

WOJCIECH RYBIŃSKI**JAN BOCIANOWSKI**¹

Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu

¹ Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych, Akademia Rolnicza w Poznaniu

Zmienność cech morfologicznych i struktury plonu nasion mutantów lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.)

Variability of morphological traits and yield structure in grasspea mutants (*Lathyrus sativus* L.)

W latach 2002 i 2003 w doświadczeniu polowym analizowano zmienność siedmiu cech ilościowych u dwóch odmian wyjściowych i 20 mutantów lędźwianu siewnego uzyskanych drogą mutagenезy z krajowych odmian — Derek i Krab. Dla uzyskanych wyników przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji (obiekty i lata) pod względem wszystkich cech. Oba czynniki istotnie różnicowały wszystkie cechy a interakcje obiekt $\times$ lata były istotne dla wszystkich cech na poziomie $\alpha = 0,001$. Pod względem większości analizowanych cech mutanty ustępowały ich odmianom wyjściowym. Efekt ten był widoczny w pierwszym roku badań (2002). W drugim roku badań (2003), z uwagi na wystąpienie silnego czynnika stresowego, jakim była długotrwała susza, obserwowano obniżenie wartości większości badanych cech obiektów w porównaniu z rokiem 2002. Wystąpienie skrajnie odmiennych warunków środowiskowych umożliwiło ocenę reakcji mutantów na stres wodny i wybrać najbardziej tolerancyjne genotypy.

Słowa kluczowe: cechy morfologiczne, lędźwian siewny, mutanty, struktura plonu

Twenty grasspea forms obtained by mutagenesis from Polish cultivars Derek and Krab were evaluated for seven qualitative traits in field trials performed in the years 2002 and 2003. Two-factorial analysis of variance including objects and years was done. The interactions between these factors were significant for all the traits at the level $\alpha = 0.001$. In most cases the values characterizing the traits in mutants were lower than those in the initial cultivars. The differences were marked in both years of the study, but they were largely pronounced in 2003, presumably because of the additional stress caused by the long-lasting drought. The environmental conditions of the year 2003 made possible to assess a reaction of mutants to the drought stress, and to select the most tolerant genotypes.

Key words: grasspea, morphological traits, mutants, yield structure

WSTĘP

Stabilność form roślin i zwierząt związana jest z replikacją DNA, a właśnie struktura DNA i replikacja nici DNA warunkuje niezmiennosc organizmów utrzymujących się z pokolenia na pokolenie. W wielu wypadkach stabilność ta może być zadziwiająco trwała. Pomimo istnienia mechanizmów warunkujących stabilność organizmów, istnieje jednak w tej dziedzinie duży margines, który daje możliwość zmian w organizacji informacji genetycznej i pojawienia się licznych perturbacji a więc różnych typów mutacji (Malinowski, 1974). Stwierdzenie mutagenicznych właściwości licznych fizycznych i chemicznych czynników spowodowało wyodrębnienie się badań nad mutacjami jako samodzielnej dziedziny genetyki ogólnej, co w aspekcie użytkowym zaowocowało uzyskaniem licznych mutantów roślin uprawnych wykorzystywanych do tworzenia nowych, ulepszonych odmian mutacyjnych (Ahlowalia i Małuszyński, 2001; Ahlowalia i in., 2004). Zarejestrowane do czerwca 2000 roku 2250 odmian roślin ozdobnych i uprawnych zostały wykreowane z indukowanych mutantów (Małuszyński i in., 2000). W grupie odmian mutacyjnych roślin strączkowych (331 odmian) znajduje się tylko jedna odmiana lędzwanu siewnego charakteryzująca się wysoką tolerancją na suszę.

