
2-я серия	$\frac{98}{100}$	$\frac{98}{100}$	$\frac{96}{98}$	$\frac{94}{96}$	—	—	—	$F_{\phi} < F_{\tau}$

Таблица 3

Сухая масса (г — числитель; % к st — знаменатель) 10-дневных проростков чечевицы в зависимости от дозы гамма-облучения

Год	st	Доза. Гр						НСР ₀₅
		30	70	100	130	160	190	
1996	$\frac{6,5}{100}$	$\frac{7,0}{107}$	$\frac{2,7}{42}$	$\frac{1,7}{26}$	$\frac{1,0}{15}$	$\frac{0,9}{14}$	$\frac{0,7}{11}$	2,1
1995:								
1-я серия	$\frac{9,6}{100}$	$\frac{9,1}{95}$	$\frac{5,8}{60}$	$\frac{2,9}{30}$	—	—	—	0,8
2-я серия	$\frac{9,9}{100}$	$\frac{9,4}{95}$	$\frac{5,6}{56}$	$\frac{2,8}{29}$	—	—	—	1,8

накопление сырой надземной массы проростками чечевицы на 10-й день от закладки эксперимен-

та в 1,8—2,4 раза (табл. 3). Начиная с дозы 130 Гр угнетение проростков было столь сильным (в

6,5—9,3 раза), что различия между дозами 130, 160 и 190 Гр по степени воздействия на проростки оказались несущественными.

По количеству и соотношению полноценных и неполноценных

проростков (табл. 4) на момент оценки силы роста в разные годы получены различные результаты, что, по-видимому, объясняется разными мощностями дозы (в 1995 г. — 4,0, в 1996 г. — 1,9 сГр/с).

Таблица 4

Количество и соотношение полноценных и неполноценных проростков чечевицы в зависимости от дозы гамма-облучения

Показатель	Доза, Гр							НСП ₀₅
	st	30	70	100	130	160	190	
<i>1996 г.</i>								
Взошедшие, % к высаженным	94	94	83	47	18	16	16	11
Полноценные, %	91	91	60	28	14	9	11	4
Неполноценные, % к взошедшим	3	3	28	39	22	44	31	—
Всего, % к st	100	100	88	50	19	17	17	—
Полноценные, % к st	100	100	66	31	15	10	12	—
<i>1995 г.</i>								
<i>1-я серия</i>								
Взошедшие, % к высаженным	99	100	99	91	—	—	—	6
Полноценные, %	97	98	97	74	—	—	—	14
Неполноценные, % к взошедшим	2	2	2	19	—	—	—	—
<i>2-я серия</i>								
Взошедшие, % к высаженным	97	99	92	80	—	—	—	9
Полноценные, %	92	97	87	62	—	—	—	11
Неполноценные, % к взошедшим	5	2	5	22	—	—	—	—

Существенное уменьшение количества полноценных проростков и резкое повышение отстающих и уродливых в 1995 г. вызваны дозой 100 Гр, а в 1996 г. — дозами начиная с 70 Гр. Следовательно, одна и та же доза при меньшей мощности (1,9 сГр/с) оказывает более глубокое воздействие на семена, чем при большей (4,0 сГр/с). Дозы 130, 160 и 190 Гр также не дифференцируются по степени воздействия на качество проростков.

По соотношению полноценных и неполноценных проростков можно сделать предварительное заключение, что ЛД-50 находится в диапазоне доз от 70 до 100 Гр. По-видимому, у появившихся к моменту оценки силы роста полноценных ростков выше вероятность дожить до репродуктивного периода, когда фиксируют ЛД-50, чем у появившихся позднее. Последующий эксперимент подтвердил этот вывод.

Результаты вегетационных опытов, в которых изучалась динамика всхожести и изреживания растений в зависимости от дозы гамма-облучения, показали, что примерно на 20-й день после высева семян чечевицы появилось максимальное число всходов, после чего начался процесс изреживания (табл. 5). В фазу всходов (12 дней после посева) и полного цветения у st (44 дня от посева) на-

блюдалась подобная картина: а) доза ЛД-50 — между 70 и 100 Гр; б) по существенности различий выделены 2 группы вариантов, внутри которых между вариантами различия несущественны, а между группами существенны: 1) st, 30 и 70 Гр; 2) 100, 130, 160 и 190 Гр.

