

WPŁYW ŚWIATŁA LASERA HELOWO-NEONOWEGO
I CHEMOMUTAGENU (MNU) NA ZMIENNOŚĆ CECH ŁĘDŹWIANU
SIEWNEGO (*Lathyrus sativus* L.) W POKOLENIU M₁

W. Rybiński, L. Pokora¹

Instytut Genetyki Roślin PAN, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

¹Centrum Techniki Laserowej, ul. Wiosny Ludów 49, 02-495 Warszawa

Streszczenie. Nasiona dwóch krajowych odmian lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.) napromieniowano światłem lasera, traktowano chemomutagenem (MNU) oraz ich kombinacjami (laser + MNU) i (MNU + laser). Nasiona wysiewano na poletka w doświadczeniu polowym (pokolenie M₁) a po zbiorze analizowano wysokość roślin i parametry struktury plonu.

Światło lasera indukowało efekt biostymulacji (przy dawce 30 minut i odmiany Derek) oraz niewysoki efekt redukcji przy dłuższych czasach ekspozycji lasera (90 i 120 minut). MNU silnie redukował wartości badanych cech, zwłaszcza u odmiany Derek. Kombinacje łączone laser i MNU obniżały wartości cech w stopniu mniejszym aniżeli wyłączone działanie MNU. Odmiana Krab wykazywała większą wrażliwość na działanie światła lasera aniżeli odmiana Derek. Odwrotną reakcję odmian obserwowano przy wyłącznym działaniu MNU. W kombinacjach łączonych wyższe wartości uzyskano dla odmiany Krab aniżeli Derek.

Słowa kluczowe: biostymulacja, chemomutagen, laser, lędźwian siewny, pokolenie M₁, struktura plonu, zmienność cech.

WSTĘP

Lędźwian siewny był już uprawiany na Bałkanach około 8000 lat przed Chrystusem. Również wykopaliska archeologiczne prowadzone w Turcji i Iraku wskazują, że gatunek ten był z powodzeniem uprawiany w tych krajach. Obecnie lędźwian siewny jest jednym z ważniejszych gatunków uprawnych w Bangladesz, Chinach, Indiach, Nepalu i na znacznie mniejszą skalę w wielu krajach Europy,

Środkowego Wschodu, Północnej Afryki a także w Południowej Ameryce - Chile i Brazylii.

Według Milczaka i in. [7, 8] lędzwan siewny trafił na ziemie polskie na Podlasie wraz z osadnictwem tatarskim w XVII wieku. Prawdopodobnie w początkowym okresie towarzyszył on soczewicy (*Lens culinaris*) jako chwast i stopniowo w miarę wypierania soczewicy na obszary o mniej korzystnych warunkach klimatyczno-glebowych na znaczeniu zyskiwać zaczęła uprawa lędzwanu siewnego [13].

Pierwszym obiektem badań rozpoznawczych w Polsce w 1991 roku była populacja miejscowa lędzwanu ze wsi Derewiczna oznaczona symbolem DER. Populacja ta jak również inne genotypy posłużyły w 1992 roku do oceny ich plonowania [6]. Równoległe z rozwijającymi się badaniami prowadzono hodowlę twórczą lędzwanu w kooperacji AR Lublin - "Spójnia" Nochowo. Współpraca ta zaowocowała wpisaniem w roku 1998 do Rejestru Oryginalnych Odmian Roślin Warzywnych dwóch odmian lędzwanu - Derek i Krab.

