

**ИРЕНА АСПАРУХОВА ГОЛУБИНОВА**

**ПРОУЧВАНЕ НА ВЪЗМОЖНОСТИТЕ ЗА ОБОГАТЯВАНЕ НА  
ГЕНЕТИЧНОТО РАЗНООБРАЗИЕ ПРИ СУДАНСКАТА ТРЕВА  
(*SORGHUM SUDANENSE* (PIPER) STAPF.) ЧРЕЗ ИНДУЦИРАНЕ НА  
МУТАЦИИ С ГАМА-ЛЪЧИ**

## **АВТОРЕФЕРАТ**

**НА ДИСЕРТАЦИЯ ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА  
И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР”**

**ПО НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ  
„СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕПРОИЗВОДСТВО НА КУЛТУРНИТЕ РАСТЕНИЯ”  
Ш. 04.01.05.**

**Научен ръководител:  
Проф. дбн Костадин Иванов Гечев**

**Научно жури:**  
1. Доц. д-р Даниела Върбанова Кертикова  
2. Доц. д-р Анелия Илиева Кътова  
3. Проф. дбн Костадин Иванов Гечев  
4. Проф. дсн Димитър Дойнов Генчев  
5. Доц. д-р Миладин Недков Генов

**ПЛЕВЕН  
2012**

## **1. УВОД**

В условията на нарастващата нужда от хранителни продукти за постоянно увеличаващото се население на земята, намаляването на възобновяемите енергийни ресурси и променящия се климат, способстващ за компрометиране рентабилността на фуражното производство, спешно се налага включването на нови и/или допълнителни култури в сеитбообращенията каквато е суданската трева. Безспорните предимства при отглеждането (сухоустойчивост, солеустойчивост, откосност), използването (при уплътняване на сеитбообращенията, като покровна и подпокровна култура и плевелоподтискащ компонент в биологичното земеделие) и стопанското приложение (паша, сено, силаж, производство на биогорива) на суданската, доведоха през последните години до увеличаване на интереса за нейното отглеждане в редица страни по света.

Провежданите спорадични проучвания на интродуцирани сортове у нас, както и липсата на традиции в селекцията на суданска трева налагат използването на бързи и ефективни методи за създаване на генетично разнообразие. Съвременните селекционни цели при суданската трева са насочени към повишаване адаптивността, продуктивността от зелена и суха биомаса, облистеността, повишаване темпа на отрастване след косене, повишаване устойчивостта на болести, понижаване нивото на циановодородна киселина в зелената биомаса и др. Потенциалните предимства при прилагане на гама-лъчите за подобряване на съществуващи или създаване на нови генотипове със стопански ценни изменения и липсата на цялостни проучвания за действието на това лъчение при тази перспективна фуражна житна култура обосноваха целта на настоящата работа.

## **2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР**

В литературният обзор са разгледани въпросите за произход, разпространение и стопанско значение на суданската трева, ботаническа характеристика, таксономична принадлежност, морфологични особености, агробиологична характеристика, индуциран мутагенезис и подобряване на културните растения – основни подходи и постижения, експериментален мутагенезис при видовете от род *Sorghum* и суданската трева и цитогенетични проучвания.

## **3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО**

Основната цел на дисертационните изследвания е да се проучат възможностите за обогатяване на генофонда при суданската трева (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) чрез експериментално индуциране на мутации с гама-лъчи – Cs<sup>137</sup>.

За постигане на тази цел си поставихме решаването на следните основни задачи:

- Установяване чувствителността на различни сортове суданска трева към въздействието на широк диапазон от дози на гама-лъчи.
- Проучване на комплекс от биологични показатели в M<sub>1</sub> с оглед установяване на възможности за прогнозиране на оптимални дози на гама-облъчването за целите на мутационната селекция.
- Индуциране и отбор на мутации при суданска трева засягащи основни агрономически признаци.
- Характеристика на новосъздадени мутантни форми при тази култура с оглед тяхното ефективно използване в селекционните програми.

#### **4. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

**4.1. Място на изследване** – Полските, съдовите и лабораторните опити са изведени през периода 2007-2011 година в Института по фуражните култури – Плевен, а цитогенетичните анализи в Института по физиология на растенията и генетика – София, където са извършени и облъчванията на семената с гама-лъчи ( $Cs^{137}$ ) с мощност 146 Gy/h в гама-установка ГОУ-3М.

**4.2. Растителен материал** – Обект на изследването са три сорта (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) с различен произход: **Kazitachi** (Япония); **Vercors** (САЩ); **Воронежская 9** (Русия).

#### **4.3. Етапи на извършване на научно – изследователската работа**

**4.3.1. Първи етап – Определяне радиочувствителността на сортове суданска трева към въздействието на различни дози гама-лъчи**

Облъчвани са сухи семена в дози 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000 Gy и след това накисвани във вода за 30 min и подсушавани до сеитбата им. За контрола са използвани не облъчени семена от всеки сорт.

**4.3.1.1. При лабораторни условия** – За всеки вариант са залагани в петриеве блюда по 100 семена в пет повторения и инкубирани в термостат при  $22^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ , на тъмно за осем дни. Отчитани са: лабораторна кълняемост, в %; дължина (cm) и маса (g) на кълна и корена, чрез измерване/претегляне на 30 растения в пет повторения. Определяна е скоростта на нарастване ( $K/cm/t_8$ ), cm и натрупване ( $K/g/t_8$ ) на свежа биомаса, в g за един кълн и корен; индекс на развитие на растенията ( $G/I$ ) и  $LD_{50}$ , Gy.

**4.3.1.2. При оранжерийни условия** – Заложени са два съдови опита в стоманено-стъклена оранжерия върху стоманено-бетонни плотове.

-*Опит I* – За всеки вариант са засявани в пет повторения по 200 броя семена. Определяна е кълняемостта и преживяемостта на растенията от поникване до 8<sup>-ия</sup>, 16<sup>-ия</sup> и 24<sup>-ия</sup> ден, в % от съответния контролен вариант и  $LD_{50}$ .

-*Опит II* – За всеки вариант са засявани в пет повторения по 200 броя семена. Определяни са дължина (cm) и маса (g) на кълна и корена, чрез измерване/претегляне на 50 растения в пет повторения от поникване до 8<sup>-ия</sup>, до 16<sup>-ия</sup> ден и до 24<sup>-ия</sup> ден и индекс на развитие на растенията ( $G/I$ ).

**4.3.1.3. При полски условия** – От трите сорта суданска трева двукратно (2007–2008 г.) са облъчвани по 1000 броя сухи семена. Полските опити са залагани по стандартния метод (Шанин, 1977) с последователно нареждане на сортовете и вариантите, като са засявани ръчно по 500 семена в 2 повторения в лехи с ширина 2 m при междуредово разстояние 45/5 cm. Отчитани са: полска кълняемост в %, преживяемост в %; стерилност в % спрямо контролните варианти; височина на централното стъбло, cm (25 растения в 4 повторения за вариант); братимост, бр. братя и височина на братята, cm и е определяно  $LD_{50}$ . Преживяемостта на растенията и височината на централното стъбло са определяни по фенофази (ВВСН–13, 15, 17, 47, 65 и 89) от развитието на културата (Stauss, 1994).

**4.3.1.4. Анализ на хромозомните аберации** – Отчитането на честотата и спектъра на хромозомните аберации е извършено в периода късна анафаза-ранна телофаза на първия митотичен цикъл на кореновите меристемни клетки след облъчването (анафазен метод), в приготвени скваш препарати, след оцветяване на хромозомите по Feulgen (Nicoloff and Gecheff, 1976).

Цитогенетичните изследвания и документацията на резултатите от тях са проведени с микроскоп "Olympus BX41.

Въз основа получените резултати от изведените лабораторни, съдови и полски опити, направената комплексна оценка на радиочувствителността и определените стойности на LD<sub>50</sub> на трите сорта суданска трева е подбран набор от дози за облъчване на семена и извеждане на полски опити.

#### **4.3.2. Втори етап - обогатяване на генетичното разнообразие при суданската трева чрез индуциране на мутации с гама-лъчи.**

**4.3.2.1. Отглеждане на M<sub>1</sub> поколение** – Облъчвани са двукратно (2008 и 2010 г.) по 1000 броя сухи семена от трите сорта суданска трева с четири дози гама-лъчи – 100, 200, 300 и 400 Gy, като са засявани ръчно по 500 семена в две повторения в лехи с ширина 2 m при междуредово разстояние 45/5 cm. Полските опити са залагани по стандартния метод (Шанин, 1977) с последователно нареждане на сортовете и вариантите. За контроли са използвани същото количество необлъчени сухи семена. Преди цъфтежа при всички варианти са поставяни хартиени изолатори за предотвратяване на чуждо опрашване. Изолираните растения са прибирани индивидуално за размножаване във второ мутантно поколение (M<sub>2</sub>) по потомства. Отчитани са следните показатели спрямо контролните варианти: Полска кълняемост, %; Преживаемост, %; Стерилност, %; Радиоморфози, %.

Извършван е биометричен анализ на 100 растения от всеки вариант по следните признаци: Височина на централното стъбло, cm; Дължина на метлицата, cm; Маса на метлицата, g; Маса на зърната от една метлица, g; Маса на оронената метлица, g; Брой зърна в една метлица, бр. Резултатите от измерванията на количествените признаци на растенията в M<sub>1</sub> са обработени статистически. Проучена е взаимовръзката между изменчивостта в първо мутантно поколение и честотата на индуцираните мутационни изменения във второ мутантно поколение по Костина, (2000), чрез корелационен анализ.

**4.3.2.2. Отглеждане на M<sub>2</sub> поколение** – Засявани са ръчно потомствата на 200 M<sub>1</sub> растения от вариант, на лехи с ширина 2 m, при разстояние 45/5 cm. Изходните сортове са поставяни през 10 реда за сравнение. По време на вегетацията са маркирани всички растения с явни изменения от изходните сортове. Честотата на мутациите е изчислена въз основа брой мутации на 100 M<sub>1</sub> растения и брой мутанти на 100 M<sub>2</sub> растения (Gaul, 1964). Хлорофилните мутации са определяни по Прийлинн и др. (1976). Определена е достоверността на разликите между честотата на мутиране и контролните варианти, както и ефективност, ефикасност и коефициент на ефективност на гама-лъчите.

**4.3.2.3. Отглеждане на M<sub>3</sub> поколение** – Маркираните в M<sub>2</sub> растения са прибирани индивидуално и са презасявани ръчно в M<sub>3</sub> поколение, за установяване характера на измененията (мутационен или модификационен).

**4.3.2.4. Характеристика на мутантни форми** – Мутантните форми потвърдили в M<sub>3</sub> признаците, според които са отбрани, са презасявани в M<sub>4</sub> (2011 година) за характеристика в сравнителен опит заложен по стандартния метод на площ от 1m<sup>2</sup> в 3 повторения. За контроли са използвани изходните сортове. През вегетацията върху 50 рандомизирани растения от всеки мутант за всеки сорт по повторения са извършени фенологични наблюдения по ВВСН скалата на Stauss (1994) при фенофази отваряне на флаговия лист (ВВСН-47), и физиологична зрелост (ВВСН-89). Отчитани са количествените признаци: Височина на централното стъбло (ВВСН-47 и 89), cm; Свежа биомаса на едно

растение (ВВСН-47 и 89), g; Облистеност, брой листа; Ширина и дължина на листната петура, cm и листна повърхност средно за един лист,  $cm^2$  (ВВСН-47); Дължина на метлица, cm; Маса на метлица, g; Маса на зърното от една метлица, g; Маса на оронена метлица, g. Използвайки осреднените данни от количествените признаци е извършено кластеризиране на мутантните форми по сходство. Определени са съдържание на суров протеин (СП), % - по класическия метод на Келдал (Сандев, 1979); фосфор, % СВ – по ванадат-молибдатния метод на Герике и Кумис (Сандев, 1979); калций, % СВ – комплексометрично (Сандев, 1979); сурови влакнини, (СВл), % СВ – Weende анализ (Сандев, 1979); водоразтворими захари, (ВРЗ), % (Ермаков и др. 1987) и смилаемост *in vitro* на сухото вещество % СВ – (De Boever *et al.*, 1986) в надземната биомаса на мутантни форми суданската трева.

#### **4.4. Математико-статистическа обработка на експерименталните данни**

**4.4.1. Използвани индекси и критерии** – Скорост на нарастване ( $K/cm/t_8$ ), cm и натрупване ( $K/g/t_8$ ), g на свежа биомаса по Mamonov and Kim (1978); Индекс на развитие на растенията (GI) по Gariglio *et al.* (2002); Индекс на аридност по de Marton (по Кузмова, 2003) и по Ped (по Koleva *et al.*, 1998); Ефективност и ефикасност на дозите гама-лъчи по Konzak *et al.*, 1965; Коефициент на ефективност (С.Е.) по Krausse (по Вълкова, 1997):

**4.4.2. Статистически методи за анализ** – Достоверността на разликите е определяна чрез „F $\phi$ ” критерия на Фишер (Плохинский, 1967); LD<sub>50</sub>, Gy е определяна с програмният продукт TRIMED SPEARMAN KARBET METHOD, Ver. 1.5 (Hamilton *et al.*, 1978); Резултатите от биометричните измервания на количествените признаци са обработени чрез еднофакторни, двуфакторни и трифакторни дисперсионни анализи със софтуерните продукти: MS/DOS – QUATRO - PS, ver. 1.0; MS/DOS – STDTA; BIOSTAT, ver. 1.0 (Пенчев и кол., 1989-91); STATGRAPHICS Plus for Windows Ver. 2.1; Силата на влияние на факторите при достоверен факторен вариант е определяна чрез  $\eta^2$  (Плохинский, 1967 и Лидански, 1988); Корелационните, регресионните и детерминационни анализи, множествената линейна регресия (Лидански, 1989) и йерархичният кластерен анализ (Hair *et al.*, 1987) са извършени с помощта на STATGRAPHICS Plus for Windows Ver. 2.1; MS/DOS – STDTA. При йерархичният кластерен анализ като мярка за различие е използвано Евклидовото разстояние, с предварителна стандартизация на данните.