На 15-й, 20 и 30-й дни от посева по тому же принципу выделены 4 статистические группы вариан-

Таблица 5

Динамика всхожести и изреживания проростков чечевицы (шт/сосуд — числитель; % к st — знаменатель) в зависимости от дозы гамма-облучения

Дни от посева	st	Доза, Гр						НСР ₀₅
		30	70	100	130	160	190	
12	<u>14</u>	<u>12</u>	<u>12</u>	<u>4</u>	<u>3</u>	<u>3</u>	<u>2</u>	6
	100	86	86	29	21	21	14	
15	<u>22</u>	<u>21</u>	<u>16</u>	<u>11</u>	<u>6</u>	<u>6</u>	<u>6</u>	4
	100	95	73	50	27	27	27	
20	<u>24</u>	<u>24</u>	<u>21</u>	<u>15</u>	<u>8</u>	<u>8</u>	<u>6</u>	3
	100	100	87	62	33	33	25	
30	<u>23</u>	<u>24</u>	<u>21</u>	<u>13</u>	<u>8</u>	<u>6</u>	<u>5</u>	3
	100	104	91	56	35	26	22	
44 (цветение)	<u>20</u>	<u>19</u>	<u>18</u>	<u>8</u>	<u>6</u>	<u>5</u>	<u>4</u>	5
	100	95	90	40	30	25	20	

тов: 1) st и 30 Гр; 2) 70 Гр; 3) 100 Гр; 4) 130, 160 и 190 Гр; ЛД-50 находился в диапазоне от 100 до 130 Гр, приближаясь к 100 Гр.

Следует отметить выявленную закономерность: если дозы 70 и 100 Гр могут либо примыкать к разным группам вариантов или образовывать собственные, то дозы начиная с 130 Гр попадают в одну группу, не дифференцируясь по степени влияния, а при дозе 30 Гр нет существенных различий с контролем. Следовательно, интервалы st — 30 и 130 Гр — знак

бесконечности можно исключить из числа рассматриваемых при поиске ЛД-50.

Данные табл. 6 позволяют выдвинуть ряд предположений по динамике всхожести и изреживания растений чечевицы. Облучение семян чечевицы в дозе 70 Гр действует как некоторый фактор отбора. При этой дозе появляются наиболее жизнеспособные ростки, которые доживают до репродуктивного периода с меньшей изреживаемостью, чем в st и при дозе 30 Гр. В вариантах st и 30 Гр

на 12-й день появлялись наиболее жизнеспособные ростки, а к 20-му дню наблюдались всходы и наиболее слабых семян, при этом выявлялось существенное разли-

чие с вариантом 70 Гр. Но к 44-му дню эти ростки выпадали и варианты st, 30 и 70 Гр снова образовывали одну статистическую группу.

Таблица 6

Всхожесть и изреживаемость растений чечевицы в зависимости от дозы гамма-облучения

Показатель	st	Доза					
		30	70	100	130	160	190
<i>20-й день от посева</i>							
Число всходов, % к высаженным семенам	96	96	84	60	32	32	24
<i>44-й день от посева (цветение)</i>							
Число растений, % к высаженным семенам	80	76	72	32	24	20	16
Изреживание, % к всходам	17	21	14	47	25	37	33

Дозы 130, 160 и 190 Гр вызывали столь сильные нарушения генотипа, что развитие подавляющего большинства растений блокировалось на ранних стадиях. Доза 100 Гр показала более широкий спектр действия: одни нарушения затрагивали ранние стадии роста, поэтому к моменту полных всходов (20-й день после посева) проросло всего 60% семян от высеванных, другие нарушения — более поздние, поэтому 47% появившихся всходов к цветению выпадало. Появление всходов растянуто, поэтому сначала (на 12-й день после посева) по действию на семена доза 100 Гр примыкает к группе 130, 160 и 190 Гр. К 15—20-му дню по мере появления всходов возникает существенная разница в действии дозы 100 Гр и группы доз 130, 160, 190 Гр. А к цветению по мере вы-

падения всходов с большими генетическими повреждениями различия снова сглаживаются, так как изреживаемость в вариантах 130, 160 и 190 Гр меньше, чем в варианте 100 Гр.