Lędzwan siewny w Polsce znany jest już od 200 lat, a w krajowym rolnictwie jego udział ma charakter marginalny. Mimo niewątpliwych zalet tego gatunku jak duża tolerancja na rodzaj gleb, unikalna odporność na suszę czy wysoka zawartość białka (do 30%), obecność szeregu niekorzystnych cech w decydującym stopniu limituje udział lędzwanu w strukturze zasiewów. Z uwagi na ograniczoną efektywność rekombinacji powodowaną niewielką zmiennością naturalną, nielicznych lokalnych populacji lędzwanu na Podlasiu, sięgnięcie po metodę indukowania mutacji daje możliwość poszerzenia istniejącej zmienności genetycznej cech użytkowych. Powinno to się przełożyć na wzrost skuteczności selekcji a w efekcie końcowym umożliwić uzyskanie ulepszonych odmian uprawnych. Stąd w Instytucie Genetyki Roślin PAN w Poznaniu zapoczątkowano prace nad indukowanymi mutacjami u lędzwanu siewnego. Prezentowana praca jest próbą oceny uzyskanej zmienności cech morfologicznych i struktury plonu u wybranych mutantów w porównaniu z ich odmianami wyjściowymi w dwóch kolejnych latach doświadczeń polowych.

MATERIAŁ I METODY

W wyniku traktowania nasion krajowych odmian lędzwanu siewnego Derek i Krab światłem lasera i chemomutagenami (MNU i azydek sodu) uzyskano liczne mutanty tego gatunku. W latach 2002 i 2003 w doświadczeniu polowym analizowano zmienność siedmiu cech ilościowych u dwóch wspomnianych odmian wyjściowych i 20 wybranych mutantów lędzwanu siewnego. Doświadczenie prowadzone na polu doświadczalnym IGR PAN w Cerekwicy założono metodą bloków losowanych w trzech powtórzeniach. Nasiona wysiewano na poletka w rozstawie 30 × 20 cm. W okresie wegetacji prowadzono obserwacje wzrostu i rozwoju roślin, a po zbiorze u odmian wyjściowych i mutantów oceniano wysokość roślin, wysokość osadzenia najniższego od ziemi strąka, liczbę

rozgałęzień i strąków z rośliny, długość strąka oraz liczbę i masę nasion z rośliny. Analizowano po 15 roślin z każdego powtórzenia. Dla uzyskanych wyników przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji (obiekty i lata) pod względem wszystkich cech. Ponadto dla wszystkich cech wyliczono wartości średnie dla wszystkich mutantów i ich form wyjściowych w obu analizowanych latach.

O ile rok 2002 charakteryzował się w miarę normalnym przebiegiem warunków pogodowych, to w roku 2003 wystąpił silny stres abiotyczny wywołany długotrwałą suszą w pierwszych miesiącach okresu wegetacji (tab. 1).

Tabela 1

Zestawienie sumy opadów (mm) w miesiącach oraz temperatur powietrza w okresie wegetacji w latach 2002–2003 dla regionu Wielkopolski (dane Szelejewo)
Rainfall (mm) in months and air temperatures during the vegetation periods in 2002 and 2003 for Great Poland region (data from Szelejewo)

Miesiąc Month	Opady (mm) Rainfall (mm)		Temperatura powietrza (°C) Air temperature (°C)	
	2002	2003	2002	2003
Marzec March	45,1	13,4	4,95	2,13
Kwiecień April	40,5	9,2	7,95	8,32
Maj May	73,5	34,6	16,61	8,32
Czerwiec June	28,8	7,1	17,63	19,32
Lipiec July	55,5	53,4	19,75	19,38
Sierpień August	66,4	3,6	19,29	20,50
Wrzesień September	51,8	27,6	12,99	14,95
Suma opadów i średnia temperatura Rainfall and average temperature	361,6	148,9	14,2	13,3