**4.5. Агрометеорологични показатели** – Средноденонощна температура на въздуха (t), °C; Количество на валежите (R), mm; Относителна влажност на въздуха (V), %; За определяне аридността през годините на проучване са използвани индекс на de Marton и индекс на Ped.

Всички снимки, които са използвани в дисертацията са оригинални.

### **5. ПОЧВЕНО – КЛИМАТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗА РАЙОНИТЕ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО**

Направена е кратка почвено-климатична характеристика на районите и метеорологичните условия по време на проучването.

## 6. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

### 6.1. Определяне радиочувствителността на сортове суданска трева към въздействието на различни дози гама-лъчи

#### 6.1.1. При лабораторни условия

Приложените в широк диапазон дози гама-лъчи (200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800 и 2000 Gy) не оказват статистически значим ефект върху лабораторната кълняемост на семената от проучваните сортове суданска трева, която варира от 89.36 до 101.06% спрямо съответните контролни варианти (Табл. 1).

**Таблица 1.** Лабораторна кълняемост при различни сортове суданска трева в зависимост от дозите на облъчване на семената с гама-лъчи, спрямо контролния вариант, %

Дози, Gy	Сортове								
	Kazitachi			Vercors			Воронежская 9		
	Кълняемост,%	<i>Fφ</i>	LD <sub>50</sub>	Кълняемост,%	<i>Fφ</i>	LD <sub>50</sub>	Кълняемост,%	<i>Fφ</i>	LD <sub>50</sub>
200	100.53	0.00 <sup>NS</sup>		97.92	0.60 <sup>NS</sup>		100.00	0.00 <sup>NS</sup>	
400	101.06	0.00 <sup>NS</sup>		97.92	0.60 <sup>NS</sup>		97.96	0.57 <sup>NS</sup>	
600	99.47	0.27 <sup>NS</sup>		100.0	0.00 <sup>NS</sup>		97.96	0.57 <sup>NS</sup>	
800	97.87	0.60 <sup>NS</sup>		99.45	0.27 <sup>NS</sup>		98.98	0.28 <sup>NS</sup>	
1000	98.94	0.31 <sup>NS</sup>	*	98.44	0.46 <sup>NS</sup>	*	99.49	0.30 <sup>NS</sup>	*
1200	97.34	0.77 <sup>NS</sup>		97.40	0.74 <sup>NS</sup>		99.49	0.30 <sup>NS</sup>	
1400	94.68	1.53 <sup>NS</sup>		96.35	1.03 <sup>NS</sup>		99.49	0.30 <sup>NS</sup>	
1600	96.28	1.06 <sup>NS</sup>		94.27	1.64 <sup>NS</sup>		101.02	0.00 <sup>NS</sup>	
1800	94.15	1.67 <sup>NS</sup>		97.40	0.74 <sup>NS</sup>		99.49	0.30 <sup>NS</sup>	
2000	89.36	3.11 <sup>**</sup>		96.88	0.89 <sup>NS</sup>		94.90	1.47 <sup>NS</sup>	

\* $P_{(t \text{ crit. } 2.0)} = 0.05$ ; \*\* $P_{(t \text{ crit. } 2.6)} = 0.01$ ; \*\*\* $P_{(t \text{ crit. } 3.3)} = 0.001$ ; NS - статистически недоказани разлики

Установена е слаба корелационна зависимост между лабораторната кълняемост и приложените дози гама-лъчи при Воронежская 9 ( $r$  е -0.277), при Vercors  $r$  е -0.678, а при Kazitachi  $r$  е -0.896. И при трите сорта суданска трева не е установено статистически доказано 50% намаление на лабораторната кълняемост на семената спрямо приложените дози гама-лъчи, което прави невъзможно изчисляването на LD<sub>50</sub> при лабораторни условия. Изследването на този показател е неефективно да се използва за определяне на диапазона от дози за целите на мутационната селекция на суданската трева.

За разлика от отчетената висока кълняемост на семената, нарастването на първичния кълн и корен се потиска с увеличаване дозите на облъчване (Табл. 2). Дължината на кълна и при трите сорта суданска трева достоверно намалява с увеличаване дозите на облъчване, като това най-силно е изразено при Kazitachi и най-слабо при Vercors. При дози над 400 Gy, дължината на корена доказано намалява при Kazitachi и Vercors, а над 200 Gy при Воронежская 9. Потискащият ефект на гама-лъчите се изразява и в доказаното намаляване на теглото на кълна и корена.

Скоростта на нарастване и натрупване на свежа биомаса, както и индексът на първоначалното развитие на растенията (GI) са с най-ниски стойности при 200 Gy и непропорционално намаляват с увеличаване дозата на облъчване (Табл. 3). Установена е отрицателна корелационна зависимост между дозите на облъчване и скоростта на нарастване ( $r$  варира от -0.846 до -0.855) и натрупване на свежа биомаса ( $r$  варира от -0.718 до -0.767).

**Таблица 2.** Влияние на дозите на облъчване на семената върху нарастването (cm) и натрупването (g) на свежа биомаса при кълна и корена при суданска трева

Дози, Gy	Сорт	Показатели							
		Дължина				Тегло			
		Кълн		Корен		Кълн		Корен	
		cm	%	cm	%	g	%	g	%
0	Kazitachi	15.47e	100.0	7.77d	100.0	0.068c	100.0	0.042b	100.0
200		10.35d	66.9	7.51d	96.7	0.046bc	67.5	0.015a	35.7
400		8.49c	54.9	4.46c	57.4	0.033ab	48.5	0.005a	11.9
600		4.66b	30.1	2.41b	31.0	0.020ab	29.4	0.003a	7.1
800		3.20ab	20.7	1.82ab	23.5	0.014a	20.6	0.004a	9.5
1000		2.86ab	18.5	1.83ab	23.6	0.013a	19.1	0.004a	9.5
1200		2.35a	15.2	1.60ab	20.6	0.011a	16.2	0.002a	4.8
1400		2.35a	15.2	1.45ab	18.6	0.010a	14.7	0.003a	7.1
1600		2.2a	14.3	1.42ab	18.3	0.010a	14.7	0.002a	4.8
1800		2.13a	13.8	1.46ab	18.8	0.010a	14.7	0.003a	7.1
2000		2.04a	13.2	1.27a	16.3	0.010a	14.7	0.002a	4.8
0	Vercors	10.91e	100.0	10.90d	100.0	0.100d	100.0	0.024c	100.0
200		11.15e	102.2	10.66d	97.8	0.052c	52.0	0.011b	45.8
400		7.90c	72.4	5.64c	51.7	0.033b	33.0	0.007ab	29.1
600		4.30c	39.4	3.36b	30.8	0.020a	20.0	0.004a	16.7
800		3.88bc	35.6	2.69ab	24.7	0.016a	16.0	0.003a	12.5
1000		2.96abc	27.1	2.31ab	21.2	0.012a	12.0	0.003a	12.5
1200		2.99abc	27.4	2.17ab	19.9	0.015a	15.0	0.004a	16.7
1400		2.77abc	25.4	1.98a	18.2	0.014a	14.0	0.004a	16.7
1600		2.54abc	23.3	1.84a	16.9	0.012a	12.0	0.004a	16.7
1800		2.10a	19.2	1.52a	13.9	0.010a	10.0	0.004a	16.7
2000		2.33ab	21.4	1.78a	16.3	0.011a	11.0	0.004a	16.7
0	Воронежская 9	13.72e	100.0	10.68c	100.0	0.112d	100.0	0.026b	100.0
200		11.38d	82.9	7.17b	67.1	0.057c	50.9	0.013ab	50.0
400		9.01c	65.7	6.87b	64.3	0.041b	36.6	0.010a	38.5
600		4.57b	33.3	2.71a	25.4	0.021a	18.8	0.005a	19.2
800		3.33ab	24.2	1.99a	18.6	0.017a	15.2	0.004a	15.4
1000		3.00ab	21.8	1.84a	17.2	0.014a	12.5	0.008a	30.8
1200		2.71ab	19.7	1.63a	15.3	0.013a	11.6	0.010a	38.5
1400		2.31ab	16.8	1.54a	14.4	0.013a	11.6	0.004a	15.4
1600		2.02a	14.7	1.39a	13.0	0.011a	9.8	0.004a	15.4
1800		2.18a	15.9	1.48a	13.9	0.011a	9.8	0.004a	15.4
2000		2.16a	15.7	1.38a	12.9	0.011a	9.8	0.003a	11.5

a, b, c, d, e - статистически доказани разлики при P=0.01

**Таблица 3.** Индекс на развитие (GI), скорост на нарастване (K/cm/t<sub>8</sub>) и натрупване на свежа биомаса (K/g/t<sub>8</sub>) на кълна и корена при суданска трева в зависимост от дозите на облъчване при лабораторни условия

Дози, Gy	Сортове								
	Kazitachi			Vercors			Воронежская 9		
	K/cm/t <sub>8</sub>	K/g/t <sub>8</sub>	GI	K/cm/t <sub>8</sub>	K/g/t <sub>8</sub>	GI	K/cm/t <sub>8</sub>	K/g/t <sub>8</sub>	GI
0	2.904	0.0014	100.00	2.726	0.0155	100.00	3.050	0.0178	100.00
200	2.233	0.0006	77.29	2.727	0.0078	97.95	2.319	0.0087	76.03
400	1.620	0.0005	56.35	1.693	0.0049	60.79	1.984	0.0063	63.74
600	0.884	0.0003	30.27	0.957	0.0030	35.12	0.911	0.0032	29.25
800	0.627	0.0002	21.14	0.821	0.0023	29.68	0.665	0.0027	21.56
1000	0.587	0.0002	19.98	0.658	0.0018	23.77	0.604	0.0027	19.72
1200	0.493	0.0002	16.53	0.645	0.0024	21.94	0.542	0.0028	17.69
1400	0.475	0.0002	15.49	0.594	0.0022	20.97	0.481	0.0021	15.69
1600	0.444	0.0002	15.24	0.547	0.0020	18.93	0.426	0.0018	14.10
1800	0.460	0.0002	14.39	0.452	0.0017	16.14	0.457	0.0019	14.91
2000	0.413	0.0002	12.70	0.514	0.0018	18.27	0.443	0.0016	13.77

## 6. 1. 2. При оранжерийни условия

Резултатите от проучванията показват, че депресирацията, както и леталният ефект на гама-лъчите зависи от продължителността на вегетацията и условията на отглеждане (Табл. 4). Относително високата преживяемост на растенията до 8<sup>-ия</sup> ден след поникване запазваща се при най-високите дози (от 84.97 до 77.78%) и при трите сорта не позволява определянето на LD<sub>50</sub>.

**Таблица 4.** Динамика на преживяемост на растенията при оранжерийни условия в зависимост от дозите на облъчване на семената с гама-лъчи, спрямо контролните варианти, %

Преживяемост от поникване до:	Gy	Сортове								
		Kazitachi			Vercors			Воронежская 9		
		%	F $\phi$	LD <sub>50</sub>	%	F $\phi$	LD <sub>50</sub>	%	F $\phi$	LD <sub>50</sub>
8 <sup>-ия</sup> ден	200	99.42	0.38 <sup>NS</sup>		100	0.00 <sup>NS</sup>		96.89	1.25 <sup>NS</sup>	
	400	98.84	0.48 <sup>NS</sup>		97.88	0.85 <sup>NS</sup>		96.37	1.46 <sup>NS</sup>	
	600	97.09	1.17 <sup>NS</sup>		94.18	2.37*		90.16	4.06***	
	800	98.84	0.48 <sup>NS</sup>		91.53	3.50***		89.64	4.31***	
	1000	90.12	4.10***	*	93.12	2.83**	*	86.01	5.88***	*
	1200	93.61	2.61**		93.12	2.83**		88.60	4.74***	
	1400	92.44	3.12**		92.59	3.04**		86.01	5.88***	
	1600	88.37	4.83***		92.06	3.25**		92.23	3.20**	
	1800	90.12	4.10***		91.53	3.50***		84.46	6.55***	
	2000	82.56	7.41***		77.78	9.63***		84.97	6.33***	
16 <sup>-ия</sup> ден	200	99.42	0.38 <sup>NS</sup>		100	0.00 <sup>NS</sup>		96.89	1.25 <sup>NS</sup>	
	400	98.84	0.48 <sup>NS</sup>		97.88	0.85 <sup>NS</sup>		96.37	1.46 <sup>NS</sup>	
	600	54.07	22.16***		93.12	2.83**		69.95	13.44***	
	800	35.47	34.78***		26.46	42.44***		26.43	42.53***	
	1000	18.61	50.62***	684.9	22.75	46.05***	768.2	9.33	63.59***	674.7
	1200	8.14	65.95***		12.17	58.95***		2.07	81.26***	
	1400	2.91	70.36***		3.18	77.39***		0	98.70***	
	1600	1.16	94.39***		0	98.70***		0	98.70***	
	1800	0	98.70***		0	98.70***		0	98.70***	
	2000	0	98.70***		0	98.70***		0	98.70***	
24 <sup>-ия</sup> ден	200	99.42	0.39 <sup>NS</sup>		100	0.00 <sup>NS</sup>		96.89	1.25 <sup>NS</sup>	
	400	98.84	0.48 <sup>NS</sup>		97.88	0.85 <sup>NS</sup>		96.37	1.46 <sup>NS</sup>	
	600	36.05	34.32***		43.39	29.01***		69.95	13.44***	
	800	4.07	74.74***		3.18	77.39***		9.85	62.57***	
	1000	0	98.70***	557.7	0	98.70***	567.4	0	98.70***	653.7
	1200	0	98.70***		0	98.70***		0	98.70***	
	1400	0	98.70***		0	98.70***		0	98.70***	
	1600	0	98.70***		0	98.70***		0	98.70***	
	1800	0	98.70***		0	98.70***		0	98.70***	
	2000	0	98.70***		0	98.70***		0	98.70***	