W porównaniu z innymi gatunkami lędzwan siewny charakteryzuje się dobrą wartością paszową [4], bardzo wysoką tolerancją na suszę i z powodzeniem uprawiać go można w rejonach o ilości opadów rzędu 380-650 mm. Dzięki silnej penetracji gleby przez bardzo dobrze rozwinięty system korzeniowy można go uprawiać na różnych typach gleb, z glebami bardzo ubogimi włącznie i ciężkimi glinami [1]. W celu szerszego wprowadzenia uprawy lędzwanu do warunków Polski, niewątpliwie istotnym jest poszerzenie zmienności genetycznej cech u tego gatunku umożliwiając bardziej efektywną selekcję najbardziej pożądanych genotypów. Jedną z dróg realizacji tych zamierzeń jest mutagenеза. W celu uzyskania mutantów i zróżnicowania genetycznego cech w dalszych pokoleniach istotnym jest wybór odpowiednich mutagenów i ich dawek oraz poznanie wrażliwości lędzwanu na działanie mutagenu w pokoleniu M_1 .

Celem pracy było określenie reakcji lędzwanu na działanie światła lasera i chemomutagenu (MNU), wyrażona zmiennością cech w pokoleniu M_1 (uszkodzenia biologiczne) oraz ewentualnych różnic odmianowych we wrażliwości na zastosowane środki.

MATERIAŁ I METODY

Materiał wyjściowy do badań stanowiły dwie odmiany krajowe lędzwanu siewnego - Derek i Krab. Do naświetlania nasion wybrano laser helowo-neonowy z Centrum Techniki Laserowej z Warszawy. Naświetlanie prowadzono w zakresie światła czerwonego o długości fali 632 nm i mocy padającego światła - $1mW/cm^2$.

Do indukowania mutacji wybrano N-nitroso-N-metylomocznik (MNU). Zastosowano trzy czasy naświetlania - 30, 90 i 120 min oraz jedno stężenie MNU – 1,1 mM w czasie 3 godzin. Oprócz wyłącznego naświetlania laserem i traktowaniem MNU zastosowano też kombinacje łączone: laser + MNU i MNU + laser. Nasiona nie poddawane działaniu lasera i MNU stanowiły kombinację kontrolną.

Po zakończeniu traktowań mutagenem i naświetlaniu laserem nasiona wysiewano na poletka w doświadczeniu polowym założonym metodą bloków losowych w trzech powtórzeniach. Na każdym poletku wysiewano po 80 nasion w rzędzie co 25 cm i odległości między rzędami - 40 cm.

W okresie wegetacji prowadzono obserwację roślin, a po zbiorze określano: wysokość roślin (WR), liczbę strąków z rośliny (LSR), długość strąka (DS), liczbę nasion z strąka pędu głównego (LNS), masę nasion z strąka pędu głównego (MNS), liczbę nasion z rośliny (LNR), masę nasion z rośliny (MNR) oraz masę 100 nasion (MN). Doświadczenie prowadzono w roku 2000 w warunkach silnej suszy wiosennej (Tab.1).

Tabela 1. Temperatury (°C) i poziom opadów (mm) w okresie wegetacji wiosny roku 2000 (dane z HR Szelejewo - Wielkopolska)

Table 1. Temperature (°C) and rainfall level (mm) during vegetation period of spring in year 2000 (data from Breeding Station Szelejewo - Great Poland)

	Miesiące i dekady											
	III			IV			V			VI		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Temperatura	4,1	3,6	5,3	10,3	15,2	20,2	18,3	16,0	15,9	19,3	21,8	19,7
Opady	41,7	28,9	34,9	-	17,1	-	-	14,4	36,7	10,2	1,7	7,5

WYNIKI I DYSKUSJA

Indukowanie mutacji jest szczególnie efektywne w odniesieniu do gatunków, które w określonych warunkach środowiskowych charakteryzują się wąskim zakresem zmienności naturalnej. Do takich form w Polsce należy lędźwian siewny będący w uprawie gatunkiem marginalnym.

