

УДК 633.11:581.48:537.531

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЖИМА ОБЛУЧЕНИЯ ВЕГЕТИРУЮЩЕЙ СОИ С ЦЕЛЬЮ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ

Г. С. ПОСЫПАНОВ, В. П. МУХИН, Е. И. КОШКИН, Т. П. КОБОЗЕВА

(Кафедра растениеводства и кафедра прикладной атомной физики и радиохимии)

Эффективность применения методов радиационного мутагенеза прежде всего зависит от того, насколько точно установлены условия оптимального проявления действия радиации на изучаемый объект в соответствии с поставленными целями [5, 15]. Следовательно, любое исследование такого рода, в частности работы по радиационной селекции сельскохозяйственных растений, должны начинаться с определения этих условий.

Объектом нашего изучения была соя, сортовые посевы которой планируется значительно расширить уже в ближайшие годы, в связи с чем повышается интерес селекционеров к данной культуре.

подавляющее число работ по радиационному мутагенезу сельскохозяйственных культур, в частности сои, выполнялось на семенах [8, 14], хотя облучение вегетирующих растений с точки зрения получения мутаций является более перспективным приемом [1, 5, 7, 11]. Однако исследований радиочувствительности семян сои также еще очень мало. Например, в монографии Е. И. Преображенской [13], где приведена наиболее обстоятельная сводка материалов по радиочувствительности семян практически всех важнейших сельскохозяйственных культур, по сое даны ссылки всего на 5 работ. Еще меньше сведений об облучении вегетирующей сои [16, 17]. Вероятно, облучение семян легче осуществить в любых условиях, чем вегетирующих растений, так как в последнем случае, особенно при пролонгированном или хроническом режимах, необходимо использовать гамма-поля, являющиеся довольно сложными сооружениями, что доступно сравнительно малому кругу исследователей [4, 5, 15].

Как известно, радиационный эффект определяется рядом факторов, в частности условиями облучения и выращивания растений, фазой их развития и др. [1, 2, 5, 15].

Мы поставили перед собой задачу изучить зависимость эффекта облучения как от суммарной дозы, так и от ее мощности. Знание этой зависимости необходимо именно при облучении вегетирующих растений, когда изменение дозы в пределах, намного меньших порядка, может существенно изменить радиационный эффект [2, 4, 11, 15]. Нами определялась также радиочувствительность сои в различные фазы развития.

### Материал и методика

Опыт был проведен в 1979 г. на гамма-поле Московского отделения Всесоюзного института растениеводства. Объект исследования — вегетирующие растения сои сорта Мутант. Замоченные семена, обработанные

нитрагином, 13 мая высевали в вегетационные сосуды (по 9 шт.), вмещающие 6 кг дерново-подзолистой почвы средней степени окультуренности, смешанной с песком в соотношении 2:1. После полного появления всходов в каждом сосуде оставляли по

4 растения<sup>1</sup>. Полностью созревшие растения были убраны в последних числах сентября. Сосуды с соей находились под сеткой вегетационного домика и лишь за 15 дней до уборки их поместили под стекло в связи с ухудшением погоды. За период вегетации растения 2 раза подкармливали минеральными удобрениями из расчета по 10 мг N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> и K<sub>2</sub>O на 100 г почвы. Соли применяли в виде растворов в период появления 2-го тройчатого листа и перед началом фазы бутонизации.

Исследования проводились в рамках полного трехфакторного эксперимента по схеме 2×3×4—две фазы развития, три мощности и четыре дозы.

Варианты сроков облучения: 1—без облучения (контроль), 2—облучение в фазу появления 5-го тройчатого листа (закладка цветочных почек), 3—в фазу появления 10-го тройчатого листа (начало цветения), т. е. на V, VII и в самом начале VIII этапов органогенеза по морфобиологической классификации [6, 7], когда начинается закладка генеративных органов и осуществляется формирование мужского и женского гаметофита, происходят процессы гаметогенеза. Выбор V и VII этапов органогенеза не явился случайным. По ряду других культур известно, что наибольший выход мутаций наблюдается при облучении растений в период закладки репродуктивных органов и прохождения ими гаметогенеза [1, 5, 7, 12]. Следовательно, эти фазы должны быть изучены в первую очередь при работе с любой культурой.