На накопление сухой надземной массы существенное влияние оказывали доза 100 Гр и более высокие (табл. 7). При этой дозе сухая надземная масса была в 2,5 раза ниже, чем в st. По воздействию на данный показатель выделяются 2 статистические группы вариантов: 1) st, 30 и 70 Гр; 2) 100, 130, 160 и 190 Гр. На накопление сухой массы корней существенное влияние оказывала уже доза 70 Гр, которая образовала отдельную группу: 1) st, 30 Гр; 2) 70 Гр; 3) 100, 130, 160, 190 Гр. Вероятно, корневая система чечевицы более радиочувствительна, чем надземная часть.

Таблица 7

**Абсолютно сухая масса растений чечевичцы в зависимости от дозы
гамма-облучения**

Показатель	st	Доза, Гр						НСР ₀₅
		30	70	100	130	160	190	
Надземная масса:								
г/сосуд	3,31	3,47	3,10	1,36	1,61	1,24	1,44	1,20
% к st	100	105	94	41	49	37	43	
Корневая масса:								
г/сосуд	0,92	0,92	0,62	0,29	0,34	0,29	0,32	0,24
% к st	100	100	67	31	37	31	35	

Воздействие гамма-облучения на сроки наступления фенологических фаз развития чечевичцы также зависело от дозы облучения. Доза 30 Гр не влияла на сроки наступления фенофаз и длину межфазных периодов (табл. 8 и 9). Доза 70 Гр вызывала запаздывание цветения на 2 дня. Поэтому период полные всходы — полное цветение в этом варианте был длиннее, чем в вариантах st и 30 Гр, и равен периоду при дозе

100 Гр. Однако цветение растений при дозе 70 Гр протекало так же дружно, как в st и варианте 30 Гр, в то время как при 100 Гр период начало — конец цветения был более растянутым. Продолжительность периода полные всходы — конец цветения в варианте 100 Гр на 5 дней больше, чем в варианте 70 Гр. Доза 100 Гр вызывала опоздание наступления всех фаз и удлинение всех рассмотренных периодов.

Таблица 8

**Наступление фенологических фаз у чечевичцы в зависимости от дозы
гамма-облучения**

Фенофаза	st	Доза, Гр		
		30	70	100
Начало всходов (май)	21	21	21	24
Полные всходы (май)	24	24	24	26
Начало цветения (июнь)	19	19	21	25
Полное цветение (июнь)	25	25	27	30
Конец цветения (июль)	10	10	13	20

Таблица 9

**Продолжительность межфазных периодов (дней) у чечевичцы в зависимости
от дозы гамма-облучения**

Период	st	Доза, Гр		
		30	70	100
Полные всходы — конец цветения	47	47	50	55
Полные всходы — полное цветение	32	32	34	34
Начало цветения — конец цветения	21	21	21	25

Выводы

1. Гамма-облучение сухих семян чечевицы в дозе 30 Гр не оказывает влияния на энергию прорастания, всхожесть и силу роста семян.

2. Доза 70 Гр при мощности 1,9 сГр/с снижает энергию прорастания и всхожесть семян, а при мощности 4,0 сГр/с — по эффективности примыкает к статистической группе st и 30 Гр.

3. Доза ЛД-50 для сухих семян чечевицы находится между дозами 70—100 Гр при мощности облучения 1,9—4 сГр/с.