\*P<sub>(t crit. 2.0)</sub> = 0.05 ; \*\*P<sub>(t crit. 2.6)</sub> = 0.01; \*\*\*P<sub>(t crit. 3.4)</sub> = 0.001; NS - статистически недоказани разлики

С удължаване периода на вегетация до 16<sup>-ия</sup> ден след поникване, преживяемостта намалява с увеличаване дозата на гама-лъчите с изразени генотипни различия. При сорт Воронежская 9 дозата над 1200 Gy предизвиква 100% загиване на растенията, при Vercors над 1400 Gy, а при Kazitachi над 1600 Gy. Стойностите на LD<sub>50</sub> варират в границите от 674.7 до 768.2 Gy. На 24<sup>-ия</sup> ден след поникване и при трите сорта са наблюдават живи, в различна степен подтиснати в развитието си растения (Табл. 4). Дози над 800 Gy предизвикват пълна леталност при всички сортове. Установени са линейни зависимости между приложените дози гама-лъчи и преживяемостта при оранжерийни



условия. Най-радиочувствителен е сорт Казитачи с LD<sub>50</sub>=557.7 Gy, следван от Vercors (LD<sub>50</sub>=567.4 Gy) и най-радиоустойчив – Воронежская 9 (LD<sub>50</sub>=674.7 Gy).

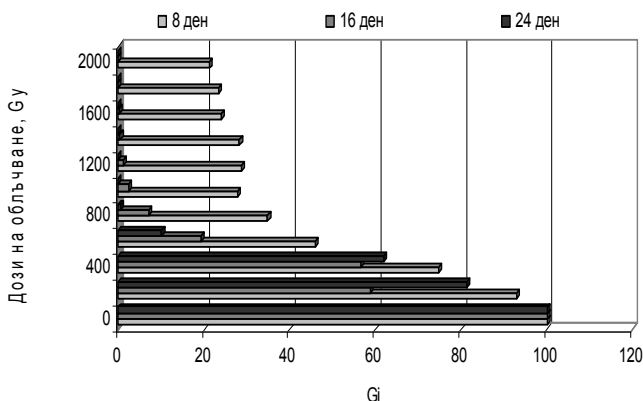
Динамиката на нарастване и натрупване на свежа биомаса за едно растение е обратно пропорционална на приложените дози гама-лъчи в зависимост от сорта и продължителността на развитие на растенията (Табл. 5). До 8<sup>-ия</sup> ден дължината на кълна и корена намалява от 6.7 до 82.0% с увеличаване на дозите гама-лъчи, спрямо контролните варианти (*r* е от -0.856 до -0.971). На 24<sup>-ия</sup> ден, депресирацията ефект върху нарастването се засилва, като разликите са статистически доказани (*P*=0.05), а *r* варира от -0.827 до -0.866. Потискането на началния растеж е силно изразено при най-високите дози гама-лъчи. Теглото на свежата биомаса (кълн и корен) следва установената тенденция при динамиката на нарастване, която е в отрицателна корелационна зависимост, спрямо дозите гама-лъчи и при трите отчетни дати (*r* е от -0.826 до -0.940).

**Таблица 5.** Влияние на дозите на облъчване на семената с гама-лъчи върху нарастването и натрупването на свежа биомаса (кълн и корен) при суданска трева

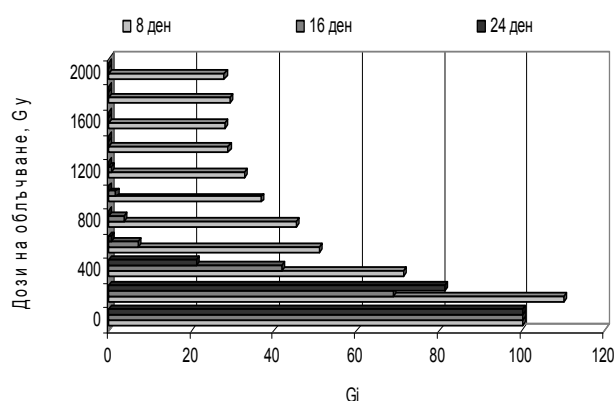
Дози Gy	Начален растеж от поникване до:											
	8 <sup>-ия</sup> ден				16 <sup>-ия</sup> ден				24 <sup>-ия</sup> ден			
	cm	%	g	%	cm	%	g	%	cm	%	g	%
Kazitachi												
0	13.13d	100	0.058d	100	31.15f	100	0.128d	100	65.29e	100	0.300e	100
200	12.25d	93.3	0.049c	84.5	18.37e	59.0	0.098c	76.6	53.35d	81.7	0.285d	95.0
400	9.93c	75.6	0.042c	72.4	17.85e	57.3	0.100c	78.1	40.86c	62.6	0.268c	89.3
600	6.21b	47.3	0.021b	36.2	11.14d	35.8	0.061b	47.7	18.19b	27.9	0.116b	38.7
800	4.62a	35.2	0.011a	19.0	6.28c	20.2	0.048b	37.5	7.63a	11.7	0.056a	18.7
1000	4.03a	30.7	0.013ab	22.4	4.19b	13.5	0.016a	12.5	-	-	-	-
1200	4.02a	30.6	0.014ab	24.1	4.04b	13.0	0.016a	12.5	-	-	-	-
1400	4.01a	30.5	0.015ab	25.9	4.01b	12.9	0.015a	11.7	-	-	-	-
1600	3.55a	27.0	0.013a	22.4	3.62ab	11.6	0.014a	10.9	-	-	-	-
1800	3.40a	25.9	0.012a	20.7	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	3.38a	25.7	0.012a	20.7	-	-	-	-	-	-	-	-
Vercors												
0	12.51e	100	0.063d	100	33.52e	100	0.138d	100	70.90e	100	0.397e	100
200	13.84e	110.6	0.067d	106.3	23.58d	70.3	0.132d	95.7	58.95d	83.1	0.319d	80.4
400	9.03d	72.2	0.042c	66.7	15.01c	44.8	0.075c	54.3	34.50c	48.7	0.212c	53.4
600	6.56c	52.4	0.031b	49.2	8.91b	26.6	0.050b	36.2	9.94b	14.0	0.077b	19.4
800	5.22abc	41.7	0.023ab	36.5	5.31a	15.8	0.025a	18.1	5.64a	8.0	0.025a	6.30
1000	5.11abc	40.8	0.021a	33.3	5.18a	15.5	0.022a	15.9	-	-	-	-
1200	4.30ab	34.4	0.016a	25.4	4.30a	12.8	0.023a	16.7	-	-	-	-
1400	3.90a	31.2	0.016a	25.4	3.97a	11.8	0.017a	12.3	-	-	-	-
1600	3.97a	31.7	0.019a	30.2	-	-	-	-	-	-	-	-
1800	4.08ab	32.6	0.017a	27.0	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	4.23ab	33.8	0.016a	25.4	-	-	-	-	-	-	-	-
Воронежская 9												
0	25.96d	100	0.111e	100	34.63e	100	0.186e	100	78.20e	100	0.366d	100
200	16.57c	87.4	0.088d	79.3	30.26d	87.4	0.122d	65.6	72.60d	92.8	0.330c	90.2
400	10.29b	54.3	0.061c	55.0	20.58c	59.4	0.096c	51.6	44.70c	57.2	0.319c	87.2
600	5.86a	30.9	0.033b	29.7	10.58b	30.6	0.061b	32.8	21.84b	27.9	0.142b	38.8
800	4.58a	24.2	0.024ab	21.6	4.75a	13.7	0.024a	12.9	7.83a	10.0	0.037a	10.1
1000	4.72a	24.9	0.021ab	18.9	4.71a	13.6	0.021a	11.3	-	-	-	-
1200	4.49a	23.7	0.020ab	18.0	4.48a	12.9	0.017a	9.1	-	-	-	-
1400	4.01a	21.1	0.020ab	18.0	-	-	-	-	-	-	-	-
1600	3.84a	20.3	0.020ab	18.0	-	-	-	-	-	-	-	-
1800	3.46a	18.2	0.013a	11.7	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	3.42a	18.0	0.010a	9.0	-	-	-	-	-	-	-	-

*a, b, c, d, e* – статистически доказани разлики при *P*=0.05

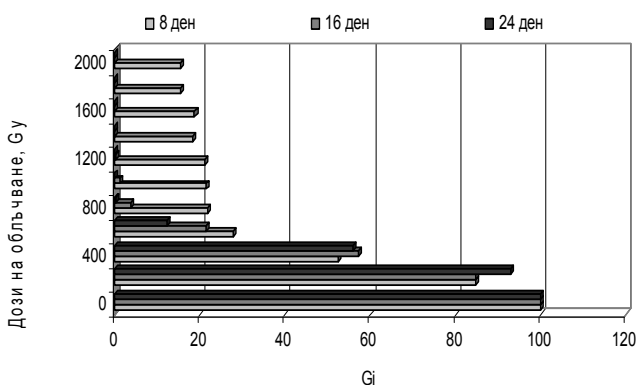
Индексът на първоначално развитие на растенията (GI) следва установените зависимости по отношение депресирацията ефект на приложените гамалъчи върху развитието на растенията при оранжерийни условия (Фиг. 1, 2 и 3).



**Фигура 1.** Индекс на развитие (GI) при сорт Kazitachi



**Фигура 2.** Индекс на развитие (GI) при сорт Vercors

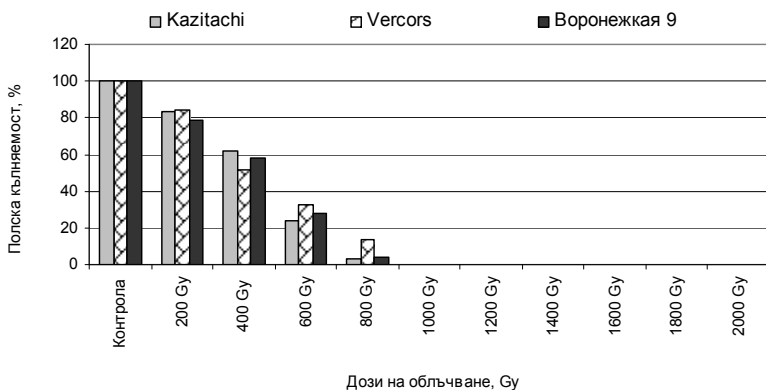


**Фигура 3.** Индекс на развитие (GI) при сорт Воронежская 9

До 8<sup>-ия</sup> ден след поникване, единствено при най-ниската доза (200Gy) не се отчита депресия в развитието на растенията, изразено чрез проучвания показател (GI > 80% -Tiquia *et al.*, 1996). На 16<sup>-ия</sup> ден при всички варианти на опита е на лице потискащ ефект на гама-лъчите, докато на следващата дата (24<sup>-ия</sup> ден) и при трите сорта е отчетена известна компенсация в развитието, което не дава представа за тяхното по-нататъшно развитие и преживяване.

### 6. 1. 3. При полски условия

При полски условия, процентът на поникналите растения намалява при всички сортове с увеличаване дозите на облъчване от 200 до 2000 Gy (Фиг. 4), с най-голямо понижение при сорт Kazitachi (с 97% при доза 800 Gy), следван от Воронежская 9 (96.0%) и Vercors (86.7%). Наличието на поникнали растения при дозите от 800 Gy, определя стойности на LD<sub>50</sub> при Kazitachi - 420.30 Gy, Vercors - 410.27 Gy и Воронежская 9 – 414.89 Gy.



**Фигура 4.** Влияние на гамалъчите върху полската къльняемост при суданска трева средно за периода 2007-2008 година

Биологичното въздействие на гама-лъчите върху преживяемостта на растенията по фенофази нараства с удължаване периода на вегетация при всички проучвани сортове (Табл. 6). Намалението на преживяемостта е най-силно изразено от поникване (ВВСН-09) до фенофаза седми лист (ВВСН-17) при всички сортове. С удължаване периода на вегетация до фенофаза ВВСН-47, дозите над 400 Gy предизвикват пълна леталност.

**Таблица 6.** Влияние на гама-лъчите върху преживяемостта и LD<sub>50</sub> по фенофази от развитието на суданската трева при суданска трева – средно за 2007-2008 г.