WYNIKI I DYSKUSJA

Na podstawie uzyskanych wyników przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji (obiekty i lata) pod względem wszystkich cech. Oba czynniki istotnie różnicowały wszystkie cechy a interakcje obiekt $\times$ lata były istotne dla wszystkich cech na poziomie $\alpha = 0,001$ (tab. 2). Wartości średnich dla badanych cech mutantów, w poszczególnych latach badań w porównaniu z ich odmianami wyjściowymi wskazują na znaczne zróżnicowanie cech (tab. 3). Szeroki zakres zmienności cech morfologicznych i struktury plonu lędźwianu siewnego po działaniu środków mutagenicznych uzyskali również inni autorzy (Nerkar, 1976; Singh i Chaturvedi, 1987; Kumar i Dubey, 1996; Das i Kundagrami, 2000; Waghmare i Mehra 2000a, 2000b; Waghmare, 2001; Talukda i Biswas 2002 i 2005). W badaniach Nerkar (1976), stosując również MNU, uzyskano mutanty lędźwianu siewnego charakteryzujące się zmianą pokroju roślin, terminu dojrzewania, zróżnicowaną

liczbą rozgałęzień, zmianą wielkości i kształtu liścia, barwy i budowy kwiatu oraz zmianą wielkości nasion i ich barwy. W przeprowadzonych badaniach dwa z mutantów (K 11 i K 37) w obydwu latach charakteryzowały się najniższą wysokością roślin w porównaniu z ich odmianą wyjściową Krab. Z uwagi na silną tendencję ledźwianu do wylegania i tworzenia zbyt bujnej biomasy (często kosztem redukcji plonowania roślin), wyżej wspomniane mutanty wydają się szczególnie interesujące z hodowlanego punktu widzenia. Stosując promieniowanie gamma (10 kr) Prasad i Das (1980) uzyskali mutanty o zredukowanej wysokości roślin, selekcjonując między innymi formy karłowe o wyprostowanym pokroju. Ponadto mutant K 11 charakteryzował się w obydwu latach najniższą liczbą rozgałęzień spośród mutantów odmiany Krab. Wskazuje to na możliwość uzyskania form o zredukowanej wysokości roślin a towarzysząca temu obniżona liczba rozgałęzień może mieć istotne znaczenie dla bardziej równomiernego dojrzewania ledźwianu w kontekście jego niezdeterminowanego charakteru wzrostu.

Tabela 2

Średnie kwadraty z analizy wariancji dla badanych cech
Mean squares from variance analysis for the investigated traits

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	Wysokość rośliny Plant height	Wysokość osadzenia najniższego strąka Height to the lowest pod	Liczba rozgałęzień z rośliny Number of branches per plant	Liczba strąków z rośliny Number of pods per plant	Długość strąka Pod length	Liczba nasion z rośliny Number of seeds per plant	Masa nasion z rośliny Weight of seeds per plant
Obiekty Objects (O)	21	106,2***	12,0***	10,6***	753,1***	0,2***	8031,2***	129,3***
2002 ¹	21	153,7***	17,9***	12,3***	782,1***	0,1***	7359,7***	166,3***
2003 ¹	21	39,2***	4,1***	4,8***	294,2***	0,1***	3410,0***	54,9***
Lata Years (Y)	1	83251,7***	1790,8***	640,2***	56345,6***	4,4***	413813,1***	6870,7***
O × Y	21	86,6***	10,1***	6,5***	323,2***	0,1***	2738,6***	92,0***
Błąd Error	88	5,7	0,8	1,6	42,1	0,01	472,3	12,6
2002	44	5,7	0,8	2,4	57,4	0,01	612,4	15,6
2003	44	5,8	0,7	0,8	26,8	0,01	332,2	9,5

*** Istotne na poziomie $\alpha = 0,001$; *** Significant at $\alpha = 0.001$

¹ Rok; Year

Szczególnie szeroki zakres zmienności obserwowano dla liczby i masy nasion z rośliny. Oprócz długości strąka, wartości średnich pozostałych cech badanych form w roku 2003 były wyraźnie niższe niż w roku 2002, a zakres wartości skrajnych był z reguły węższy. Z wyjątkiem długości strąka dla pozostałych cech uzyskano wysokie wartości współczynników zmienności dla obu badanych lat zarówno, dla mutantów otrzymanych z odmiany Derek, jak i Krab (tab. 3). Wartości współczynnika zmienności podlegały znacznemu zróżnicowaniu a dla niektórych cech były wyższe w roku 2002 a dla innych w roku 2003 (np. dla wysokości roślin oraz liczby strąków i nasion z rośliny).