Wyniki przedstawione w Tab. 2 wskazują, że niezależnie od odmiany wyłączne działanie światła lasera wywoływało nieznaczny efekt stymulacji lub

redukcji wartości badanych cech w porównaniu z kombinacją kontrolną. Efekt biostymulacji w odniesieniu do cech struktury plonu obserwowano wyłącznie dla czasu naświetlania lasera wynoszącego 30 min i odmiany Derek. W stosunku do formy wyjściowej liczba strąków z rośliny była wyższa o 11,2%, liczby nasion i masy z strąką pędu głównego o 1,7 i 2,1% oraz liczby i masy ziaren z rośliny o 22,9 i 2,2%. Wystąpienie efektu biostymulacji obserwowano między innymi u takich gatunków jak kukurydza [3], pszenica [2], burak cukrowy [5], łubin [11], bobik [10] i jęczmień [14]. W miarę wydłużania czasu ekspozycji do 90 i 120 min światło lasera powodowało redukcję wartości badanych cech, aczkolwiek nie tak wysoką jak chemomutagen - MNU. Mutagen ten silnie obniżał wszystkie parametry struktury plonu. Obserwowana redukcja była wyraźnie wyższa u odmiany Derek. Stosując MNU u lędźwianu Singh i Chaturvedi [15] obserwowali silne obniżenie wzrostu roślin, płodności pyłku oraz przeżywalności roślin.

W traktowaniach łączonych (laser + MNU i MNU + laser) z wyjątkiem wysokości roślin obserwowano w porównaniu z kontrolą wyłącznie efekt redukcji. Niezależnie od odmiany wyjściowej najmniejsze obniżenie parametrów plonowania obserwowano przy ekspozycji lasera 30 minut. Przy wyłącznym stosowaniu lasera dawka ta, zwłaszcza u odmiany Derek, wywołała efekt stymulacji. Właśnie tym efektem można wyjaśnić, że wartości badanych cech były wyższe w kombinacjach łączonych w porównaniu z wyłącznym stosowaniem MNU i to niezależnie od tego czy laser stosowano przed - czy po działaniu MNU. W miarę wydłużania naświetlania do 90 i 120 minut w kombinacji z MNU wartości badanych cech były niższe aniżeli przy 30 minutach, ale generalnie wyższe niż przy wyłącznym działaniu MNU. Wskazuje to, zwłaszcza przy ekspozycji 30 minut, że światło lasera wywierało "ochronny wpływ" na poziom uszkodzeń biologicznych wywoływany przez MNU. W kombinacji laser 30 minut + MNU u odmian Derek i Krab liczba i masa nasion z rośliny wynosiła odpowiednio 33,0 i 2,7 g; 46,0 i 5,17 g, a przy wyłącznym traktowaniu MNU odpowiednio: 16,0 i 1,3 g oraz 11,9 i 1,32 g. Stosując traktowania łączone - MNU + DMSO u lędźwianu [15] DMSO (podobnie jak w prezentowanych badaniach światło lasera) obserwowano obniżenie wysokiego poziom redukcji wzrostu siewek, płodności pyłku i przeżywalności roślin wywołany działaniem MNU. Analizując dalej pokolenie M₂ lędźwianu, MNU + promienie gamma [9] jak i same promienie gamma [12] umożliwiły uzyskanie wysokiej częstotliwości mutacji.

Tabela 2. Średnie wartości cech lędźwianu siewnego odmian wyjściowych i roślin pokolenia M₁
Table 2. Means of traits of grasspea for initial cultivars and plants of M₁ progeny