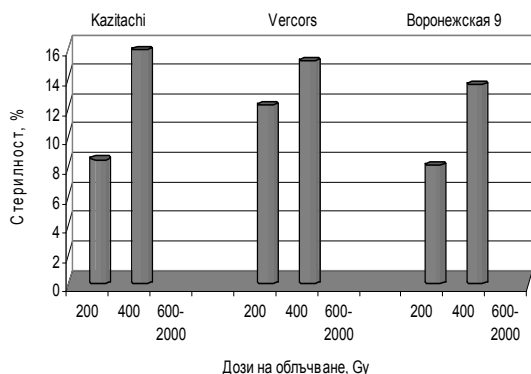
Фенофази от поникване (ВВСН-09) до:	Gy	сортове											
		Kazitachi				Vercors				Воронежская 9			
		бр	%	Fφ	LD <sub>50</sub> Gy	бр	%	Fφ	LD <sub>50</sub> Gy	бр	%	Fφ	LD <sub>50</sub> Gy
ВВСН-13	0	767	100	0.00	400.4	815	100	0.00	370.1	806	100	0.00	376.5
	200	607	79.1	16.60**		664	81.5	15.12***		618	76.7	18.98***	
	400	454	59.2	32.43***		405	49.7	40.90***		428	53.1	38.06***	
	600	126	16.4	55.40***		137	16.8	57.14***		135	16.7	56.86***	
	800-2000	0	0.00	0.00***		0	0.00	0.00		0	0.00	0.00	
ВВСН-15	К	749	100	0.00	382.8	800	100	0.00	362.6	792	100	0.00	355.0
	200	534	71.3	22.57***		648	81.0	15.40***		596	75.3	19.96***	
	400	421	56.2	34.35***		394	49.3	40.81***		387	48.9	40.91***	
	600	79	10.5	52.06***		71	8.9	51.92***		88	11.1	53.96***	
	800-2000	0	0.00	0.00		0	0.00	0.00		0	0.00	0.00	
ВВСН-17	К	739	100	0.00	341.4	796	100	0.00	347.4	785	100	0.00	343.5
	200	501	67.8	25.16***		600	75.4	19.92***		583	74.3	20.68***	
	400	355	48.0	40.18***		380	47.7	41.92***		369	47.0	42.13***	
	600	45	6.1	45.48***		24	3.0	37.66***		18	2.3	33.76***	
	800-2000	0	0.00	0.00		0	0.00	0.00		0	0.00	0.00	
ВВСН-47	К	739	100	0.00	316.2	796	100	0.00	339.8	785	100	0.00	333.2
	200	471	63.7	28.36***		589	74.0	21.07***		564	71.8	22.71***	
	400	327	44.2	42.85***		368	46.2	43.03***		354	45.1	43.51***	
	600	0	0.00	0.00		0	0.00	0.00		0	0.00	0.00	
	800-2000	0	0.00	0.00		0	0.00	0.00		0	0.00	0.00	
ВВСН-65	К	739	100	0.00	316.2	796	100	0.00	339.8	785	100	0.00	333.2
	200	471	63.7	28.36***		589	74.0	21.07***		564	71.8	22.71***	
	400	327	44.2	42.85***		368	46.2	43.03***		354	45.1	43.51***	
	600	0	0.00	0.00		0	0	0.00		0	0.00	0.00	
	800-2000	0	0.00	0.00		0	0	0.00		0	0.00	0.00	
ВВСН-89	К	739	100	0.00	316.2	796	100	0.00	339.8	785	100	0.00	333.2
	200	471	63.7	28.36***		589	74.0	21.07***		564	71.8	22.71***	
	400	327	44.2	42.85***		368	46.2	43.03***		354	45.1	43.51***	
	600	0	0.00	0.00		0	0.00	0.00		0	0.00	0.00	
	800-2000	0	0.00	0.00		0	0.00	0.00		0	0.00	0.00	

\* $P_{(t \text{ crit. } 2.0)} = 0.05$ ; \*\* $P_{(t \text{ crit. } 2.6)} = 0.01$ ; \*\*\* $P_{(t \text{ crit. } 3.3)} = 0.001$ ; LD<sub>50</sub> при  $P = 0.05$

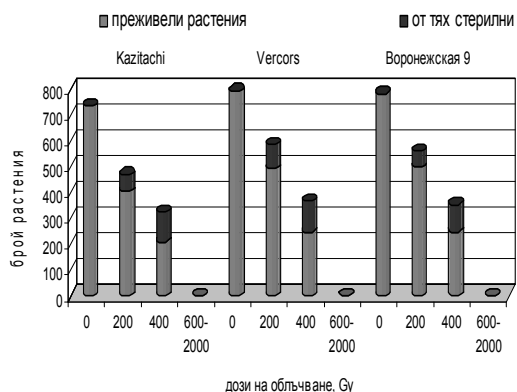
В края на вегетацията са отчетени преживели растения при дози от 200 (от 63.7 до 74.0%) и 400 Gy (от 44.2 до 45.1%), които доказано намаляват спрямо контролните варианти при всички сортове. Стойностите на LD<sub>50</sub> намаляват в зависимост от дозите на облъчване, като с най-силна

радиочувствителност е сорт Kazitachi ( $LD_{50}=316.2$  Gy), докато Воронежская 9 ( $LD_{50}=333.8$  Gy) и Vercors ( $LD_{50}=339.8$  Gy) са по-радиоустойчиви. Тези данни дават ценна информация при избора на оптимална доза за облъчване на сухи семена за целите на мутационната селекция конкретно при тези сортове.

Гама-лъчите влияят отрицателно и върху фертилността на суданската трева, което е чувствителен и стабилен критерий за определяне мутагенното въздействие на гама-лъчите (Фиг. 5). При всички сортове се установява линейна зависимост „доза-ефект”, т. е. с увеличаване на дозите на облъчване, доказано се увеличава и процентът на стерилните растения спрямо контролните варианти. При най-високата доза с преживели растения (400 Gy) и при трите сорта, стерилността съставлява до 1/3 от общият им брой (Фиг. 6).



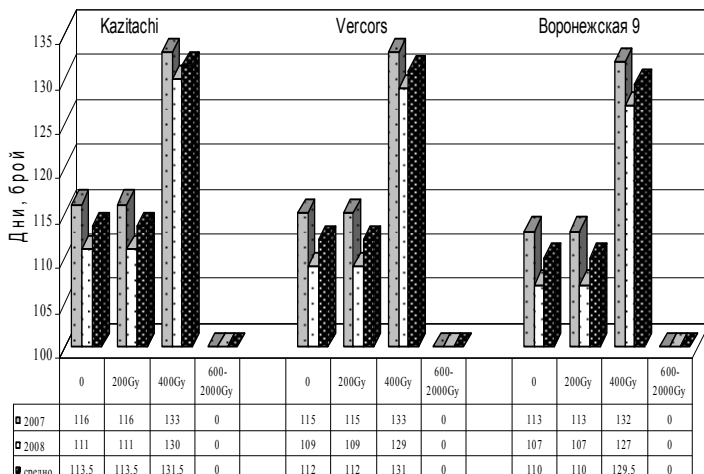
**Фигура 5.** Влияние на гама-лъчите върху стерилността при суданска трева средно за периода 2007-2008 година, %



**Фигура 6.** Количествени съотношения между фертилни и стерилни растения при суданска трева в зависимост от мутагенното въздействие на гама-лъчите – средно за 2007-2008 г.

Според този биологичен критерий, сортовете условно могат да се подредят в следния низходящ ред: най-чувствителен е сорт Kazitachi (15.83% стерилност), следван от Vercors (15.06%) и Воронежская 9 (13.50%). При диплоидните видове, каквато е суданската трева по-високите дози гама-лъчи водят до значително понижение на фертилността, което е от съществено значение при оптимизиране на експерименталните дози за работа и определяне обема на  $M_1$  поколение (Parry, 2009).

При трите сорта с повишаване дозите на облъчване над 200 Gy се наблюдава тенденция за удължаване на вегетационния период от 17 до 20 дни (фиг. 8). Очевидно, облъчването на семената влияе отрицателно върху растежа и развитието, вследствие на което се наблюдава забавяне в настъпването на фенофазите през онтогенезата, а оттам и удължаване на вегетационния период



**Фигура 8.** Влияние на гама-лъчите върху продължителността на вегетационния период при суданска трева по години и средно за периода 2007-2008 год.

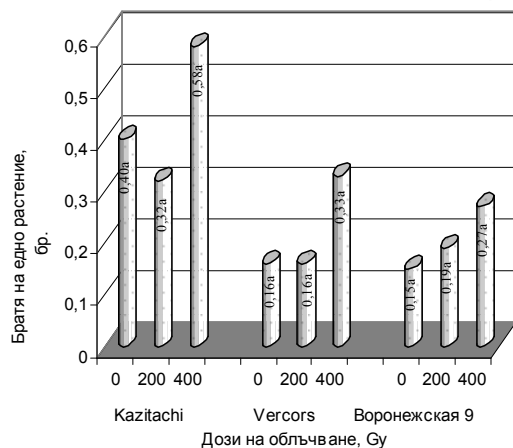
С повишаване дозата на облъчване през отделните фенофази се установява тенденция на скъсяване на централното стъбло, със слабо изразени генотипни различия (Табл. 7). Най-силно е потиснато нарастването в началните етапи (от BVCH-13 до BVCH-47) от развитието на културата, където разликите са статистически доказани. В края на вегетацията разликите във височината на централното стъбло са незначителни и статистически недоказано намалени при 200 Gy спрямо контролните варианти, а при най-високата доза, въпреки изразените компенсационни процеси на нарастване, разликите са доказано намалени.

**Таблица 7.** Влияние на гама-лъчите върху нарастването на централното стъбло по фенофази в % спрямо контролните варианти – средно за периода 2007-2008 година

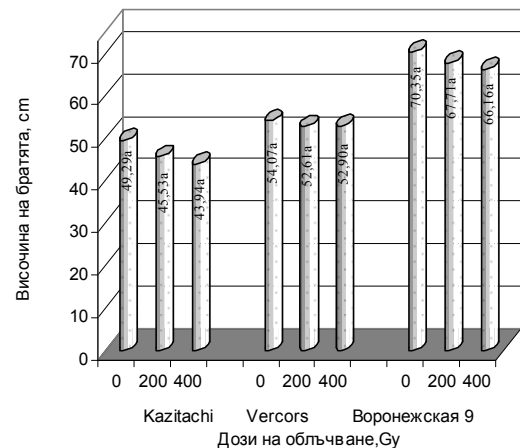
Дози, Gy	Височина на растенията от поникване (BVCH-09) до фенофаза:											
	BVCH-13		BVCH-15		BVCH-17		BVCH-47		BVCH-69		BVCH-89	
	cm	%	cm	%	cm	%	cm	%	cm	%	cm	%
<b>Kazitachi</b>												
контрола	8.67d		18.65d		91.50c		138.85c		185.25b		216.83b	
200	7.53c	86.9	16.64c	89.2	80.58b	88.1	132.20b	95.2	178.53a	96.4	208.38a	96.1
400	4.28b	49.4	7.82b	41.9	36.30a	39.7	102.38a	73.7	167.60a	90.5	201.18a	92.8
600	1.36a	15.7	2.35a	12.6	-	-	-	-	-	-	-	-
800-2000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Vercors</b>												
контрола	8.84d		19.91d		91.50d		132.90c		183.53b		205.60b	
200	7.59c	85.9	16.70c	83.9	80.58c	88.1	124.28b	93.5	183.03b	99.7	204.00b	99.2
400	4.73b	53.5	7.59b	38.1	40.95b	44.8	95.18a	71.6	161.40a	87.9	184.35a	89.7
600	1.14a	12.9	2.99a	15.0	-	-	-	-	-	-	-	-
800-2000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Воронежская 9</b>												
контрола	11.02d		22.04d		86.30b		141.65c		205.38b		224.45b	
200	9.61c	87.2	17.51c	79.5	79.75b	92.4	135.05b	95.3	198.28a	96.5	220.13b	98.1
400	5.22b	47.4	9.86b	44.7	51.18a	59.3	110.35a	77.9	173.98a	84.7	201.90a	90.0
600	1.69a	15.3	3.32a	15.1	-	-	-	-	-	-	-	-
800-2000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

a, b, c, d – статистически доказани разлики при P=0.05

По отношение на общата братимост при суданската трева е установено статистически недоказано нарастване на броя на братята (до 0.58 братя на едно растение) с увеличаване дозите на облъчване (Фиг. 8). В края на вегетацията братимостта при всички сортове е непродуктивна, а височината на братята е недоказано намалена (от 1.17 до 5.35 cm) (Фиг. 9).



**Фигура 8.** Влияние на дозите на облъчване върху непродуктивната братимост (средно за едно растение) за периода 2007-2008 г.