Tabela 3

Średnie w latach dla cech lędźwianu siewnego u mutantów i ich form wyjściowych Krab i Derek
Means for the years for traits in grasspea of mutants and initial cultivars Krab and Derek

Obiekty Objects	Wysokość roślin (cm) Plant height		Wysokość osadzenia najniższego strąka (cm) Height to the lowest pod		Liczba rozgałęzień z rośliny Number of branches per plant		Liczba strąków z rośliny Number of pods per plant		Długość strąka (cm) Pod length		Liczba nasion z rośliny Number of seeds per plant		Masa nasion z rośliny (g) Weight of seeds per plant	
	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003
Krab	83,9	34,1	20,1	10,0	13,9	10,9	96,3	49,7	3,90	4,03	329,9	128,0	51,1	25,6
K3	85,5	34,7	16,0	11,5	15,2	12,0	145,6	61,9	3,60	3,80	306,5	165,0	51,3	22,2
K6	84,3	35,1	18,6	9,4	12,7	7,9	82,6	52,1	3,60	3,83	255,4	145,9	35,4	24,4
K7	83,6	32,6	21,4	12,4	13,2	9,0	74,1	37,2	3,60	3,93	208,6	102,3	36,0	19,4
K10	85,1	30,6	16,5	11,4	15,5	8,9	85,8	41,4	3,53	3,73	211,4	87,2	32,3	13,2
K11	70,9	27,5	16,9	9,9	9,7	6,9	66,8	30,6	3,70	4,13	195,6	82,9	36,6	15,6
K12	84,8	34,5	15,0	11,8	12,6	6,8	95,2	36,7	3,80	3,70	231,0	110,8	35,8	15,4
K13	84,6	25,6	21,4	9,6	13,4	10,7	82,6	44,0	3,60	3,80	180,8	100,5	33,8	19,1
K14	74,9	30,0	15,7	10,1	10,4	9,3	76,2	49,0	2,90	3,40	209,6	115,6	24,1	19,0
K25	88,5	32,3	21,7	12,5	16,3	8,6	105,4	41,7	3,40	3,80	233,7	97,8	39,3	16,7
K29	82,2	29,7	15,7	11,5	10,1	8,7	89,2	44,7	3,23	4,26	234,2	146,2	25,6	21,7
K37	72,0	28,4	14,8	12,8	10,5	7,5	93,1	38,2	3,56	4,03	344,3	126,0	37,4	17,8
K46	87,5	31,3	21,6	12,7	15,4	7,6	74,9	33,5	3,53	3,83	207,7	86,2	34,0	17,2
K50	91,9	29,7	21,2	10,8	15,5	7,5	87,4	35,1	3,50	3,96	190,7	96,0	31,6	20,1
K56	94,3	30,4	22,7	12,1	14,6	8,6	77,8	37,7	3,63	3,76	243,1	104,5	39,8	19,2
K59	85,0	42,7	19,7	12,9	12,9	8,3	84,7	64,4	3,70	3,56	205,4	136,0	38,6	23,5
K63	76,1	32,5	18,3	11,3	13,2	8,5	72,5	43,8	3,63	4,23	183,7	123,4	36,7	26,6
K64	83,8	35,7	20,1	13,6	15,2	8,9	79,7	49,0	3,76	4,30	247,1	138,2	47,0	29,6
V _K	7,7	12,3	14,7	10,8	16,0	15,0	20,6	21,5	6,0	6,3	18,8	21,0	18,1	21,2
Derek	92,5	33,3	20,6	11,1	12,7	7,8	99,7	59,9	3,33	3,83	342,4	200,9	34,5	24,9
D4	67,8	36,2	19,2	10,8	11,7	7,7	89,6	62,3	3,23	3,80	247,8	192,8	26,8	26,8
D11	73,2	30,3	18,8	11,1	11,3	8,3	77,3	53,1	3,30	3,83	209,2	171,9	24,6	22,5
D13	80,4	30,8	18,3	12,5	10,4	9,0	90,8	52,0	3,40	3,93	252,3	148,6	29,9	23,9
V _D	8,6	10,1	2,4	7,7	5,7	7,6	8,7	10,1	2,5	1,8	10,0	12,9	9,9	9,1
NIR; LSD $\alpha = 0,001$	3,92	3,96	1,43	1,43	2,57	1,49	12,47	8,52	0,17	0,17	40,72	30,00	6,50	5,06

