

---

---

## ИНТРОДУКЦИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТЕНИЙ В ИНДУСТРИАЛЬНОМ РЕГИОНЕ

---

---

УДК 581.15:581.14:631.528

**И.Ф. Пирко**

### ПОЛИВАРИАНТНОСТЬ ОНТОГЕНЕЗА У *OPUNTIA HUMIFUSA* (RAF.) RAF. ПОД ДЕЙСТВИЕМ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ

*Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., химические мутагены, начальные стадии онтогенеза, структурная и динамическая поливариантность

#### **Вступление**

Опунция приземистая (*Opuntia humifusa* (Raf.) Raf.) культивируется в Донецком ботаническом саду (ДБС) более 40 лет. Это самый зимостойкий вид в пределах рода, благодаря чему имеет обширный природный и культивируемый ареал. В условиях степной зоны ежегодно цветет, плодоносит и формирует полноценные семена. Самосев в открытом грунте образуется крайне редко и в зимний период погибает. Лимитирующие факторы для ювенильных особей – зимние оттепели (резкие колебания температуры, сопровождающиеся избытком влаги в почве) [1, 2]. В культуре размножается вегетативно.

В местах естественного распространения в различных регионах Северной Америки вид имеет охранный статус [3], но за пределами природного ареала распространяется достаточно широко и имеет высокий инвазионный потенциал [4, 5]. На данном этапе акклиматизации в степной зоне инвазивной угрозы не представляет – саморасселение и одичание *O. humifusa* в регионе не отмечено.

Благодаря своей экзотичности, высокой декоративности и жизнеспособности опунции пользуются широкой популярностью в декоративном садоводстве. Поэтому для расширения спектра их декоративных признаков в 2012 г. в ДБС начаты работы по формированию исходного материала для отбора. Одним из наиболее эффективных методов, позволяющих существенно ускорить селекционный процесс, является химический мутагенез [6, 7], который и был применен. Особенно высокую эффективность имеют методы экспериментального и в частности химического мутагенеза в селекции декоративных культур [8]. Так как реакция на мутагены у растений специфическая, на начальном этапе возникает необходимость в определении мутабельности растения, подборе наиболее эффективных концентраций мутагенов, а также изучении характера индуцируемых изменений.

#### **Цель и задачи исследования**

Цель исследования – анализ изменений, индуцированных химическими мутагенами у *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., наблюдаемых на ранних стадиях онтогенетического развития, а также оценка перспективности использования выбранных мутагенов для формирования исходного материала в селекционной работе с опунциями.

#### **Объекты и методы исследования**

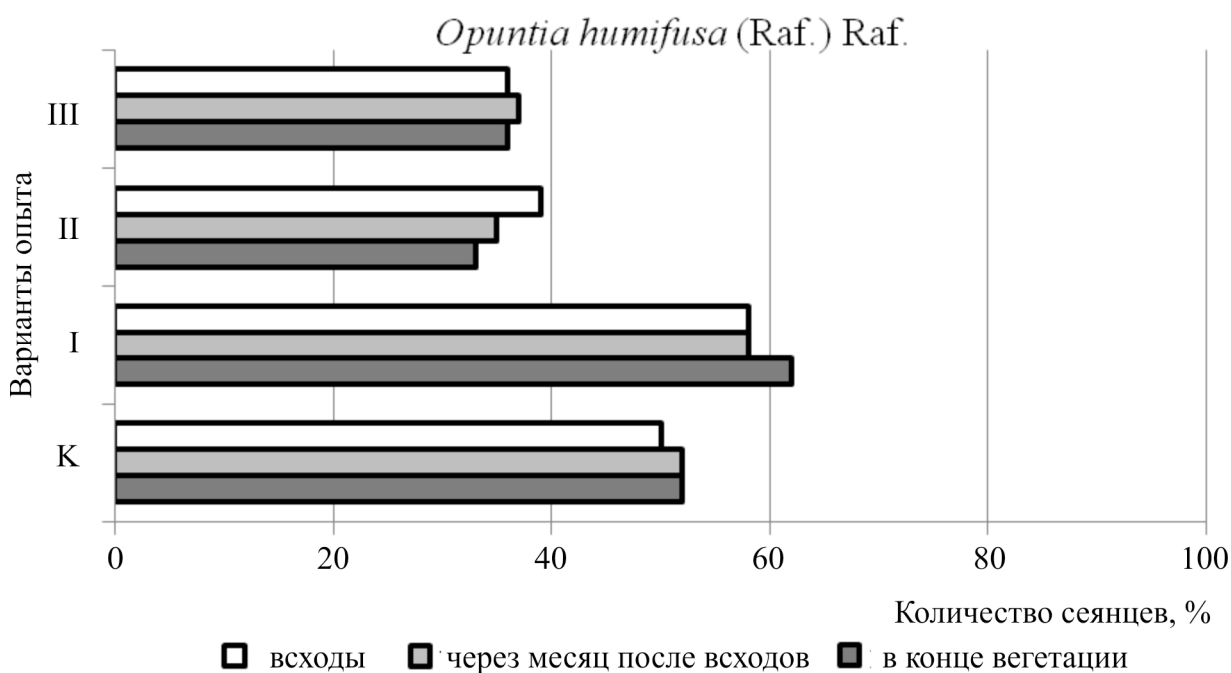
Объект исследования – семенное потомство M<sub>1</sub> *O. humifusa*, полученное под воздействием химических мутагенов.