Kombinacje	WR* (cm)	LSR	DS (cm)	LNS	MNS (g)	LNR	MNR (g)	MN (g)
DEREK – kontrola	84,5	75,0	3,38	3,57	0,96	164,5	17,8	10,8
Laser 30 minut (L30)	95,5	83,4	3,13	3,63	0,98	202,2	18,2	9,1
Laser 90 minut (L90)	94,2	79,2	3,08	3,16	0,84	148,0	12,1	8,1
Laser 120 minut (L120)	81,2	64,3	3,15	3,00	0,81	95,6	7,9	8,3
MNU – 1.1 mM	83,5	13,0	2,14	1,15	0,16	16,0	1,3	7,8
L 30 + MNU	89,5	26,0	2,34	1,27	0,26	33,0	2,7	8,2
L 90 + MNU	93,3	14,2	2,41	1,16	0,18	16,2	1,4	8,6
L 120 + MNU	84,3	18,5	2,52	1,20	0,15	22,2	1,9	8,5
MNU + L 30	99,8	25,7	2,67	1,53	0,35	23,9	2,1	8,7
MNU + L 90	100,0	23,4	2,57	1,38	0,30	12,0	1,0	8,3
MNU + L 120	100,2	21,9	2,44	1,27	0,22	32,0	2,2	6,9
KRAB – kontrola	91,4	58,5	3,39	3,36	1,25	106,9	13,8	12,9
Laser 30 minut (L30)	99,3	65,7	3,08	2,75	1,27	99,3	12,2	12,2
Laser 90 minut (L90)	81,2	57,2	3,12	2,73	1,05	77,7	10,2	13,2
Laser 120 minut (L120)	85,7	37,6	2,95	2,55	0,99	51,0	6,4	12,8
MNU – 1.1 mM	90,4	18,5	2,72	1,38	0,52	11,9	1,3	11,0
L 30 + MNU	108,4	32,2	2,78	1,44	0,57	46,0	5,2	11,2
L 90 + MNU	98,9	20,8	2,55	1,17	0,29	17,0	1,8	10,6
L 120 + MNU	110,4	20,4	2,62	1,21	0,32	23,2	2,0	8,6
MNU + L 30	104,2	25,3	3,19	1,59	0,57	40,0	5,4	13,5
MNU + L 90	103,5	18,1	3,21	1,37	0,38	24,2	2,2	9,0
MNU + L 120	91,3	17,7	2,92	1,25	0,23	22,0	1,8	8,2

* - rodzaj analizowanej cechy podano w rozdziale - Materiał i Metody.

Wyrażając uzyskane wartości łącznie dla lasera, MNU i ich kombinacji w procentach form wyjściowych można stwierdzić (Tab. 3), że odmiana Derek wykazywała mniejszą wrażliwość na działanie światła lasera aniżeli odmiana Krab. Odwrotną reakcję obserwowano w odniesieniu do wyłącznego traktowania MNU. W kombinacjach łączonych wyższe wartości uzyskano dla odmiany Krab aniżeli Derek. Wynikać to może z większej wrażliwości odmiany Derek na działanie MNU. Znaczne różnice odmianowe lędźwianu we wrażliwości na działanie MNU i EMS obserwowali Singh i Chaturvedi [15]. Kolejność traktowań w kombinacjach łączonych wskazuje, że zastosowanie lasera po uprzednim działaniu MNU

(MNU + laser) wpływało na uzyskanie wyższych wartości badanych cech aniżeli kombinacja odwrotna, co może sugerować, że światło lasera przyczyniało się do reperacji uszkodzeń biologicznych wywołanych uprzednim działaniem MNU. Mimo wystąpienia silnej suszy wiosennej, której towarzyszyły wysokie temperatury (Tab.1), łądzian w przeciwieństwie do obok rosnących zbóż jarych nie wykazywał widocznych uszkodzeń roślin w wyniku wystąpienie tak silnego stresowego czynnika środowiskowego. Potwierdzają to dane literaturowe [1, 13] o niezwykłej tolerancji łądzianu na niedobory wody w glebie. Cecha ta jest niewątpliwie bardzo istotna w kontekście regularnie powtarzających się ostatnio w Polsce okresów suszy (silna susza letnia w roku 1999, wiosenna w roku 2000 i w słabszym stopniu susza wiosenna w roku 2001 - Wielkopolska). Dodatkowym czynnikiem przemawiającym za szerszą uprawą łądzianu, jako bogatego źródła białka, jest wystąpienie choroby gąbczastości mózgu u bydła (BSE), a w efekcie tego silne ograniczenia w skarmianiu bogatej w białko mączki mięsnej [4]. Wykorzystanie mutagenyzy jako uzupełnienia klasycznej metody hodowli i poprawienie tą drogą niekorzystnych cech łądzianu (silna tendencja do wylegania, duża produkcja biomasy i niezdeteminowany wzrost) może przyczynić się do wzrostu atrakcyjności uprawy tej marginalnej jak dotąd w Polsce rośliny strączkowej.