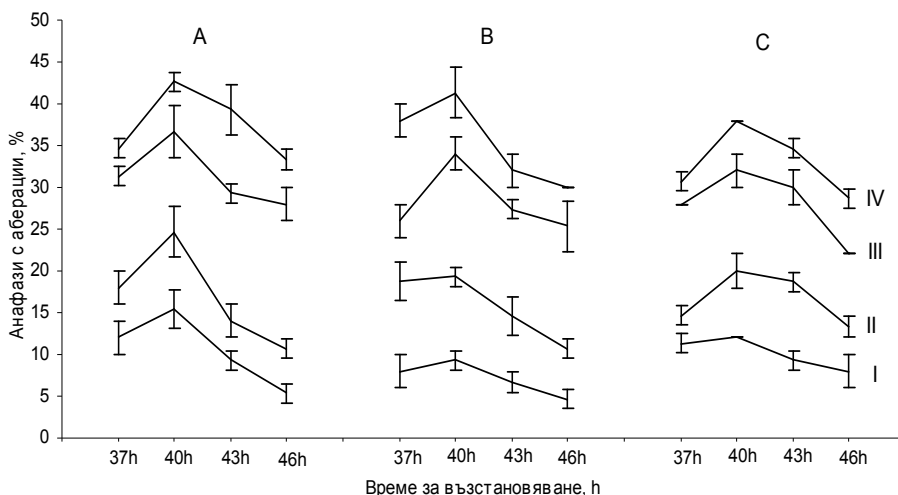


**Фигура 9.** Влияние на дозите на облъчване върху височината на братята (средно за един брат) за 2007-2008 г.

## 6.2. Цитогенетични проучвания – анализ на хромозомните аберации

Анализът на хромозомните аберации през първия митотичен цикъл след облъчването на клетки от коренова и връхна меристема е надежден тест за определяне на ефекта от мутагенното въздействие (Gaul, 1977). При кариотипния анализ на соматични коренови клетки от коренова меристема на сортовете суданска трева, използвани в изследването ни показаха в прометафаза и метафаза десет двойки хомоложни хромозоми с много малки размери и доста сходна морфология. По тази причина трябваше да анализираме честотата и спектъра на хромозомни аберации в анафаза.

Кинетиката на индуциране на хромозомни аберации при сортовете, използвани в това изследване е представена на фиг. 10. Пикът на аберациите и при трите сорта се появява в 40<sup>-ия</sup> час след облъчването на семената и според проучванията на Evans и Scott (1964) може да се приеме, че клетките са най-чувствителни към действието на гама-лъчите в края на постсинтетичния стадий на интерфазата (G1). Сравнителният анализ на данните показва известна разлика в радиочувствителността на използваните сортове, като сортът Воронежская 9 се показва като най-резистентен на най-високата доза (400 Gy). Данните в тази фигура са показателни и за линейната зависимост на дозата при индукцията на хромозомни нарушения, което е широко установено явление (Sasaki, 2009).



**Фигура 10.** Честота на хромозомните аберации индуцирани чрез различни дози на гама-облъчване (I – 100 Gy; II – 200 Gy; III – 300 Gy; IV – 400 Gy) при три сорта суданска трева (A – Kazitachi; B – Vercors; C – Воронежская 9). Честотата на аберациите при необлъчени семена (контрола) не надвишава 1%.

Анафазният анализ позволява идентифицирането само на два основни типа хромозомни нарушения, които се основават на структурното звено засегнато от мутагенния агент; хромозомни аберации, отбелязани като двойни мостове и фрагменти, и хроматидни аберации, отчетени като единични мостове и фрагменти, наблюдавани и при суданската трева. Данните в Таблица 10 показват относителната честота на различните типове аберации след облъчване с гама-лъчи на сухи семена от суданска трева. Според информацията с която разполагаме, спектърът на хромозомните аберации, индуцирани от йонизиращи лъчения при тази култура, не са отчитани досега. Проблемът обаче е напълно проучен при други висши растения и е установено, че тези агенти са в състояние да предизвикват хромозомни преустройства във всеки стадий на интерфазата – хромозомен тип в G1 и хроматиден тип в S и G2 (Evans and Scott, 1964). Забележителното в нашето изследване е, че голяма част от гама-индуцираните аберации в суданската трева се оказват от хроматиден тип; 10.2% при Vercors и около 8.5% при Kazitachi и Воронежская 9.

Това означава, че значителна част от меристемните клетки на сухите семена са влезли в синтетичния стадий (S) на интерфазата по време на облъчването, което е необичайно за клетъчна популация на спящи семена, която се очаква да е синхронизирана на предсинтетичния стадий (G1) от интерфазата.

**Таблица 10.** Спектър на хромозомните аберации индуцирани чрез различни дози гама-лъчи при суданска трева

Дози (Gy)	Брой на аберациите	Типове аберации				
		Хроматидни		Хромозомни		
		Фрагменти	Мостове с фрагменти	Фрагменти	Мостове с фрагменти	Други
Kazitachi						
100	70	1	7	25	28	9
200	113	2	5	42	51	13
300	207	5	10	67	92	33
400	253	13	11	83	107	39
Vercors						
100	48	3	5	19	17	4
200	104	2	7	29	46	20
300	193	5	12	63	81	30
400	231	14	11	75	92	39
Воронежская 9						
100	67	4	4	23	30	6
200	110	5	6	35	46	18
300	185	7	7	72	80	19
400	215	6	11	71	91	36

### 6.3. Влияние на гама-лъчите върху развитието на растенията в M<sub>1</sub> поколение

Процентът на поникналите растения намалява спрямо контролните варианти с нарастване дозата на облъчване от 100 до 400 Gy при всички сортове с незначителни генотипни различия, като разликите са статистически доказани при P=0.01 ( $r$  -0.936 до -0.989) (Табл. 9).

**Таблица 9.** Влияние на гама-лъчите върху полската кълняемост в M<sub>1</sub> и количествени зависимости от въздействието на гама-лъчите (X) върху полската кълняемост

Сортове	Дози	Средно за 2008-2010г.			y=a±bx	R <sup>2</sup>	r	P
		%	Fφ	LD <sub>50</sub>				
Kazitachi	100Gy	91.0	7.05***	-	y=101.76-0.120x	0.956	-0.978	0.01
	200Gy	82.4	13.85***					
	300Gy	59.7	31.80***					
	400Gy	55.6	34.96***					
Vercors	100Gy	89.3	8.85***	-	y=101.84-0.120x	0.979	-0.989	0.01
	200Gy	81.1	15.71***					
	300Gy	68.3	26.44***					
	400Gy	50.5	40.94***					
Воронежская 9	100Gy	96.5	2.87**	-	y=102.38-0.122x	0.937	-0.968	0.01
	200Gy	76.3	19.69***					
	300Gy	59.7	33.49***					
	400Gy	57.4	35.36***					

\*P<sub>(t crit. 2.0)</sub> = 0.05 ; \*\*P<sub>(t crit. 2.6)</sub> = 0.01; \*\*\*P<sub>(t crit. 3.3)</sub> = 0.001, <sup>ns</sup> – статистически недоказани разлики; r – корелационен коефициент; R<sup>2</sup> – коефициент на детерминация; P – степени на статистическа значимост

Редуцирането на полската кълняемост при най-високата доза гама-лъчи е в границите от 57.4 до 50.5% и не позволява определяне на LD<sub>50</sub>. Резултатите регресионните и дисперсионни анализи за установяване влиянието на проучваните фактори (гама-лъчи, сорт и години на проучване) върху полската кълняемост, показват, че най-голям дял от общото вариране се дължи на въздействието на гама-лъчите (88.6%), което е доказано на най-високо ниво (Табл. 10). Влиянието на сорта и годините заемат относително малък дял от общото вариране, с недоказани разлики.

**Таблица 10.** Анализ на вариансите и степен на влияние на факторите в общата дисперсия върху кълняемостта на сортове суданска трева в M<sub>1</sub>

Източници на вариране	SS	df	MS	F	F			η <sup>2</sup>
					0.05	0.01	0.001	
Общо	20091.46							
Повторения	526.84							
Гама-лъчи (А)	17802.84	4	4450.71***	246.87	2.7	4.0	6.1	88.6
Сорт (В)	0.43	2	0.21 <sup>ns</sup>	0.01	3.3	5.4	8.8	0.02
Години (С)	75.28	1	75.28 <sup>ns</sup>	4.17	4.2	7.6	13.3	0.38
АхВ	489.9	8	61.23**	3.39	2.3	3.2	4.6	2.44
АхС	196.09	4	49.02*	2.71	2.7	4.0	6.1	0.98
ВхС	105.53	2	52.76 <sup>ns</sup>	2.92	3.3	5.4	8.8	0.53
АхВхС	371.71	8	46.46*	2.57	2.3	3.2	4.6	1.85
Грешка	522.81	29	18.02					

Влиянието на гама-лъчите върху преживяемостта в M<sub>1</sub>, се изразява в намаляване броя на преживелите растения с увеличаване дозите на облъчване и при трите сорта (*r* варира от -0.963 до -0.970), като най-устойчив е Vercors (LD<sub>50</sub>=342.6), следван от Воронежская 9 (LD<sub>50</sub>=341.0), а относително чувствителен е сорт Kazitachi (LD<sub>50</sub>=307.5) (Табл. 11).

**Таблица 11.** Влияние на гама-лъчите върху преживяемостта в M<sub>1</sub> и количествени зависимости от въздействието на гама-лъчите (X) върху преживяемостта

Сортове	Дози	2008-2010			y=a±bx	R <sup>2</sup>	r	P
		%	Fφ	LD <sub>50</sub>				
Kazitachi	100Gy	87.4	9.39***	307.5	y=102.20-0.157x	0.968	-0.984	0.01
	200Gy	77.0	17.24***					
	300Gy	49.1	37.83***					
	400Gy	40.8	43.43***					
Vercors	100Gy	85.5	11.76***	342.6	y=101.20-0.141x	0.970	-0.985	0.01
	200Gy	79.0	17.10***					
	300Gy	54.3	37.13***					
	400Gy	44.9	44.24***					
Воронежская 9	100Gy	87.7	9.85***	341.0	y=101.36-0.150x	0.963	-0.981	0.01
	200Gy	65.5	27.95***					
	300Gy	54.8	36.46***					
	400Gy	44.1	47.39***					

\*P<sub>(t crit. 2.0)</sub> = 0.05 ; \*\*P<sub>(t crit. 2.6)</sub> = 0.01; \*\*\*P<sub>(t crit. 3.3)</sub> = 0.001; NS – статистически недоказани разлики; r – корелационен коефициент; R<sup>2</sup> – коефициент на детерминация; P – степени на статистическа значимост

Сравнявайки резултатите от регресионния и дисперсионен анализ по отношение преживяемостта, може да се обобщи, че основния фактор на въздействие в облъчените генерации са гама-лъчите (η<sup>2</sup>=94.44) (Табл. 11 и 12). Макар и статистически доказано, влиянието на генотипа е по-слабо изразено (η<sup>2</sup>=0.17) и не зависи от условията през годините на проучване (η<sup>2</sup>=0.07).



**Таблица 12.** Анализ на вариансите и степен на влияние на факторите в общата дисперсия върху преживяемостта на проучваните сортове суданска трева в М<sub>1</sub>

Източници на вариране	SS	df	MS	F	F			η <sup>2</sup>
					0.05	0.01	0.001	
Общо	28602.03							
Повторения	379.09							
Гама-лъчи (А)	27010.62	4	6752.65***	1141.43	2.7	4.0	6.1	94.44
Сорт (В)	47.78	2	23.89*	4.03	3.3	5.4	8.8	0.17
Години (С)	21.43	1	21.43 <sup>ns</sup>	3.62	4.2	7.6	13.3	0.07
АхВ	624.75	8	78.09***	13.20	2.3	3.2	4.6	2.18
АхС	131.09	4	32.77**	5.53	2.7	4.0	6.1	0.46
ВхС	3.28	2	1.64 <sup>ns</sup>	0.27	3.3	5.4	8.8	0.01
АхВхС	212.4	8	26.55**	4.48	2.3	3.2	4.6	0.74
Грешка	171.56	29	5.91					

При всички сортове, с увеличаване дозите на облъчване се увеличава броя на стерилните растения спрямо контролните варианти (*r* варира от 0.946 до 0.991) (Табл. 13), като най-радиочувствителен се проявява сорт Kazitachi, следван от Vercors и най-слабо чувствителен – Воронежская 9.

**Таблица 13.** Влияние на гама-лъчите върху стерилността в М<sub>1</sub> и количествени зависимости от въздействието на гама-лъчите (X) върху стерилността

Сортове	Дози,	Стерилност, % от контролата	Fφ	y=a±bx	R <sup>2</sup>	r	P
Kazitachi	100Gy	4.7	3.41***	y=0.44+0.040x	0.991	0.996	0.01
	200Gy	9.4	6.69***				
	300Gy	11.9	7.44***				
	400Gy	16.6	9.90***				
Vercors	100Gy	2.7	2.10*	y=0.14+0.039x	0.946	0.973	0.01
	200Gy	10.4	8.13***				
	300Gy	11.3	7.92***				
	400Gy	15.1	10.07***				
Воронежская 9	100Gy	4.4	3.49***	y=0.14+0.032x	0.969	0.984	0.01
	200Gy	5.3	3.83***				
	300Gy	9.1	6.30***				
	400Gy	13.4	8.76***				

\* $P_{(t \text{ crit. } 2.0)} = 0.05$ ; \*\* $P_{(t \text{ crit. } 2.6)} = 0.01$ ; \*\*\* $P_{(t \text{ crit. } 3.3)} = 0.001$ ; NS – статистически недоказани разлики; *r* – корелационен коефициент; R<sup>2</sup> – коефициент на детерминация; P – степени на статистическа значимост

Според данните от дисперсионният анализ (Табл. 14), самостоятелното действие на всички фактори е статистически доказано при P=0.01 с относително най-висок дял на фактора гама-лъчи (η<sup>2</sup>=79.48).