Расчеты доз производились на позицию, которую занимала апикальная меристема центрального стебля по отношению к источнику излучения. Дозы облучения 10, 20, 30 и 40 Гр, продолжительность (мощность) облучения—16, 48 и 96 ч. Дозы

облучения и мощности подбирали исходя из практики работы с другими культурами на гамма-поле, а также основываясь на общем положении, что чувствительность вегетирующих растений можно в первом приближении оценить по чувствительности семян, уменьшив ее значение на порядок [1, 5, 13, 16].

В качестве тест-критериев, по которым оценивалось действие радиации, использовались такие показатели, как урожай зерна и вегетативная масса надземной части в расчете на обсуд. В конечном счете нас интересовал выход семян при разной радиации факторов, чтобы выбрать тот уровень воздействия, который является оптимальным для данной цели. Наиболее эффективными для получения мутаций считаются дозы, вызывающие 70 % гибель организмов или снижающие общую семенную продуктивность в приблизительно таких же размерах [1, 13, 15]. В первом случае говорят о летальной дозе (ЛД<sub>70</sub>), во втором—об эффективной (ЕД<sub>70</sub>).

В качестве источника излучения был использован изотоп <sup>60</sup>Со. Дозиметрия на гамма-поле осуществлялась с точностью в пределах 10—20 %. После облучения сосуды увозили с гамма-поля в зону произрастания контрольных растений.

Повторность в опыте 4-кратная. Обработка данных проводилась методом дисперсионного анализа [3]. Прежде чем проводить статистическую обработку данных об урожайности зерна, осуществляли преобразование дат<sup>2</sup> вследствие наличия малых и нулевых значений некоторых показателей. Существенность различий между вариантами оценивалась на 5 % уровне значимости.

<sup>2</sup> Преобразование проводили по формуле  $x_1 = \sqrt{1 + \bar{x}}$ . После оценки существенности частных различий по вариантам делали обратный переход от преобразованных дат к исходным по соотношению  $\bar{x} = \bar{x}_1^2 - 1$ , где  $x$ —исходные даты по отдельным повторностям,  $x_1$ —преобразованные даты,  $\bar{x}$  и  $\bar{x}_1$ —соответственно средние значения дат по повторностям [3].

## Результаты

Суммарная оценка урожаев зерна при дозах 10 и 20 Гр показала (таблица), что радиочувствительность растений на V этапе органогенеза в 3,8 раза больше, чем на VII этапе (мы не учитывали урожай зерна при дозах 30 и 40 Гр, вызывающих полную стерильность).

Следует предположить, что радиочувствительность сои может меняться даже в пределах одного этапа. У сои V и VII этапы достаточно продолжительны, например у скороспелых сортов V этап длится 5—9 дней, у очень позднеспелых—10—20 дней; VII—соответственно 4—8 и 11—16 дней. Поэтому с большой степенью вероятности можно ожидать, что у сои, как и у пшеницы, каждый этап будет также гетерогенным по радиочувствительности. Детальные исследования радиочувствительности по каждому этапу наряду с анализом полученных радиомутантов в поколениях M<sub>2</sub> и M<sub>3</sub> были бы крайне интересны, так как увеличили бы возможности управления мутационным процессом.

Воздушно-сухая масса зерна и вегетативных органов сои

Дозы, Гр	Зерно			Вегетативные органы	
	исходные даты		преобразованные даты, г	г	% к контролю
	г	% к контролю			
	Контроль				
	17,1	100	4,24	14,3	100
	Облучение на V этапе органогенеза в течение 16 ч				
10	6,7	39,2	2,73	22,5	157,3
20	0,42	2,4	1,18	22,9	160,1
30	1,8	10,5	1,53	23,1	161,5
40	0	0	1,00	24,3	169,9
	в течение 48 ч				
10	2,3	13,4	1,77	22,7	158,7
20	1,3	7,6	1,52	24,7	172,7
30	0	0	1,00	24,4	170,6
40	0	0	1,00	26,9	188,1
	в течение 96 ч				
10	4,2	24,5	2,24	22,5	157,3
20	0	0	1,00	23,1	161,5
30	0	0	1,00	23,5	164,3
40	0	0	1,00	23,6	165,0
	Облучение на VII, в начале VIII этапа органогенеза в течение 16 ч				
10	14,2	83,0	3,89	18,9	132,1
20	2,0	11,7	1,73	20,6	144,0
30	2,4	14,0	1,82	20,2	141,2
40	0	0	1,00	18,5	129,3
	в течение 48 ч				
10	12,9	75,4	3,70	22,1	154,5
20	5,2	30,4	2,46	22,1	154,5
30	0	0	1,00	20,7	144,7
40	0	0	1,00	21,0	146,8
	в течение 96 ч				
10	15,7	91,8	3,95	18,6	130,0
20	7,7	45,0	2,93	20,5	143,0
30	1,0	5,8	1,40	22,2	155,2
40	0	0	1,00	21,1	147,5
НСР <sub>05</sub>			0,38	2,66	
Точность опыта, %		10,8			6,0