Tabela 3. Ocena struktury plonu roślin pokolenia M_1 wyrażona w procentach wartości cech odmian wyjściowych

Table 3. The estimation of yield structure parameters in M_1 progeny expressed in per cent of value for initial cultivars

Kombinacje	WR* (cm)	LSR	DS (cm)	LNS	MNS (g)	LNR	MNR (g)	MN (g)
DEREK – kontrola	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Laser	106,8	100,8	92,3	91,3	90,6	90,3	71,3	78,7
MNU	98,8	17,3	63,3	32,2	16,6	9,7	7,3	72,8
Laser + MNU	105,3	26,0	71,5	33,8	20,8	14,5	11,2	78,0
MNU + Laser	118,3	31,5	75,5	39,0	30,2	13,7	9,9	78,8
KRAB – kontrola	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Laser	97,0	75,4	88,9	79,6	88,2	71,1	69,4	98,1
MNU	105,8	31,6	80,2	41,0	41,6	11,1	9,5	85,0
Laser + MNU	115,9	41,8	78,2	37,8	30,8	26,8	21,6	79,1
MNU + Laser	109,0	34,8	91,6	41,7	32,8	26,8	22,7	80,4

* - rodzaj analizowanej cechy podano w rozdziale - Materiał i Metody.

WNIOSKI

1. Światło lasera w traktowaniach pojedynczych wywoływało efekt biostymulacji przy ekspozycji 30 minut i odmiany Derek. Dłuższe czasy indukowały wyłącznie efekt redukcji wartości cech struktury plonu, zdecydowanie niższy aniżeli MNU.
2. Odmiana Krab wykazywała wyższą wrażliwość na działanie światła lasera aniżeli odmiana Derek, lecz wyraźnie niższą na działanie MNU. W kombinacjach łączonych większą wrażliwością charakteryzowała się odmiana Derek.
3. Światło lasera wykazywało zdolność do obniżania poziomu uszkodzeń biologicznych wywoływanych uprzednim działaniem MNU.

PIŚMIENNICTWO

1. **Campbell C.G., Mehra R.B., Agrawal S.K., Chen Y.Z., Moneim A.M., Khawaja H.I., Yadov J.U., Tay J.U., Araya W.A.:** Current status und future strategy in breeding grasspea (*Lathyrus sativus*). *Euphytica*, 73, 167-175, 1994.
2. **Drozd D., Szajnsner H., Koper R.:** Wpływ biostymulacji laserowej na zdolność kiełkowania nasion pszenicy jarej. *Annales UMCS, sec. E, vol XLIX*, 217-223, 1994.
3. **Gieroba J., Koper R., Matyka S.:** The influence of pre-sowing laser biostimulation of maize seeds on the crop and nutritive value of the corn. 45-th Australian Cereal Chemistry Conference, Adelaide, 30-33, 1995.
4. **Hanbury C.D., White C.L., Mullan B.P., Siddique K.H.M.:** A review of the potential of *Lathyrus sativus* L. and *L.cicere* L. grain for use as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 87, 1-27, 2000.
5. **Koper R., Wójcik S., Kornas-Czuczwar B., Bojarska U.:** Effect of laser exposure of seeds the yield and chemical composition of sugar beet roots. *Int. Agrophysics*, 10 (2), 103-108, 1996.
6. **Milczak M., Janoszek E.:** Potencjalne możliwości wykorzystania krajowego lędzwanu siewnego w kuchni domowej i w przetwórstwie rolnym. Ogólnopolska konferencja "Jakość surowca warzywnego do przetwórstwa", Skierniewice, 19-20.10.1995, 73-79, 1995.
7. **Milczak M., Pędziński M., Rzedzicki Z., Jurzysta A.:** Trzy atuty lędzwanu siewnego jako cennej rośliny warzywnej. Materiały II Ogólnopolskiego Sympozjum "Nowe Rośliny i Technologie w Ogrodnictwie", Poznań, 17-19.09.1996, Tom II, 44-49, 1996.
8. **Milczak M., Pędziński M., Mnichowska H., Szwed-Urabaś K.:** Hodowla twórcza lędzwanu siewnego (*Lathyrus sativus* L.) - podsumowanie pierwszego etapu. Międzynarodowe Sympozjum Naukowe "Lędzwan siewny-agrotechnika i wykorzystanie w żywieniu zwierząt i ludzi". Radom, 9-10.06.1997, 13-22, 1997.
9. **Nerkar Y.S.:** Mutation studies in *Lathyrus sativus*. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, Vol. 36, No. 2, 223-229, 1976.