**Таблица 14.** Анализ на вариансите и степен на влияние на факторите в общата дисперсия върху стерилността на проучваните сортове суданска трева

Източници на вариране	SS	df	MS	F	F			η <sup>2</sup>
					0.05	0.01	0.001	
Общо	2048.90							
Повторения	108.81							
Гама-лъчи (А)	1628.46	4	407.11***	199.87	2.7	4.0	6.1	79.48
Сорт (В)	46.68	2	23.34***	11.45	3.3	5.4	8.8	2.28
Години (С)	78.43	1	78.43***	38.50	4.2	7.6	13.3	3.83
АхВ	58.49	8	7.31***	3.58	2.3	3.2	4.6	2.85
АхС	43.70	4	10.92**	5.36	2.7	4.0	6.1	2.13
ВхС	1.03	2	0.51 <sup>ns</sup>	0.25	3.3	5.4	8.8	0.05
АхВхС	24.20	8	3.02***	1.48	2.3	3.2	4.6	1.18
Грешка	59.07	29	2.03					

Въздействието на гама-лъчите в  $M_1$  поколение при суданската трева предизвиква аномалии в хабитуса (радиоморфози) при всички дози гама-лъчи, засягащи главно симетрията в растежа, развитието и интензивността на оцветяване (хлорози) на отделните органи в ранните фенофази на растенията (ВВСН 15-17) докато в контролните варианти такива не са отчитани. Морфологичните аномалии по листата се изразяват в едно- или двустранно редуциране в различна степен на листните петури. Хлорофилните ивичести радиоморфози и при трите сорта са от тип *striata* проявени върху един до два листа на едно растение в началните фенофази (ВВСН 15-17). Наблюдавани са метлици с нарушена симетрия, деформация по отношение на типа и формата, с частична до пълна стерилност.

За по-пълна оценка на радиочувствителността на изпитваните сортове в  $M_1$  е проучено влиянието на гама-радиацията върху някои количествени признаци с пряко отношение към продуктивността (Табл. 15).

**Таблица 15.** Влияние на различни дози гама-лъчи върху някои количествени признаци и елементите на продуктивността, в % спрямо контролния вариант—средно 2008-2010г.

Дози, Gy	Височина на централното стъбло, cm	Дължина на метлицата, cm	Маса на метлицата, g	Маса на зърната от 1 метлица, g	Маса на оронената метлица, g	Зърна в 1 метлица, бр	Средно за признаците
Kazitachi							
К	243.10ab	30.95a	11.00c	9.05c	1.95a	730d	170.93
100	259.80b	31.28a	10.54c	8.43c	2.11a	666c	163.03
200	240.00a	30.77a	8.60ab	6.03b	2.55b	474b	126.99
300	235.18a	32.64b	7.78a	4.60a	3.18c	359a	107.06
400	233.08a	35.09c	9.15b	4.96a	4.19d	342a	104.75
Vercors							
К	245.18ab	29.32b	10.42d	8.90d	1.52a	675d	161.72
100	252.13b	28.57ab	9.26c	7.75c	1.51a	561c	143.40
200	251.00ab	27.86a	7.50b	5.49b	2.01b	421b	119.14
300	242.18ab	28.75ab	5.59a	3.40a	2.18b	265a	91.18
400	234.48a	29.32b	6.88b	4.12a	2.76c	301a	96.41
Воронежская 9							
К	251.3ab	29.68ab	10.78c	9.01c	1.78ab	567c	144.93
100	257.90b	30.39bc	11.59c	9.55c	2.05b	578c	148.25
200	255.40b	28.85a	7.47b	5.72b	1.75a	369b	111.37
300	254.83b	31.36c	6.39a	3.94a	2.45c	254a	92.16
400	238.03a	33.67d	8.43b	4.52a	3.91d	282a	95.09

Легенда: К – контролен вариант; a, b, c, d, e - статистически доказани разлики при  $P=0.01$

По отношение височината на централното стъбло в края на вегетацията се отчита известна тенденция на скъсяване с нарастване дозата на облъчване. При нарастването на метлицата гама-лъчите предизвикват от слабо намаление до относително силно увеличаване на нейната дължина в зависимост от сорта и приложените дози. Признаците „маса на метлицата”, „маса на зърната от една метлица” и „брой зърна в една метлица” в  $M_1$  намаляват статистически доказано ( $P=0.05$ ) с увеличаване дозите на облъчване. Инхибиращото въздействие на по-високите дози гама-лъчи при всички сортове е по-силно изразено върху показателите „маса на зърната от една метлица” и „брой зърна в една метлица”. Изключение се установява при показателят „маса на

оронената метлица”, стойностите на които достоверно се повишават с нарастване дозите на облъчване, с незначителни генотипни различия.

Най–силен инхибиращ ефект, средно за всички количествени признаци оказват гама-лъчите в дози 300 и 400 Gy. От направеният сравнителен анализ на сортовете суданска трева се определя близката им реакция, по отношение въздействието на гама-лъчите върху средните стойности на количествените признаци. С най-слаб инхибиращ ефект във всички варианти е Воронежская 9 (при 300 Gy), т.е. този сорт е най-слабо чувствителен към облъчването, следван от Kazitachi, а Vercors се определя като относително най-силно чувствителен.

Извършеният корелационен анализ показва, че при сортовете суданска трева, съществува корелационна зависимост между абсолютните стойности на отделните количествени признаци и приложените дози гама-лъчи (Табл. 16).

**Таблица 16.** Корелационни и детерминационни зависимости между някои количествени признаци в  $M_1$  при суданска трева в зависимост от дозите гама-лъчи

Признаци	Сортове			$y=a\pm bx_1\pm cx_2\pm dx_3$	$R^2$
	Kazitachi	Vercors	Воронеж-ская 9		
	Корелационни зависимости, $r$				
Височина на централното стъбло, g	-0.674	-0.691	-0.594	$y=-14.873-0.0355x_1+4.645x_2+57.5333x_3$	0.497
Дължина на метлица, cm	0.846	0.047	0.761	$y=14.159+0.0061x_1-0.679x_2+3.6750x_3$	0.544
Маса на метлица, g	-0.762	-0.886	-0.712	$y=1.932-0.0090x_1-0.240x_2+2.0240x_3$	0.454
Маса на зърната от една метлица, g	-0.939	-0.938	-0.893	$y=2.771-0.0135x_1-0.035x_2+1.4147x_3$	0.673
Маса на оронена метлица, g	0.961	0.959	0.825	$y=-0.81+0.0045x_1-0.204x_2+0.6047x_3$	0.645
Брой зърна в една метлица	-0.968	-0.953	-0.915	$y=410.773-1.0060x_1-52.200x_2+78.0667x_3$	0.776

Легенда:  $y$  – депресия на съответните признаци средно за периода на проучване за всички сортове;  $a$  – коефициент; Променливи величини:  $x_1$  – приложени дози гама-лъчи;  $x_2$  – сортове суданска трева;  $x_3$  – период (години) на проучване;  $SEE$  – стандартна грешка;  $R^2$  – коефициент на детерминация

Комплексното въздействие на гама-лъчите, сорта и годините върху абсолютните стойности на количествените признаци, средно са оценени с помощта на множествена линейна регресия. Силата на изменението на стойностите при показателите „маса на зърната от една метлица”, „брой зърна в една метлица” и „маса на оронената метлицата” е по-чувствителна в зависимост от факторите (гама-лъчи, сортове и години), където и получените коефициенти на детерминация са относително високи от 0.645 до 0.776.

Установените корелационни взаимовръзки между количествените признаци в  $M_1$  в зависимост от дозите гама-лъчи позволяват да се направи математическо описание, чрез множествена линейна регресия (Табл. 17).

**Таблица 17.** Детерминационни зависимости ( $R^2$ ) между приложените дози гама-лъчи и елементите на продуктивността в  $M_1$  с доказано най-силно влияние

Сорт	$y=a\pm bx_1\pm cx_2\pm dx_3$	$SEE$	$R^2$	$P$
Kazitachi	$y=532.659+5.562x_1+185.939x_2+3.008x_3$	10.88	0.997	$P=0.01$
Vercors	$y=115.435+152.639x_1+119.665x_2+2.092x_3$	0.76	0.999	$P=0.01$
Воронежская 9	$y=479.895+44.747x_1+219.132x_2+4.443x_3$	8.20	0.992	$P=0.01$
Средно	$y=318.391+72.270x_1+24.205x_2+0.301x_3$	20.7	0.971	$P=0.01$

Легенда:  $y$ –приложените дози гама-лъчи;  $a$ –коефициент; Променливи величини:  $x_1$ –„маса на оронена метлица”;  $x_2$ – „маса на зърната от една метлица”;  $x_3$  – „брой на зърната от една метлица”;  $SEE$  – стандартна грешка;  $R^2$  – коефициент на детерминация;  $P$  – степени на статистическа значимост

Статистическият анализ на обобщените данни показва тесни линейни зависимости между дозите гама-лъчи и показателите „маса на оронената метлица“, „маса на зърната от една метлица“ и „брой на зърната от една метлица“ при всички сортове, през годините на проучване, където коефициентите на детерминация са много високи -  $R^2$  варира от 0.976 до 0.999.

В мутационната селекция обект на изследване от редица автори (Валева, 1969; Sharma and Sharma, 1986; Hayat *et al.* 1990; Cheema and Atta 2003; Human *et al.*, 2006; Muduli *et al.* 2007; Tabosa *et al.*, 2007) е взаимовръзката между изменчивостта в  $M_1$  и честотата на индуцираните мутационни изменения в  $M_2$ . Установените тесни корелационни зависимости между показателите полска кълняемост, преживяемост и стерилност, маса на зърната от една метлица, маса на оронената метлица и брой зърна в една метлица в  $M_1$  и мутационната честота в  $M_2$  са надеждни прогнозни критерии за действието на гама-лъчите при изследваните сортове суданска трева (Табл. 18).

**Таблица 18.** Корелационни зависимости между отчетените показатели в  $M_1$  и честотата на мутациите в  $M_2$  при суданска трева

Показатели	$r$	$R^2$	SEE	$P$
Полска кълняемост, %	-0.786	0.618	10.21	0.01
Преживяемост, %	-0.816	0.666	11.44	0.01
Стерилност, %	0.914	0.835	1.91	0.01
Височина на централното стъбло, cm	-0.335	0.113	8.78	ns
Дължина на метлицата, cm	0.510	0.260	2.00	ns
Маса на метлицата, g	-0.417	0.174	1.63	ns
Маса на зърната от една метлица, g	-0.700	0.489	1.44	0.05
Маса на оронената метлица, g	0.758	0.575	0.57	0.01
Брой зърна в една метлица, бр.	-0.643	0.414	10.9	0.05
Средно за отчетените показатели	-0.665	0.442	18.84	0.05

Легенда:  $r$  - корелационен коефициент;  $R^2$  - коефициент на детерминация; SEE - стандартна грешка;  $P$  - степени на статистическа значимост

#### **6.4. Характер на мутационния процес в $M_2$ поколение. Честота и спектър на индуцираните видими мутации**

Въздействието на гама-лъчите при изследваните сортове суданска трева в  $M_2$  се изразява в проявата на целия спектър от рецесивни видими мутации (Табл. 19). Отчетеният брой мутации на 100  $M_1$  растения, статистически доказано нараства (от 9.1 до 17.3%) с увеличаване на дозите на облъчване от 100 до 400 Gy, а  $r$  варира в границите от 0.878 до 0.945. Като най-мутабилен може да се определи сорт Kazitachi, с най-висока мутационна честота при доза 400 Gy (17.3%), следван от Vercors (13.8%), докато при сорт Воронежская 9 са отчетени най-ниски стойности при всички приложени дози гама-лъчи, което условно може да го определи като най-слабо чувствителен. Индуцираната мутационна честотата във второ мутантно поколение, изчислена на базата на броя на мутантите на 100  $M_2$  растения, нараства (от 0.60 до 2.31%) с увеличаване дозите на облъчване, като разликите са статистически доказани над 100 Gy, докато при Воронежская 9 не се установяват статистически значими зависимости с изключение на най-високата доза – 400 Gy.