V_D (V_K) — Współczynniki zmienności dla mutantów uzyskanych z odmiany Derek (Krab)

V_D (V_K) — Coefficients of variability for mutants derived from cv. Derek (Krab)

Głównym powodem obserwowanych różnic między latami było wystąpienie silnej suszy w roku 2003 (tab. 1) istotnie redukującej wartości badanych cech w porównaniu z rokiem 2002, mimo że według danych literaturowych lędźwian charakteryzuje się wysoką tolerancją na niedobór wody w glebie (Campbell i in., 1994; Przybylska, 1999; Ali M. Abd El-Moneim, 2000; Rybiński i Pokora, 2002). Dla obydwu lat i większości cech (zwłaszcza dla liczby i masy ziaren z rośliny) obserwowano mniejsze wartości cech u mutantów w porównaniu z ich formami wyjściowymi. Efekt ten był szczególnie widoczny w roku 2002, w którym wszystkie mutanty charakteryzowały się niższą masą ziaren z rośliny. Częściowo odmienną reakcję mutantów pod względem liczby i masy ziaren z rośliny obserwowano w roku 2003. W roku 2002 mutant K37 charakteryzował się mniejszymi wartościami wszystkich cech (poza liczbą nasion z rośliny) od odmiany Krab.

W roku 2003 różnice pomiędzy mutantami a odmianami wyjściowymi były nie tylko mniejsze, ale i dla większej liczby mutantów statystycznie nieistotne w porównaniu z rokiem 2002. Dla liczby i masy ziaren z rośliny liczba przypadków przewyższenia przez mutantą swojej formy wyjściowej w roku 2003 wynosiła kolejno 5 i 3. Wyniki te wskazują, że mimo generalnie niższych wartości cech mutantów w roku 2003 w warunkach suszy, obniżenie tych wartości w stosunku do odmian wyjściowych było mniejsze niż w roku 2002, a niektóre z mutantów plonowały powyżej swej odmiany wyjściowej. Efekt może być wynikiem większej tolerancji mutantów na warunki stresowe wywołane niedoborem wody, na co wskazują wyniki uzyskane dla mutantów K63, a zwłaszcza mutantów K64. Mutant ten w warunkach stresu wodnego w porównaniu ze swą odmianą wyjściową Krab charakteryzował się zarówno wyższą liczbą, jak i masą nasion z rośliny.

WNIOSKI

1. Czynniki — obiekty i lata istotnie różnicowały wszystkie cechy a interakcje między nimi były istotne dla wszystkich cech na poziomie $\alpha = 0,001$.
2. Pod względem cech struktury plonu w obu latach mutanty ustępowały swym formom wyjściowym Krab i Derek lub plonowały na ich poziomie.
3. W warunkach suszy mutanty reagowały mniej widocznym obniżeniem parametrów plonowania w porównaniu do ich odmian wyjściowych.
4. Wystąpienie skrajnie odmiennych warunków środowiskowych w obu latach umożliwiło ocenę reakcji mutantów na stres wodny i wybór najbardziej tolerancyjnych genotypów, do których zaliczyć można mutantów K63, a zwłaszcza K64.