10. **Podleśny J.:** Wpływ przedsiewnego traktowania nasion światłem laserowym na kształtowanie cech morfologicznych i plonowanie bobiku. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 446, 435-439, 1997.
11. **Podleśny J., Podleśna A., Koper R.:** Chilling tolerance of white lupin in early development phases - the effect of seed pre-sowing irradiation by laser. Luxembourg. Office for Official Publications of the European Communities, 236-240, 1998.
12. **Prasad A.B., Das A.K.:** Morphological variants in *Khesari*. Indian Journal of Genetics and Plant Breedin, Vol. 40, No. 1, 172-175, 1980.
13. **Przybylska J.:** Lędzwan siewny (*Lathyrus sativus* L.) jako potencjalna wartościowa roślina strączkowa. Post. Nauk Roln., 1/99, 33-43, 1999.
14. **Rybiński W., Patyna H., Przewoźny T.:** Mutagenic effect of laser and chemical mutagens in barley (*Hordeum vulgare* L.). Genetica Polonica, 34, 337-343, 1993.
15. **Singh M., Chaturvedi S.N.:** Effectiveness and efficiency of mutagens alone or in combination with dimethyl sulphoxide in *Lathyrus sativus*. Linn. Ind. J. of Agric. Scie., 57, 503-507, 1987.

THE INFLUENCE OF HELIUM-NEON LASER AND CHEMOMUTAGEN
(MNU) ON VARIABILITY OF TRAITS IN M₁ PROGENY OF GRASSPEA
(*Lathyrus sativus* L.)

W. Rybiński, L. Pokora¹

Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszyńska 34, 60 - 479 Poznań

¹Centre of Laser Technology, Wiosny Ludów 49, 02-495 Warszawa

Summary. The seeds of two polish cultivars of grasspea (*Lathyrus sativus* L.) were irradiated with laser light, treated with chemomutagen (MNU) and combination of laser and MNU (laser + MNU and MNU + laser). After treatment the seeds were sown in field conditions and after harvest the plant height and yield structure parameters were estimated.

The laser light induced biostimulation effect, particularly for dose of 30 minutes and cv. Derek. Longer irradiation (90 and 120 minutes) caused small reduction effect. MNU alone induced strong biological injuries. The combination treatment of laser with MNU caused smaller reduction of traits than MNU alone. The cv. Krab showed higher susceptibility on laser light irradiation as compared to cv. Derek. The reverse reaction of cultivars was observed for single treatment with MNU. In combined treatment the higher values of traits were obtained for cultivar Krab than Derek.

Key words: biostimulation, chemomutagen, laser, grasspea, M₁ progeny, variability of traits, yield structure.