Наблюдаваните индуцирани видими мутации при суданската трева могат да бъдат класифицирани в три основни типа – хлорофилни, морфологични и физиологични. С увеличаване дозите на облъчване, честотата на хлорофилните мутации нараства с различен процент в зависимост от сорта. Относително

**Таблица 19.** Честота на гама-индуцираните видими мутации в M<sub>2</sub> поколение - средно за 2009 - 2011 г.

Доза, Gy	Анализирани M <sub>1</sub> потомства, брой	Брой мутации на 100 M <sub>1</sub> растения	Fφ	Анализирани M <sub>2</sub> растения, брой	Брой мутанти на 100 M <sub>2</sub> растения	Fφ	Типове мутации					
							Хлорофилни		Морфологични		Физиологични	
							Мутанти брой	%	Мутанти брой	%	Мутанти брой	%
Kazitachi												
к	195	0.3		13620	0.02		0	0.00	0	0.00	3	0.02
100	200	9.8	2.76**	13878	0.77	1.77	39	0.28	25	0.18	42	0.30
200	193	11.9	3.48***	13113	1.18	2.99**	20	0.15	33	0.25	102	0.78
300	191	13.4	4.02***	12397	1.64	4.09***	79	0.64	69	0.55	56	0.45
400	162	17.3	5.27***	10590	2.31	5.89***	91	0.85	33	0.31	122	1.15
Vercors												
к	190	0.3		13900	0.03		0	0.00	0	0.00	4	0.03
100	185	9.2	2.49*	13308	0.71	1.46	40	0.30	19	0.14	37	0.27
200	195	11.6	3.36***	13621	1.23	2.84**	93	0.68	28	0.20	48	0.35
300	194	13.7	4.12***	12952	1.38	3.36**	90	0.69	30	0.23	60	0.46
400	193	13.8	4.15***	12717	1.75	4.48***	130	1.02	25	0.20	68	0.53
Воронежская 9												
к	193	0.3		16115	0.03		0	0.00	0	0.00	5	0.03
100	188	9.1	2.47*	15481	0.60	1.29	20	0.13	40	0.26	34	0.22
200	192	10.4	2.94**	15531	0.77	1.77	53	0.34	30	0.19	36	0.23
300	188	11.7	3.38***	14775	0.85	1.98	60	0.41	26	0.18	39	0.26
400	191	12.0	3.50***	14450	1.09	2.69*	85	0.58	32	0.22	41	0.28

\*P<sub>(t crit. 2.0)</sub> = 0.05 ; \*\*P<sub>(t crit. 2.6)</sub> = 0.01; \*\*\*P<sub>(t crit. 3.3)</sub> = 0.001

най-голям процент хлорофилни мутации са отчетени при сорт Vercors, следван от Kazitachi и най-малко при Воронежская 9. Изпитваните сортове суданска трева се различават значително помежду си по отношение честотата на физиологичните изменения. Честотата на индуцираните физиологични изменения нараства с увеличаване дозите на облъчване. Най-голяма честота на индуцираните физиологични изменения е отчетена при сорт Kazitachi за всички приложени дози с максимални стойности при 400 Gy, следван от Vercors и Воронежская 9. Данните за честотата на морфологичните изменения при сортовете суданска трева показват относително слабо изразена зависимост по отношение на приложените дози гама-лъчи, поради което трудно може да се установи обща закономерност.

Хлорофилните мутации при суданската трева са сравнително слабо проучени. Наблюдаваните хлорофилни мутации при сортове суданска трева се отнасят към две основни групи - *Chlorohom* и *Chlorodiv* (Табл. 20).

Данните за спектъра на хлорофилните изменения от типа *Chlorohom* показват, че преобладават хлорофилните мутанти тип *albina* и *lutea*, които са отчетени в по-високите дози на облъчване (над 100 Gy) при всички сортове. Хлорофилните мутации от група *Chlorodiv* са представени в относително пониска честота от 1 до 2 типа и при трите сорта суданска трева, варираща от 0.04 до 0.33%.

Спектърът на наблюдаваните морфологични мутации обхваща такива изменения, които засягат хабитуса на растенията (мощни, тревист тип), листата (широки, тесни, набръчкани, разцепване и редуциране на листната петура, восъчен налеп) и метлицата (продуктивна и видоизменена).

Честотата на отделните типове морфологични изменения и при трите сорта, остава относително ниска в сравнение с нарастващата честота на полустерилните и стерилни мутации. Най-висока е честотата на мутантите с мощен хабитус, с максимална стойност от 0.42% при сорт Kazitachi, отчетена при дозата от 300 Gy.

**Таблица 20.** Спектър на мутационните изменения при суданска трева в M<sub>2</sub> получени след облъчване с гама-лъчи - средно за 2009 - 2011

Сортове	Kazitachi					Vercors					Воронежская 9				
	K	100 Gy	200 Gy	300 Gy	400 Gy	K	100 Gy	200 Gy	300 Gy	400 Gy	K	100 Gy	200 Gy	300 Gy	400 Gy
<b>ХЛОРОФИЛНИ</b>															
Група <i>Chlorohom</i>															
<i>Albina</i>				0.21	0.37		0.10	0.27	0.31	0.27			0.16	0.22	0.17
<i>Xantha</i>															
- <i>aurea</i>		0.02	0.02												0.03
- <i>lutea</i>				0.27	0.15		0.03	0.21	0.30	0.60		0.10	0.10	0.06	0.30
<i>Viridis</i>															
- <i>chlorina</i>		0.26	0.12				0.14	0.10				0.01	0.04	0.08	
<i>Atroviridis</i>															
- <i>viridissima</i>			0.02				0.01	0.04	0.01	0.02			0.05		
Група <i>Chlorodiv</i>															
<i>Striata</i>															
- <i>xanthostriata</i>				0.16	0.33										0.04
<i>Apicalis</i>															
- <i>xanthoviridis</i>								0.07	0.06	0.13		0.02			0.08
- <i>alboviridis</i>							0.02								
<b>МОРФОЛОГИЧНИ</b>															
Мошни растения															
			0.05	0.42	0.11		0.05	0.05	0.07	0.08		0.08	0.06	0.09	0.07
Тревисти растения															
					0.02										
Зелени листа след узряване															
		0.01	0.02	0.02						0.02		0.01			
Широки листа															
		0.10	0.11	0.04	0.11		0.05	0.06	0.07	0.02		0.10	0.06	0.03	0.01
Тесни листа															
			0.03	0.01	0.05			0.01	0.02			0.05	0.04	0.02	0.07
Набръчкана периферия															
															0.03
Надлъжно разцепен връх															
		0.01											0.02	0.02	0.03
Редуцирана листна петура															
										0.02					
Восьчен налеп															
		0.05	0.03	0.03			0.02		0.04				0.01	0.01	0.01
Продуктивна метлица															
							0.02	0.02							
Видоизменена метлица															
		0.01		0.03	0.02			0.06	0.03	0.06		0.02			
<b>ФИЗИОЛОГИЧНИ</b>															
Ранни															
		0.07	0.10	0.04	0.08		0.16	0.18	0.18	0.09		0.17	0.07	0.09	0.10
Късни															
		0.05	0.14	0.05	0.13		0.12	0.07	0.12	0.11		0.05	0.11	0.04	0.08
Стерилни															
	0.02	0.12	0.46	0.26	0.76	0.03		0.05	0.15	0.33	0.03		0.05	0.13	0.11
Полустерилни															
		0.07	0.08	0.10	0.18			0.05	0.01						

Относително висока е и честотата (0.02 до 0.11%) на индуцираните мутанти с увеличена (широка) листна петура при всички проучвани сортове при дозите от 100 до 300 Gy. Най-ниска е честотата на морфологични типове изменения (от 0.01 до 0.06%), засягащи покритието с восьчен налеп, формата на метлицата и целостта на листната петура, която варира по сортове и в зависимост от приложените дози гама-лъчи.

Спектърът на физиологичните мутационни изменения е представен основно от типове, засягащи продължителността на вегетационния период (ранозрели и късно зрели) и фертилността (стерилни и полустерилни) на растенията. Мутантите със скъсен и удължен вегетационен период са наблюдавани при всички сортове и дози на облъчване (0.04 до 0.18%). Растения със стерилни и полустерилни метлици са отчетени при сорт Kazitachi при всички дози, а при останалите два сорта при дози над 100 Gy. Гама-лъчите

в диапазона от 200 до 300 Gy, увеличават честотата и обогатяват спектъра на мутационните изменения в  $M_2$  при сортовете суданската трева, тъй като при дозата от 400 Gy честотата на полустерилните, стерилни и хлорофилни мутации заемат относително най-висок дял.

Според проучванията на Gaul (1964), Kharkwal *et al.* (1988), Waghmare and Mehra (2001), Wu *et al.* (2005) и Shah *et al.* (2008) честотата и спектъра на хлорофилните мутации могат да служат като приблизителен тест за оценка действието на мутагенния фактор в генерирането на широк спектър от мутации, поради съществуващата корелационна зависимост между хлорофилните и морфологични мутации в  $M_2$ . Анализът на осреднените данни за периода на проучване по отношение взаимовръзките между честотата на хлорофилните и морфологични мутации показват, че при сортовете Kazitachi ( $r=0.737$ ) и Vercors ( $r=0.831$ ) са установени силни корелационни зависимости, а при Воронежская 9 – значителни ( $r=0.562$ ).

При практическата оценка на генетичния ефект на мутагенните агенти в мутационната селекция се използват критериите „мутагенна ефективност“ (mutagenic effectiveness) и „мутагенна ефикасност“ (mutagenic efficiency) (Konzak *et al.*, 1965). Мутагенната ефективност се изразява чрез съотношението на честотата на мутациите, индуцирани от единична моларна концентрация или доза на приложения мутаген, докато ефикасността се определя като съотношение на честотата на видимите мутации спрямо величината на онези показатели на действието на мутагена, които отразяват неговия повреждащ ефект, изразен в нежелани биологични ефекти като хромозомни аберации, леталност, стерилност и др. (Rieger *et al.*, 1991). Редица автори използват посочените по-горе критерии за сравнителна оценка на генетичния ефект на различните концентрации и дози на мутагените (Sree Ramulu, 1970e, Seetharamireddi and Ramamohan, 1988, Sharma, 1990, Solanki and Sharma, 1999, Waghmare and Mehra, 2001, Kumar *et al.*, 2003, Jaya and Selva, 2003, Ganapathy, 2008), а също така и на ефекта на модифициращите фактори (Гечев, 1980). Тук е нужно да се отбележи, че критерият „мутагенна ефективност“ е подходящ преди всичко за сравнителна оценка на мутационния потенциал на различните мутагенни фактори, приложени в еквивалентни концентрации и дози, докато „мутагенната ефикасност“ позволява в много по-голяма степен да се прецени значимостта на определена мутагенна обработка за целите на мутационната селекция. Като критерий за сравняване ефективността на различни концентрации и дози на мутагенни агенти някои автори използват „коефициент на ефективност“ (С.Е) на Krausse. Коефициентът на ефективност изразява постигнатата ефективност при различните концентрации или дози на мутагена чрез показателите преживяемост в  $M_1$  и мутационната честота в  $M_2$ .

В нашите изследвания критериите „мутагенната ефективност“ и „мутагенна ефикасност“ на гама-лъчите при суданската трева са изчислени както на базата на честотата на мутациите (брой мутации на 100  $M_1$  растения), така и на базата на честотата на мутантите (брой мутанти на 100  $M_2$  растения) (Табл. 21). Най-висока мутагенна ефективност спрямо общата индуцирана честота на мутациите и мутантите са постигнати при 100 Gy и с увеличаване дозата на облъчване този показател намалява и при трите сорта суданска трева. Тази тенденция се запазва и при отчетените стойности за мутагенна ефикасност на гама-лъчите спрямо показателите леталност и хромозомни аберации.

**Таблица 21.** Мутагенна ефективност и ефикасност на различни дози гама-лъчи спрямо общата мутационна честота при суданска трева

Дози, Gy	Мутагенна ефективност спрямо 100 M <sub>1</sub> растения M <sub>p</sub> /доза	C.E.	Мутагенна ефикасност			Мутагенна ефективност спрямо 100 M <sub>2</sub> растения M <sub>sd</sub> /доза	C.E.	Мутагенна ефикасност		
			M <sub>p</sub> /M	M <sub>p</sub> /L	Общо			M <sub>sd</sub> /M	M <sub>sd</sub> /L	Общо
Kazitachi										
100	0.0980	0.0857	0.6405	0.7778	1.4183	0.0077	0.0067	0.0503	0.0611	0.1114
200	0.0595	0.0916	0.4818	0.5174	0.9992	0.0059	0.0091	0.0478	0.0513	0.0991
300	0.0447	0.0658	0.3651	0.2633	0.6284	0.0055	0.0081	0.0447	0.0322	0.0769
400	0.0433	0.0706	0.4052	0.2922	0.6974	0.0058	0.0094	0.0541	0.0390	0.0931
Vercors										
100	0.0920	0.0787	0.9388	0.6345	1.5733	0.0071	0.0061	0.0724	0.0490	0.1214
200	0.0580	0.0916	0.6010	0.5524	1.1534	0.0062	0.0097	0.0637	0.0486	0.1123
300	0.0457	0.0744	0.4029	0.2998	0.7027	0.0046	0.0075	0.0406	0.0302	0.0708
400	0.0345	0.0620	0.3341	0.2505	0.5846	0.0044	0.0079	0.0424	0.0318	0.0741
Воронежская 9										
100	0.0910	0.0798	0.7583	0.7398	1.4982	0.0060	0.0053	0.0500	0.0488	0.0988
200	0.0520	0.0681	0.5200	0.3014	0.8214	0.0039	0.0050	0.0385	0.0223	0.0608
300	0.0390	0.0641	0.3656	0.2588	0.6245	0.0028	0.0047	0.0266	0.0188	0.0454
400	0.0300	0.0529	0.3158	0.2147	0.5305	0.0027	0.0048	0.0287	0.0195	0.0482

Легенда: Доза – гама-лъчи (Gy); M<sub>p</sub> – Обща честота на мутациите; M<sub>sd</sub> – Обща честота на мутантите; M – Честота на хромозомни аберации; L – Леталност на растенията в M<sub>1</sub> изразена в %; C.E. – коефициент на ефективност на Krausse.

Понижаването на ефективността и ефикасността на гама-лъчите при високите дози на облъчване може да се дължи на различия в кинетиката на индукция на първичните повреди, лежащи в основата на двата основни типа мутации – генни, от една страна и хромозомни, от друга (Sasaki, 2009). Общоприето е мнението, че рецесивните видими мутации, отчитани в M<sub>2</sub> се причиняват от структурни промени в молекулата на ДНК, които не надхвърлят рамките на отделен ген, докато биологичните повреди в M<sub>1</sub> като леталност, стерилност и др. се генерират основно от индуцирани хромозомни нарушения, или от ненаследствени физиологични ефекти на мутагенния агент (Гечев, 1995).