Для индукции мутаций применяли супермутагены из группы алкилирующих соединений: диметилсульфат (0,1% и 0,2%) и гидроксилламин гидрохлорид (0,1%) с 5-часовой экспозицией. В качестве контроля использовали дистиллированную воду. В связи с тем, что семена опунции быстро ослизняются и набухают, предварительное замачивание не

проводили. Воздушно-сухие семена обрабатывали водными растворами по методике, предложенной Н.Н. Зоз [9], с учетом факторов, влияющих на эффективность химических мутагенов при воздействии на семена [10]. Во всех вариантах опыта и контроле для получения более надежных результатов закладывали по 5 повторностей, в каждой из которых по 50 шт. семян. После обработки семена промывали в дистиллированной воде 1 час 20 мин. (2 промывания, 3 замачивания) и просушивали в течение 5 суток. Обработку и посев проводили в конце марта в оптимальных условиях для прорастания семян опунции. Посев семян и две пикировки проводили в теплице. Двухлетние сеянцы, находящиеся на имматурной стадии, высадили в открытый грунт. В настоящем исследовании приведены результаты наблюдений за 5 лет.

### Результаты исследований и их обсуждение

При изучении всхожести семян и жизнеспособности сеянцев *O. humifusa* под влиянием мутагенов выявлены ингибирующий и стимулирующий эффекты (рис. 1), что характерно для большинства мутагенов как радиационной, так и химической природы [10, 11, 13]. Малые концентрации мутагенов (до определенного порогового значения), являясь слабым стресс-фактором для растений, провоцируют неспецифическую адаптивную реакцию, тем самым повышая уровень их жизнеспособности в рамках адаптационного потенциала (стимулирующий эффект). Частота измененных форм при этом относительно низкая, что и было подтверждено в данном эксперименте.



**Рис. 1.** Влияние мутагенов на всхожесть семян *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. и жизнеспособность сеянцев в первый год вегетации: I – диметилсульфат– 0,1% – 5 ч., II – диметилсульфат – 0,2% – 5 ч., III – гидроксиламин гидрохлорид – 0,1% – 5 ч., K – контроль – дистиллированная вода – 5 ч.

**Fig. 1.** Effect of mutagens on seed germination *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. and viability of seedlings in the first year of vegetation: I – dimethylsulfate – 0.1% – 5 h., II – dimethyl sulfate – 0.2% – 5 h., III – hydroxylamine hydrochloride – 0.1% – 5 h., K – Control – distilled water – 5 h.