Насколько нам известно, детализированно подобная работа не проводилась еще ни на одной культуре.

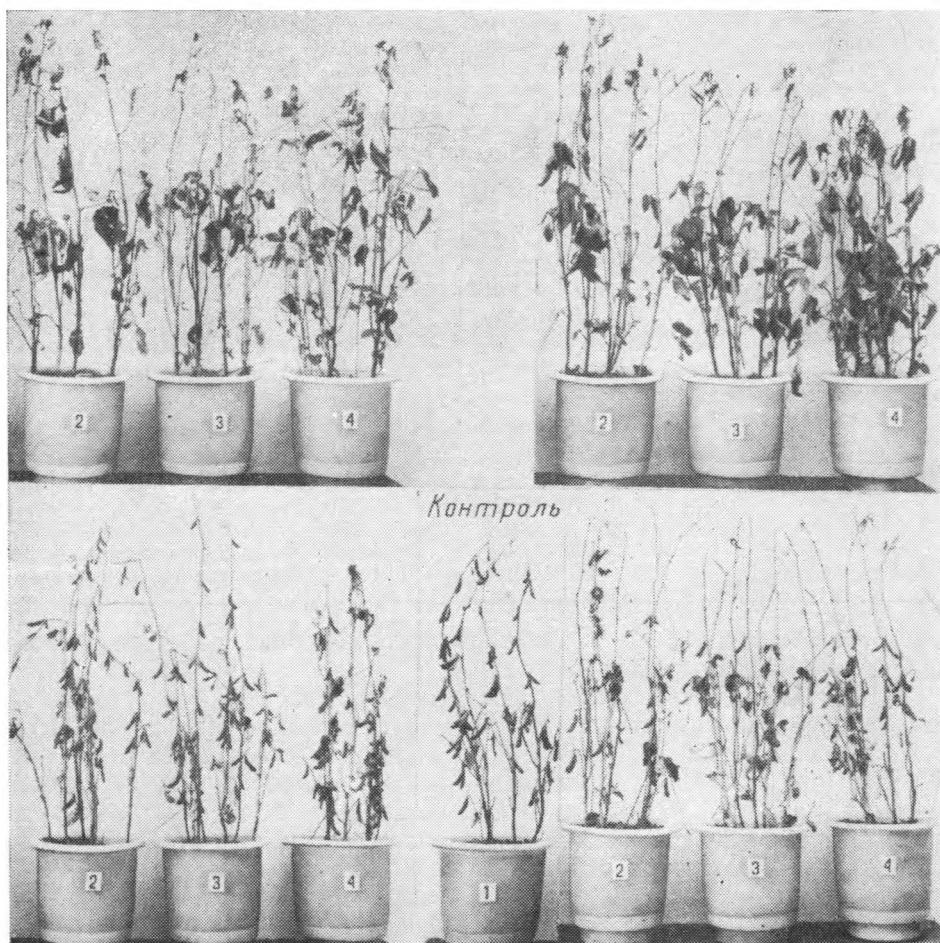
Между мощностью дозы и фазой развития растений не установлено однозначной зависимости. На V этапе органогенеза радиационный эффект в значительной степени зависел от продолжительности облучения. Причем при снижении мощности дозы усиливалось ингибирующее действие радиации. При облучении растений на более поздней фазе развития такой зависимости не отмечалось, а при дозе 20 Гр наблюдалась даже обратная картина. Данный факт лишний раз подчеркивает, что когда мы говорим о влиянии мощности дозы на радиационный эффект, то должны это связывать с конкретными условиями проведения опыта и конкретной культурой [2, 11]. Следовательно, подбирать режимы обработки исходя только из общих представлений о существующих закономерностях нельзя; ими можно пользоваться лишь как рекогносцировочными сведениями.