4. Дозы гамма-облучения семян свыше 100 Гр являются для этой культуры критическими.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барулина Е.И. Чечевица СССР и других стран. ВАСХ-НИЛ: Изд-во Ин-та Приклад. ботаники и новых культур, 1930. — 2. Бидзиля Н.И., Зезина Н.В. Гибель гамма-индуцированных свободных радикалов в семенах при их прорастании. — Радиобиология, 1970, т. 10, вып. 5, с. 732—735. — 3. Горланова Т.М. Биохимические основы влияния ионизирующей радиации на прорастание семян. — В сб. науч. тр. Курск, 1983, с. 113—117. — 4. Дербенский В.И., Дебелый Г.А., Цакашвили Б.К. Детерминантные мутанты узколистного люпина как исходный материал для селекции более технологичных сортов. — В сб. науч. тр. М., 1987, с. 192—198. — 5. Дубцов Г.Г., Петрыкин А.Д., Хлебный В.С., Савосина Т.Н. Влияние гамма-облучения и последующего хранения на образование гиббереллинопод-

обных веществ при прорастании семян яровой пшеницы. — Радиобиология, 1976, т. 16, вып. 6, с. 914—917. — 6. Казанжи В.Г., Литовченко Б.К., Ткачук М.Н. Использование ионизирующих излучений в растениеводстве. — В сб.: Селекция и сем-во полев. культур в Молдавской ССР. Кишинев: Шттинца, 1987, с. 92—107. — 7. Кобозева Т.П. Использование радиационного мутагенеза в создании исходных форм для селекции сои. — Автореф. канд. дис., М., ТСХА. 1990. — 8. Крюкова М.Н., Маевская З.В. Влияние различных доз ионизирующей радиации на уровень эндогенных регуляторов роста и активность полифенолоксидазы в растениях при предпосевном облучении семян бобов. — Радиобиология, 1976, т. 16, вып. 6. — 9. Кузин А.М., Сейсбаев А.Т., Бабаева М.К. Изменение активности некоторых окислительно-восстановительных ферментов в проростках кормовых бобов и клевера после гамма-облучения семян. — Изв. АН Каз. ССР, 1968, вып. 4, с. 69—74. — 10. Кишикаткина А.Н. Селекционная работа с тарелочной чечевицей и озимой пшеницей. — Науч. тр. НИИСХ Юго-Востока, 1978, вып. 37, с. 145—146. — 11. Майорова М.М. Основные направления и результаты селекции тарелочной чечевицы. — Биологический азот. Ежегодник СОИСАФ, 1992, вып. 1, ч. 2, с. 32—48. — 12. Помогаева А.И., Горельникова М.М. Спонтанные гибриды чечевицы и их использование в селекции. — В кн.: Генетика, селекция и семеноводство. Саратов, 1980, с. 81—89. — 13. Посьтанов Г.С., Майоро-

ва М.М. Модель сорта небуряющей чечевицы. — Изв. ТСХА, 1987, вып. 4, с. 9—19. — 14. Пылов А.П., Шевцова Л.П. Чечевица. Саратов: Приволжское книжн. изд-во, 1981. — 15. Салтас М.М., Максудходжаев Д.С., Бурьгина О.В. Использование ионизирующих излучений в селекции зернобобовых культур. — Селек. и

техн. возделывание риса в Узбекистане. Ташкент, 1977, с. 68—71. — 16. Шевченко А.М., Денисенко Е.Г., Бляндур О.В. Использование гамма-лучей при создании исходного материала в селекции детерминантных сортов гороха. — С.-х. радиобиология. Межвуз. сб. науч. трудов. Кишинев, 1990, с. 4—11.

Статья поступила 29 декабря
1997 г.

SUMMARY

Effect of different doses (30, 70, 100, 130, 160 and 190 Gr) of radiation for dry seed of lentil (*Lens esculenta makrosperma*) on laboratory germination, energy of sprouting, growing energy, accumulation of dry matter by plants, dynamics of appearing shoots and their thinning was studied. The results have shown that dose of 30 Gr does not produce essential effect on the investigated indices, lethal dose-50 is between 70 and 100 Gr, and doses of 130, 160 and 190 Gr cause such strong depression that the extent of their effect often cannot be differentiated.