В конце вегетации в вариантах опыта и в контроле наряду с гибелью сеянцев отмечены и единичные всходы. Пролонгированная всхожесть характерна для опунций, как и для многих

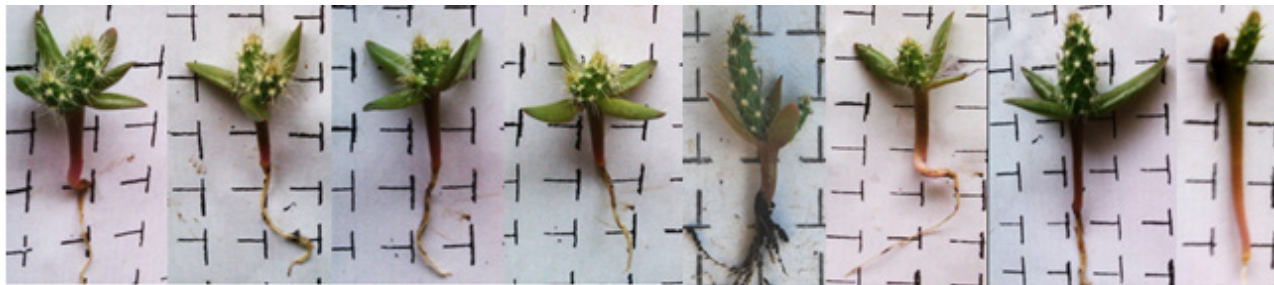
других видов, произрастающих в экстремальных условиях, и носит адаптивный характер. Часть семян всходит на второй – третий год после посева, что способствует сохранению популяции в случае гибели сеянцев в предшествующий неблагоприятный период.

Анализ всхожести семян, обработанных химическими мутагенами, показал, что и в вариантах опыта, и в контроле имеется большой разброс данных между повторностями, что свидетельствует о влиянии ряда неконтролируемых эндогенных и экзогенных факторов, например, гетерозиготность и гетерогенность используемого семенного материала (возможна межвидовая гибридизация), разброс микроклиматических и эдафических характеристик (условия увлажнения, освещенность, температура, pH почвы, содержание питательных веществ, концентрация солей и т.д.), случайные биотические факторы (паразиты, патогены), а также агротехнические (глубина заделки семян, густота посева и т.д.).

В результате пятилетних наблюдений за экспериментальными растениями выявлены структурная (размерная и морфологическая) и динамическая (ритмологическая) поливариантность индивидуального развития. В конце первой вегетации у семенного потомства *O. humifusa* рассмотрена изменчивость биометрических характеристик (высота растения, длина корневой системы). Анализ полученных данных показал, что высота побега – менее варьированный признак, чем длина корневой системы. В вариантах опыта среднее значение этого признака незначительно отклоняется от контроля в ту или иную сторону. Амплитуда варьирования изменяется только в опытах с диметилсульфатом. При низкой концентрации увеличился выход низкорослых форм.

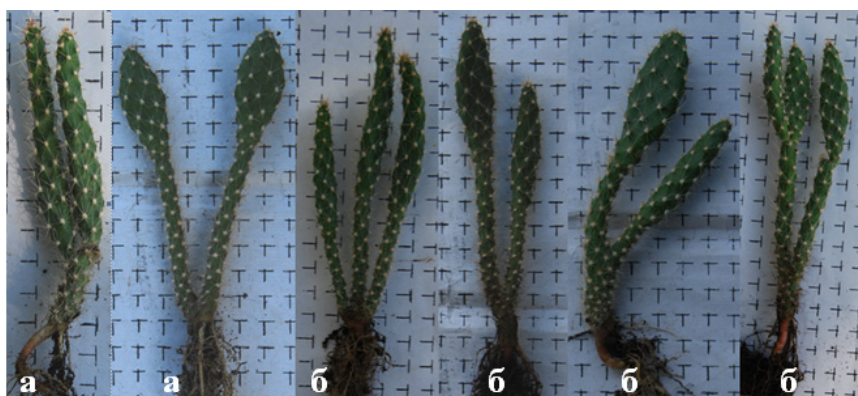
Длина корневой системы у сеянцев *O. humifusa* отличается высокой вариабельностью и в вариантах опыта и в контроле. Коэффициент вариации у контрольных растений выше, чем в опытах. Сеянцы опунций содержались в стандартных пикировочных контейнерах емкостью 0,25 мл в одинаковой по объему и составу земельной смеси. Однако полив растений производился вручную, не дозировано, и уровень освещения на занимаемой растениями площади варьировал, что приводит к разной скорости испарения и также влияет на режим увлажнения. Таким образом, значительную долю влияния на варьирование этого признака, по нашему мнению, оказывали внешние факторы, в частности – режим увлажнения. Но, вместе с тем, полученные данные подтверждают влияние мутагенов на проявление этого признака, так как амплитуда его варьирования в вариантах опыта увеличилась на 30–75 %.