LITERATURA

- Ahloowalia B. S., Małuszyński M. 2001. Induced mutations — a new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118: 167 — 173.
- Ahloowalia B. S., Małuszyński M., Nichterlein K. 2004. Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica* 135: 187 — 204.
- Ali M. Abd El-Moneim B., Dorrestein M., Mulugeta W. 2000. Improving the nutritional quality and yield potential of grasspea (*Lathyrus sativus* L.). *Food. Nutri. Bull.* 21 (4): 493 — 496.
- Campbell C. G., Mehra R. J., Agrawal S. K., Chen Y. Z., El Moneim B., Khawaja H. I. T., Yadov C. R., Tay J. U., Araya W. A. 1994. Current status and future strategy in breeding grasspea (*Lathyrus sativus* L.). *Euphytica* 37: 167 — 175.
- Das P. K., Kundagrami S. W. 2000. Frequency and spectrum of chlorophyll mutations in grasspea induced by gamma rays. *J. of Genetics and Plant Breeding* 60 (2): 239 — 241.
- Kumar S., Dubey D.K. 1996. Divergence among induced mutants of grasspea (*Lathyrus sativus* L.). *FABIAS Newsletter* 38/39: 33 — 36.
- Malinowski E. 1974. Problemy mutagenyzy na tle zadań genetyki i hodowli roślin. W: *Metodyka indukowania mutacji środkami chemicznymi u roślin uprawnych*. Red.: Ignacy Wiatroszak. Polska Akademia Nauk, Zakład Genetyki Roślin, Poznań 1974: 2 — 11.
- Małuszyński M., Nichterlein K., Van Zanten L., Ahloowalia S. 2000. Officially released mutant varieties — the FAO/IAEA database. *Mutation Breeding* 12: 1 — 84.
- Nerkar Y. S. 1976. Mutation studies in *Lathyrus sativus*. *Indian J. Genetics and Plant Breeding* 36 (2): 223 — 229.

- Prasad A. B., Das A. K. 1980. Induced variants in *Khesari*. Indian J. Genetics and Plant Breeding 172: 172 — 175.
- Przybylska J. 1999. Lędźwian siewny (*Lathyrus sativus* L.) jako potencjalna wartościowa roślina strączkowa. Post. Nauk. Roln., 1/99: 33 — 43.
- Rybiński W., Pokora L. 2002. Wpływ światła lasera helowo-neonowego i chemomutagenu (MNU) na zmienność cech lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.) w pokoleniu M₁. Acta Agrophysica 62: 127 — 134.
- Singh M., Chaturvedi S. N. 1987. Effectiveness and efficiency of mutagen alone or in combination with dimethyl sulphoxide in *Lathyrus sativus*. J. Agric. Sci. 57: 503 — 507.
- Talukda D., Biswas A. K. 2002. Characterisation of an induced mutants and its inheritance in grasspea (*Lathyrus sativus* L.). Indian J. Genet. Plant Breed. 62 (4): 355 — 356.
- Talukda D., Biswas A. K. 2005. Induced seed colours and their inheritance in grasspea (*Lathyrus sativus* L.). Indian J. Genetics and Plant Breeding 65 (2): 135 — 136.
- Waghmare V. N. 2001. Induced mutation in grasspea (*Lathyrus sativus* L.) I. Morphological mutations. Advances in Plant Sciences 14: 135 — 141.
- Waghmare V. N., Mehra B. B. 2000 a. Induced genetic variability for quantitative characters in grasspea. Indian J. Genetics and Plant Breeding 60 (1): 81 — 87.
- Waghmare V. N., Mehra B. B. 2000 b. Induced fibrous root mutants in *Lathyrus sativus*. Indian J. Genet. Plant Breed. 60 (2): 261 — 263.