По другому изучаемому фактору — дозе облучения — картина получилась совершенно отчетливой: доза 40 Гр вызвала полную стерильность во всех вариантах, 30 Гр — полную стерильность или резкое угнетение продуктивности растений, что также не позволяет применять ее на сое.

Учитывая сказанное выше, можно утверждать, что на V этапе целесообразно применять дозы в пределах 10 Гр и то не при всех мощностях. Наиболее подходящие мощности — 0,62 и 1,04 Гр/ч. При облучении растений на VII — в начале VIII этапа оптимальная доза — 20 Гр при мощности 0,41 и 0,20 Гр/ч.

Как известно, оценку действия радиации нужно вести по конкретному критерию. Делать это безотносительно к тесту бессмысленно, так как можно прийти к неоднозначным выводам [10]. В нашем эксперименте, помимо семенной продуктивности растений, определялась и надземная вегетативная масса, которая слагалась главным образом из массы стеблей, поскольку к моменту уборки листья в основном опали.

На рисунке изображены контрольные и облученные растения перед уборкой. Соя, облученная на V этапе органогенеза дозами 10 и 20 Гр, по вегетативной массе превосходила контроль, однако количест-



Вегетирующие растения сои перед уборкой.

Вверху — облученные на V этапе органогенеза; внизу — на VII — в начале VIII этапа; слева — доза облучения 10 Гр (1 крад); справа — 20 Гр (2 крада); в центре — контроль (без облучения); 2 — облучение в течение 16 ч; 3 — 48; 4 — 96 ч.

во бобов у нее было значительно меньше. Если в контроле практически все листья уже опали, то в вариантах с облучением облиственность растений еще довольно высокая (развитие сои задержалось на 10—15 дней). В среднем по опыту вегетативная масса облученных растений была на 54,5 % выше, чем в контроле. При облучении на V этапе среднее значение этого показателя было равно 23,58 г, на VII — в начале VIII — 20,54 г и превышало контроль соответственно на 64,8 и 43,6 %. Разница между вариантами разных сроков облучения составила 21,2 % и, следовательно, оказалась статистически достоверной.

При облучении сои на VII — в начале VIII этапа органогенеза доза 10 Гр незначительно угнетала образование бобов. При 20 Гр ингибирующее действие радиации проявилось отчетливее. Однако по высоте и общему габитусу растений подавления не наблюдалось, а надземная вегетативная масса, как следует из данных, приведенных в таблице, во всех вариантах превышала контроль. К моменту начала облучения растения уже прошли вегетативную стадию развития, поэтому, естественно, влияния на их общий габитус радиация оказать уже не могла [1, 7, 9]. Дозы и мощности облучения практически не влияли на этот показатель. Увеличение выхода вегетативной массы у облученных растений объясняется тем, что пластические вещества из-за ингибирования развития генеративных органов направлялись в основном в листья и стебли. Подобное явление наблюдалось и при облучении вегетирующей пшеницы на некоторых этапах органогенеза, там, где снижалась урожайность зерна [9]. Однако во многих вариантах у пшеницы наряду с уменьшением урожайности зерна уменьшалась и вегетативная масса. Видимо, у разных видов растений существует своя особая ответная реакция на облучение, которая зависит от их биологических свойств и типа обмена веществ.

В одном из наших опытов использование ионизирующей радиации для облучения вегетирующих растений и семян сои трех сортов: Северная, Мутант и Шведская — позволило в 1981 г. в поколении  $M_2$  выделить ряд перспективных радиомутантов, характеризующихся более коротким периодом вегетации, детерминантным типом роста, слабым ветвлением, удобной для механизированной уборки высотой прикрепления нижнего боба, повышенным количеством бобов в узле и семян в бобе, оптимальной облиственностью растений. Эти радиомутанты будут в дальнейшем использованы в селекционном процессе. В 1980 г. на гамма-поле было облучено большое количество растений сои названных сортов. Облучение проводили на VII этапе органогенеза дозой 20 Гр при мощности 0,2 Гр/ч. При таком режиме облучения продуктивность растений снизилась в среднем по сортам на 55—70 %, что близко к оптимальному уровню снижения, принятому в радиационной селекции. В последующих работах эти результаты будут изложены более подробно.