На стадии проростков среди экспериментальных растений выявлены отдельные особи с различными морфологическими изменениями (рис. 2.). Воздействие мутагенами привело к увеличению числа семядолей до 3–5, рассечению или редукции одного из семядольных листочков, формированию 2–4-главых проростков с изотоническим и анизотоническим ветвлением. Такие особи вполне жизнеспособны, характеризуются нормальным ростом и развитием (рис. 3), и на виргинильной стадии у большинства из них восстанавливается формирование типичной для данного вида побеговой системы.



**Рис. 2.** Морфологические нарушения у проростков *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. под воздействием химических мутагенов

**Fig. 2.** Morphological disorders in sprouts of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. induced by chemical mutagens

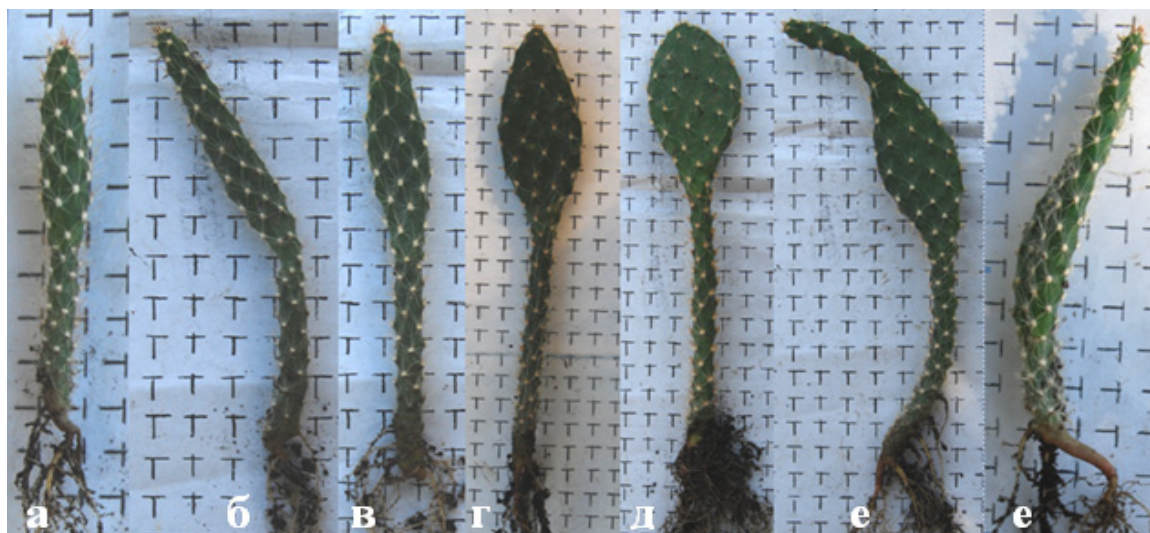


**Рис. 3.** Многоглавые сеянцы *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. на иматурной стадии развития, полученные под воздействием химических мутагенов с изотоническим (а) и анизотоническим (б) ветвлением

**Fig. 3.** Multi-headed seedlings of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. (immature stage of development), obtained under the influence of chemical mutagens with isotonic (a) and anisotonic (б) branching

На иматурной стадии у сеянцев *O. humifusa* выявлен целый спектр новых морфологических отклонений по ряду признаков:

- по форме побегов (рис. 4.) – цилиндрическая, уплощенная линейная, уплощенная ланцетовидная, уплощенная ромбовидная, реверсии к цилиндрической форме побега, характерной для ювенильной стадии. Типичная для вида форма – уплощенная эллиптическая;
- по типу ветвления (рис. 5) – моноподиальный, дихотомический изотонический, ложнодихотомический анизотонический. Типичный для вида – симподиальный тип;
- по вариантам ветвления (рис. 6) – базитонный, мезотонный, акротонный. В норме типичный – акротонный, но встречаются все три варианта.



**Рис. 4.** Изменение формы побега *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. под воздействием химических мутагенов: цилиндрическая (а), уплощенная линейная (б), уплощенная ланцетовидная (в), уплощенная ромбовидная (г), типичная для вида – уплощенная эллиптическая (д), реверсии к цилиндрической форме побега (е)

**Fig. 4.** Shape changes in shoots of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. induced by chemical mutagens, namely: cylindrical shape (а), flattened linear shape (б), flattened lanceolate shape (в), flattened rhomboid shape (г), typical of this species – flattened elliptical shape (д), reversion to cylindrical shoot shape (е)





**Рис. 5.** Разнообразие типов ветвления среди сеянцев *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. под воздействием химических мутагенов: моноподиальный (а), симподиальный (типичный для вида) (б), дихотомический изотонический (в), ложнодихотомический анизотонический (г)

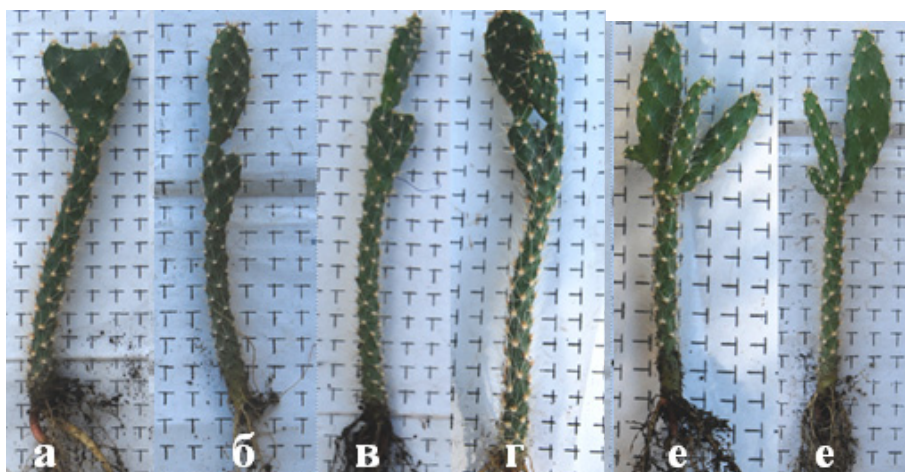
**Fig. 5.** Variety of branching types among seedlings of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. induced by chemical mutagens: monopodial (a), sympodial (typical of the species) (б), dichotomous isotonic (в), false-dichotomous anisotonic (г)



**Рис. 6.** Разнообразие вариантов ветвления сеянцев *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. под воздействием химических мутагенов: базитонный (а), мезотонный (б), акротонный (в)

**Fig. 6.** Variety of branching in seedlings of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., induced by chemical mutagens: basiton (a), mesoton (б), acroton (в)

Выявлен также ряд форм, сложно поддающихся классификации. Возможно, это переходные формы между ложнодихотомическим и дихотомическим ветвлением (рис. 7). У отдельных особей наблюдали аномальное увеличение количества побегов второго порядка (см. рис. 7. е). В норме на имматурной стадии у *O. humifusa* формируется один побег второго порядка и только на виргинильной, начиная с побегов 3–4 порядка количество побегов существенно возрастает.



**Рис. 7.** Морфологические изменения у имматурных особей *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., индуцированные химическими мутагенами: переходные формы между дихотомическим и ложнодихотомическим ветвлением (**а, б, в, г**), аномальное увеличение числа побегов второго порядка на имматурной стадии (**е**)

**Fig. 7.** Morphological changes in the immature individuals of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., induced by chemical mutagens: transitional forms between dichotomous and false-dichotomous branching (**a, б, в, г**), abnormal number of shoots of the second order at the immature stage (**e**)

Часть аномальных форм на имматурной стадии элиминирована в условиях открытого грунта естественным отбором. Выжившие представляют две группы. В пределах одной из них у особей наблюдаются нарушения в строении побеговой системы на всех стадиях развития прегенеративного периода (рис. 8), у другой группы, начиная с виргинильной стадии, побегообразование стабилизируется в пределах нормы.