### Выводы

1. Радиочувствительность вегетирующей сои, определенная по критерию семенной продуктивности, оказалась намного выше на V этапе органогенеза, чем на VII — в начале VIII этапа.
2. Влияние гамма-облучения на фертильность растений четко проявилось при дозе 10 Гр. При увеличении дозы продуктивность резко снижалась, а при 40 Гр растения оказались полностью стерильными во всех вариантах.
3. Зависимость радиационного эффекта от мощности дозы носит неоднозначный характер и определяется как фазой развития, так и самой дозой.
4. Для получения радиомутаций наиболее целесообразно облучать на гамма-поле вегетирующую сою на V этапе органогенеза дозой, не

превышающей 10 Гр, при мощности 0,6 Гр/ч, а на VII — в начале VIII этапа — соответственно 20 Гр и 0,2—0,4 Гр/ч.

5. Дозы, при которых фертильность растений снижалась до нуля, не оказывали ингибирующего влияния на надземную вегетативную массу. В среднем у облученных растений значение последнего показателя превышало контроль на 50, а по отдельным вариантам — на 88 %.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Батыгин Н. Ф., Куперман Ф. М., Питиримова М. А. Острое облучение вегетирующих растений и перспективы использования его в растениеводстве и селекции. — Тр. ВНИИТЭИСХ, 1975. — 2. Герцуский Д. Ф., Мухин В. П. Роль мощности дозы при гамма-облучении растений салата. — Изв. ТСХА, 1977, вып. 3, с. 75—83. — 3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1973. — 4. Каушанский Д. А. Энергия атома — сельскому хозяйству. М.: Атомиздат, 1978. — 5. Кузин А. М., Каушанский Д. А. Прикладная радиобиология. М.: Энергоиздат, 1981. — 6. Куперман Ф. М., Ржанова Е. И. Биология развития растений. М.: Высшая школа, 1963. — 7. Куперман Ф. М. Морфофизиология растений. М.: Высшая школа, 1977. — 8. Машкин С. И., Прокудина О. Н. Закономерности радиационного мутагенеза у сои и его эффективность. — Тез. I Всес. конф. по прикл. радиобиол. Кишинев: Штинница, 1981, с. 53. — 9. Мухин В. П., Рудник В. Е. Действие гамма-лучей  $^{60}\text{Co}$  на пшеницу в зависимости от этапа онтогенетического развития растений. — Изв. ТСХА, 1974, вып. 2, с. 11—17. — 10. Мухин В. П. Внутрисортные различия в реакции семян пшеницы на гамма-облучение в связи с их разнокачественностью. — Радиобиология, 1978, т. 18, вып. 3, с. 390—394. — 11. Мухин В. П., Мошаров В. Н., Пак Н. В. Влияние различных мощностей доз гамма-облучения на семена пшеницы. — Докл. ТСХА, 1980, вып. 263, с. 56—61. — 12. Назиров Н. Н. Радиочувствительность хлопчатника и генетический эффект ионизирующей радиации. Ташкент: ФАН, 1970. — 13. Преображенская Е. И. Радиоустойчивость семян растений. М.: Атомиздат, 1971. — 14. Прокудина О. Н., Машкин С. И. Характеристика радиомутантов сои по хозяйственно важным признакам. — Тез. I Всес. конф. по прикл. радиобиол. Кишинев: Штинница, 1981, с. 84. — 15. Рачинский В. В. Курс основ атомной техники в сельск. хоз-ве. М.: Атомиздат, 1978. — 16. Killon D. D., Constantin M. I. — Rad Bot., 1971, vol. VII, N 3, p. 225—232. — 17. Porszar B. I. — Bot. Közl., 1972, Bd 59, N 2, S. 97—99.

*Статья поступила 29 декабря 1981 г.*

#### SUMMARY

The programme of whole three factor experiment was carried out. 2 phases of development, 3 and 4 doses of ionic radiation were studied. It was established that soya is 3.8 times more sensitive to radiation at the V stage of organogenesis, than at the VII and VIII stages. Doses of 3 and 4 krad caused complete sterility and strong inhibitor of reproductive ability of plants.

For receiving radiomutations it is necessary to perform radiation of vegetating plants at the V stage of organogenesis with the dose not more than 1 krad and capacity of 60 rad/hour, at the stage of VII and at the beginning of VIII stage with the dose 2 and capacity of 20—40 rad/h. Vegetative mass of irradiated plants was 50 % higher than at the controlled plants even with complete sterility of plants.