**Рис. 8.** Морфологические изменения у виргинильных особей *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. индуцированные химическими мутагенами

**Fig. 8.** Morphological changes in virginal individuals of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., induced by chemical mutagens

У экспериментальных растений отмечено сокращение продолжительности ювенильной стадии (раннее формирование побегов второго порядка) и прегенеративного периода в целом. Так, на пятый год вегетации в генеративную фазу вступили 9 % выживших растений из



варианта опыта с диметилсульфатом (0,2%) и 5% – из варианта с гидроксиламина гидрохлоридом (0,1%).

Следует отметить, что различные отклонения выявлены как в вариантах опыта, так и в контроле. Соотношение измененных форм в вариантах опыта следующее: контроль – **21%**; гидроксиламин гидрохлорид (0,1%) – **38%**; диметилсульфат (0,1%) – **18%**; диметилсульфат (0,2%) – **39%**.

Предположительно это связано с тем, что в контроле, по общепринятой методике, семена замачивали в дистиллированной воде. Длительное замачивание, вероятно, приводит к изменениям баланса внутриклеточной среды, что, в свою очередь, провоцирует нарушения роста и развития растений. Для проверки нами был заложен еще один вариант опыта с тремя повторностями по 50 шт. семян. Семена из той же генерации, которая использована в других вариантах опыта, замачивали в водопроводной воде с экспозицией в 5 часов (как и в других вариантах). Нарушения в строении проростков ни в одной из повторностей не выявлены, что подтверждает вероятность негативного влияния дистиллированной воды. Однако характер влияния (мутагенный или модификационный) может быть определен лишь при длительном последующем наблюдении за растениями и анализе расщепления в их семенном потомстве.

### Выводы

Изучение особенностей роста и развития семенного потомства *O. humifusa*, полученного под воздействием химических мутагенов диметилсульфата и гидроксиламина гидрохлорида позволило выявить спровоцированную мутагенами структурную (размерную, морфологическую) и динамическую (ритмологическую) поливариантность онтогенеза. Широкий спектр изменений, полученный уже в первом поколении (M<sub>1</sub>), свидетельствует о значительном формообразовательном и адаптационном потенциале *O. humifusa*. Учитывая, что максимальный выход мутаций на фенотип закономерно приходится на M<sub>2</sub>–M<sub>5</sub>, можно прогнозировать высокую эффективность выбранных методов получения селекционного материала данного вида.

1. *Васильева И.М.* Интродукция видов рода *Opuntia* (Tournef.) Mill. (Cactaceae) на Северо-Запад России и ограничивающие ее факторы // Интродукция та збереження рослинного різноманіття. 2009. Вып. 19/21. С. 53–54.  
*Vasileva I.M.* Introduktsiya vidov roda *Opuntia* (Tournef.) Mill. (Cactaceae) na Severo-Zapad Rossii i ogranichivayushchie ee factory [Introduction of species of the genus *Opuntia* (Tournef.) Mill. (Cactaceae) in the North-West of Russia and its limiting factors] // Introduktsiya ta zberezhennya roslinnogo riznomanittya. 2009. N 19/21. P. 53–54.
2. *Губанова Т.В.* Сравнительная характеристика особенностей водного режима представителей подсем. Opuntioideae в связи с их морозостойкостью // Бюлл. ГБС. 2007. Вып. 186. С. 128–132.  
*Gubanova T.B.* Sravnitel'naya kharakteristika osobennostey vodnogo rezhima predstaviteley podsem. Oruntioideae v svyazi s ikh morozostoykostiyu [Comparative characteristics of water regime traits in representatives of the subfamily Oruntioideae with relation to their frost hardness] // Byull. GBS. 2007. N 186. P. 128–132.
3. *Rebman J.P., Pinkava D.J.* *Opuntia* cacti of North America: an overview. Florida Entomologist. 2001. Vol. 84 (4). P. 474–483.
4. *Багрикова Н.А., Бондарева Л.В., Рыфф Л.Э.* Особенности распространения *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. на территории г. Севастополя // Практические итоги работы с дикорастущими и культурными растениями. Сборник научных трудов ГНБС. Ялта, 2014. Т. 139. С. 32–46.  
*Bagrikova N.A., Bondareva L.V., Riyuff L.E.* Osobennosti rasprostraneniya *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. na territorii g. Sevastopolya [Specific features of the distribution of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. in the territory of the city of Sevastopol] // Prakticheskie itogi raboty s

- dikorastushchimi i kulturnymi rasteniyami. Sbornik nauchnyh trudov GNBS. Yalta, 2014. Vol. 139. P. 32–46.
5. *Tashev A.* Characteristics of the *Opuntia humifusa* (Cactaceae) locality in the Harmanli district, South Bulgaria // *Phytologia balcanica*. 2012. Vol. 18 (1). P. 11–16.
  6. *Doebley J., Gaut B.S., Smith B.D.* The Molecular genetics of crop domestication // *Cell*. 2006. Vol. 127. P. 1309–1321.
  7. *Ранопорт И.А.* Метод адаптивной селекции растений // Химический мутагенез в создании сортов с новыми свойствами. М.: Наука, 1986. С. 3–51.  
*Rapoport I. A.* Metod adaptivnoy seleksii rasteniy [The method of adaptive plant breeding] // *Khimicheskiy mutagenez v sozdanii sortov s novymi svoystvami*. Moscow: Nauka, 1986. P. 3–51.
  8. *Антонюк Н.М.* Применение мутагенов в селекции декоративных растений // Интродукция и акклиматизация растений. 1991. Вып. 13. С. 97–99.  
*Antonyuk N. M.* Primenenie mutagenov v seleksii dekorativnykh rasteniy [The use of mutagens in the breeding of ornamental plants] // *Introduktsiya i akklimatizasiya rasteniy*. 1991. N 13. P. 97–99.
  9. *Зоз Н.Н.* Методика использования химических мутагенов в селекции сельскохозяйственных культур // Мутационная селекция. М.: Наука, 1968. С. 217–230.  
*Zoz N.N.* Metodika ispolzovaniya himicheskikh mutagenov v seleksii selskohozyaistvennykh kultur [Method of using chemical mutagens in crop breeding] // *Mutatsionnaya selektsiya*. Moscow: Nauka, 1968. P. 217–230.
  10. *Зоз Н.Н.* Исследование факторов, влияющих на эффективность химических мутагенов при воздействии на семена // Химический мутагенез и селекция. М.: Наука, 1971. С. 169–173.  
*Zoz N.N.* Issledovanie faktorov, vliyayushchikh na effektivnost khimicheskikh mutagenov pri vozdeystvii na semena [Investigation of factors influencing the effects of chemical mutagens when exposed to seeds] // *Khimicheskiy mutagenez i selektsiya*. Moscow: Nauka, 1971. P. 169–173.

Государственное учреждение  
«Донецкий ботанический сад»

Поступила: 22.05.2017

УДК 581.15:581.14:631.528

## ПОЛИВАРИАНТНОСТЬ ОНТОГЕНЕЗА У *OPUNTIA HUMIFUSA* (RAF.) RAF. ПОД ДЕЙСТВИЕМ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ

И.Ф. Пирко

Государственное учреждение «Донецкий ботанический сад»

Приведены особенности роста и развития семенного потомства  $M_1$  *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., полученного под воздействием химических мутагенов диметилсульфата и гидроксиламина гидрохлорида. Показан спектр морфологических и ритмологических вариаций, выявленных на начальных стадиях онтогенеза.

Ключевые слова: *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., химические мутагены, начальные стадии онтогенеза, структурная и динамическая поливариантность



UDC 581.15:581.14:631.528

POLYVARIETY OF ONTHOGENY OF *OPUNTIA HUMIFUSA* (RAF.) RAF., INDUCED BY CHEMICAL MUTAGENS

I.F. Pirko

Public Institution «Donetsk Botanical Garden»

The paper presents growth and development traits of M<sub>1</sub> seed progeny of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., induced by dimethylsulfate and hydroxylamine hydrochloride chemical mutagens. The range of morphological and rhythmological variations is revealed in the initial development stage.

Key words: *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., chemical mutagens, initial onthogeny stages, structural and dynamic polivariety.