Мутагенната ефективност на гама-лъчите представена чрез коефициента на ефективност (по Krausse) показва значително по-ниски стойности при доза 400 Gy спрямо тези от 100, 200 и 300 Gy. Най-висока е нейната стойност при доза 200 Gy за сортовете Kazitachi и Vercors, докато при Воронежская 9 е при 100 Gy.

Въведените от Konzak *et al.* (1965) модули за определяне на мутагенната ефективност и мутагенната резултатност почти напълно игнорират показателя „спектър на индуцираните мутации”. Както е известно, преобладаващата част от експериментално индуцираните мутации обуславят негативни изменения и не представляват интерес за селекционно-подобрителните програми при културните растения. Освен това, един значителен дял от тези мутации (част от хлорофилните, например) се генерират от структурни хромозомни преустройства (Орав и Калам, 1974). С оглед намирането на подходящ алгоритъм за определяне на оптималните дози на гама-лъчите за целите на мутационната селекция, което е и една от основните задачи на дисертационният труд, ние модифицирахме предложените от Konzak *et al.* (1965) формули за изчисляване на ефективността и ефикасността на дозите на гама-облъчването при суданската трева. И двата показателя бяха базирани на честотата на мутациите, които засягат агрономически важни за културата признаци, вместо на тоталната мутационна честота (Табл.22).



**Таблица 22.** Мутагенна ефективност и ефикасност на гама-лъчи при суданска трева спрямо честотата на мутациите и мутантите обусловени от гени, контролиращи стопански полезни признаци

Дози, Gy	Мутагенна ефективност спрямо 100 M <sub>1</sub> растения M <sub>p</sub> /доза	C.E.	Мутагенна ефикасност			Мутагенна ефективност спрямо 100 M <sub>2</sub> растения M <sub>sd</sub> /доза	C.E.	Мутагенна ефикасност		
			M <sub>p</sub> /M	M <sub>p</sub> /L	Общо			M <sub>sd</sub> /M	M <sub>sd</sub> /L	Общо
Kazitachi										
100	0.0250	0.0225	0.1634	0.2525	0.4159	0.0012	0.0011	0.0078	0.0121	0.0200
200	0.0350	0.0538	0.2834	0.3030	0.5864	0.0014	0.0022	0.0113	0.0121	0.0235
300	0.0233	0.0322	0.1907	0.1296	0.3204	0.0022	0.0030	0.0180	0.0122	0.0302
400	0.0140	0.0211	0.1311	0.0899	0.2210	0.0004	0.0006	0.0040	0.0027	0.0067
Vercors										
100	0.0250	0.0212	0.2551	0.1623	0.4174	0.0012	0.0010	0.0122	0.0078	0.0200
200	0.0275	0.0433	0.2850	0.2594	0.5444	0.0013	0.0020	0.0135	0.0123	0.0257
300	0.0250	0.0406	0.2206	0.1634	0.3840	0.0008	0.0014	0.0074	0.0054	0.0128
400	0.0088	0.0157	0.0847	0.0634	0.1482	0.0003	0.0004	0.0024	0.0018	0.0042
Воронежская 9										
100	0.0200	0.0176	0.1667	0.1653	0.3320	0.0011	0.0010	0.0092	0.0091	0.0183
200	0.0275	0.0326	0.2750	0.1348	0.4098	0.0013	0.0015	0.0130	0.0064	0.0194
300	0.0200	0.0317	0.1875	0.1271	0.3146	0.0007	0.0011	0.0063	0.0042	0.0105
400	0.0063	0.0111	0.0658	0.0448	0.1106	0.0003	0.0005	0.0032	0.0022	0.0053

Легенда: Доза – гама-лъчи (Gy); M<sub>p</sub> – Честота на мутации и M<sub>sd</sub> – Честота на мутанти обусловени от гени контролиращи стопански полезни признаци; M – Честота на хромозомни аберации; L – Леталност на растенията в M<sub>1</sub> изразена в %; C.E. – коефициент на ефективност на Krausse

Мутагенната ефективност, изчислена на базата на броя мутации на 100 M<sub>1</sub> растения е най-висока при доза 200 Gy при всички сортове суданска трева. Ефективността на гама-лъчите изразена чрез коефициента на ефективност (по Krausse) е най-висока при дозата от 200 Gy и намалява с увеличаване дозата на облъчване. Аналогични са и резултатите по отношение ефикасността на различните дози гама-лъчи, изчислени на база „брой мутации на 100 M<sub>1</sub> растения” спрямо показателите „хромозомни аберации” и „леталност в M<sub>1</sub>”. Изключение прави по-високата ефикасност (0.1653) при доза от 100 Gy, изчислена спрямо леталността при Воронежская 9, но постигнатата сумарна ефикасност (0.4098) по отношение на двата параметъра (хромозомни аберации и леталност) се запазва най-висока при дозата от 200 Gy.

Отчетените ефективност и ефикасност на гама-лъчите, както и коефициентът на ефективност по Krausse, изчислени на база „брой мутанти на 100 M<sub>2</sub> растения” са с най-високи стойности при дозата от 200 Gy и при трите сорта. Изключение прави сорт Воронежская 9, показващ най-голяма мутагенна ефикасност при доза от 100 Gy спрямо отчетената леталност, но общата ефикасност на гама-лъчите комплексно за леталността и хромозомните аберации остава най-висока при дозата 200 Gy. При сорт Kazitachi най-високи са стойностите на параметрите при доза 300 Gy, което може да се обясни с по-високата честота на индуцираните мутанти, най-вероятно в резултат на увеличаване размера на мутиралния сектор на вегетационния връх.

Нарастването на честотата на мутациите при високите дози на облъчване не е задължителна предпоставка за разширяване на мутационния спектър и увеличаване на делът на практически желаните мутанти. Определянето на оптималните дози на облъчване с оглед получаване на мутации със стопанска значимост несъмнено е един от най-важните проблеми в мутационната селекция. Извършеният от нас анализ на мутагенната ефективност и ефикасност на гама-лъчите при изследваните три сорта суданска трева,

базираща се на честотата на мутациите, засягащи гени, контролиращи агрономически значими признаци и свойства ни дава основание да препоръчаме като оптимални за целите на мутационната селекция дози граничещи със стойностите на LD<sub>50</sub> в диапазона 200-300 Gy.

### **6.5. Анализ на мутационните изменения в M<sub>3</sub> и M<sub>4</sub>. Основни резултати от мутационната селекция**

С оглед изясняване на природата на установените в M<sub>2</sub> изменения, в M<sub>3</sub> бяха изследвани потомствата на всички растения, носещи такива изменения. Една незначителна част от тези растения, които не показаха стабилно наследяване на промяната при съответния признак в M<sub>3</sub> бяха елиминирани в по-нататъшните изследвания. Трябва да се отбележи, че в диплоидните видове, каквато е и суданската трева, за разлика от полиплоидните видове (пшеницата, например) като правило индуцираните доминантни мутации се откриват в M<sub>1</sub>, а основната част от мутациите, бидейки рецесивни по природа се проявяват фенотипно в M<sub>2</sub>. Понякога, нестабилността в експресията на мутантните алели може да се дължи на активиране на подвижни генетични елементи (транспозони). Тъй като измененията обусловени от този така наречен транспозонен мутагенезис проявяват нестабилно наследяване и не представляват непосредствен практически интерес за селекцията, те не бяха предмет на дисертационните изследвания.

Характерът на фенотипното проявление в M<sub>3</sub> поколение на различните мутации при суданската трева се свежда до изменение на някои признаци в положителна и/или отрицателна посока, определяща се от направлението при използване на суданската трева като фуражна култура. Част от получените хлорофилни, морфологични и физиологични типове мутации при суданската трева нямат практическо значение поради понижена жизненост, изразен тревист хабитус и по-слаба облистеност, тесни листа, запазване свежестта на листата в края на вегетацията, морфологични изменения по метлицата, полустерилност. Друга част от мутациите представляват практически интерес – мощен хабитус, широки листа, изменен вегетационен период.

#### **6.5.1. Описание на някои от наблюдаваните типове мутации**

**Хлорофилни мутации** – Мутациите засягащи интензивността на хлорофилния синтез са получени и при трите сорта суданска трева. При мутантните форми с намалената интензивност на оцветяване на листата от типа *chlorina*, растенията формират по-слаби и ниски стъбла и по-слабо озърнена метлица. Мутантните форми с по-интензивен цвят на листата от типа *viridissima* са с относително по-добре развити листа и хабитус на растенията, които са близки или равни до тези на изходните сортове.

**Мутанти с мощен хабитус** – Мутантите се характеризират с бърз темп на отрастване, а продължителността на отделните фенофази и вегетационният период са равни или близки с тези на изходните сортове. Формират по-високо и устойчиво на полягане стъбло в края на вегетативната (ВВСН-47) и началото на репродуктивната фенофаза, както и повече на брой листа с относително по-голям размер спрямо изходните сортове. Тяхната практическа ценност се изразява във формирането на значително количество биомаса в периода на летните депресии (юни – юли) на житните треви. Този тип мутанти могат да

бъдат използвани като компоненти в хибридизацията поради бързия темп на растеж и добрата продуктивност на свежа биомаса.

**Мутанти с широки листа** – Въпросът за генетичното подобряване на суданската трева е насочено основно към повишаване количеството на формираната надземна биомаса, което е в пряка връзка със създаване на форми с повишен темп на отрастване, по-висока облистеност и увеличаване размера на листната петура. Оценявайки факта, че размерът на листата (в частност на тяхната ширина) е сравнително устойчив признак, по който се характеризират отделните сортове, определен интерес представляват получените от нас мутанти, при които ширината на листа превишава значително (понякога над 30 %) тази на изходните сортове. Мутантите от този тип са индуцирани при по-ниските дози на облъчване при всички сортове суданска трева. Увеличеният размер на листната петура се дължи основно на нарастване ширината в средната част, варираща от 3 до 5 cm и по-слабо изразено при дължината. Тези мутанти се характеризират с добра фертилност и озърненост, ускорен темп на отрастване и не превишават значително продължителността на вегетационния период на изходните сортове.

**Мутанти с тревист хабитус** – Мутантите с тревист хабитус са индуцирани и при трите сорта суданска трева. Тези мутанти формират по-ниски и нежни стъбла, притежават по-слаба облистеност и по-къс вегетационен период, спрямо изходните сортове. Метлицата е по-къса и компактна. За разлика от описаните в научната литература джуджести форми (*Dwarf mutant*), мутантите с тревист хабитус наблюдавани при суданската трева, не се установява скъсяване на междувъзлията.

**Мутанти с тесни листа** – Този тип мутация е получена само при сорт Kazitachi. Характерна особеност на растенията е формирането на относително тесни листа и по-нежни стъбла, докато по отношение височината на централното стъбло и броя на листата не се различават от изходния сорт. Мутантите от този тип могат да бъдат използвани, като родителски компоненти в комбинативната селекция поради нежното им и здраво неполягащо стъбло.

**Мутанти със запазени зелени листа в края на вегетацията** – Характерна особеност при този тип мутанти е наличието на зелени и изправени листа в горните етажи на централното стъбло при фенофаза физиологична зрялост (ВВСН-89) на растенията. Получените мутанти не се различават значително от изходните сортове в края на вегетативния период (ВВСН-47), по отношение височина на централното стъбло, брой формираните листа и количество надземна биомаса. При отглеждането на суданската трева за семепроизводство, наличието на такава зелена биомаса е нежелателно.

**Мутанти с изменена продължителност на вегетационния период** – Формират по-голямо количество биомаса, което най-вероятно е резултат от по-добрата облистеност на растенията и повишената дължина на стъблата. Тяхното отглеждане очевидно ще доведе до по-късно освобождаване на площите за сеитба на есенните култури, за разлика от получените мутанти със скъсен вегетационен период, които обаче са с по-слаба облистеност и по-ниски стъбла спрямо изходните сортове.

**Мутанти с повишена продуктивност на метлицата** – Мутантите от този тип представляват практическа ценност поради добрата фертилност и формирано по-голямо количество зърна от една метлица, като притежават комплекс и от други положителни качества – добра облистеност, не полягащо стъбло и относително бърз темп на отрастване. Известен недостатък е

относително по-дебелото в основата си централно стъбло, който може да бъде преодолян чрез хибридизация с подходящи родителски компоненти.

**Мутанти с частична стерилност** – Мутантите не се различават значително по хабитус, брой листа и продължителност на вегетационния период спрямо изходните сортове, но са с намалена фертилност и редуциран брой на изхранените зърна на една метлица.

Обобщавайки получените резултати може да отбележим, че в резултат на облъчването на семена от суданска трева с гама-лъчи са индуцирани и селектирани разнообразни типове мутации, засягащи редица важни стопански качества. Получени са мутанти с положителни изменения на морфологични признаци, имащи пряко отношение при формирането на надземната биомаса, както и такива с мощен хабитус и изменен вегетационен период, което е безспорен принос за обогатяване на генетичния фонд при тази култура.

### **6.5.2. Характеристика на някои ценни мутантни форми, представляващи перспективен изходен материал за селекцията на суданската трева**

Резултатите от настоящото изследване в М<sub>4</sub> поколение, показват в отделни мутантни потомства достоверни различия спрямо изходните сортове по отношение на някои количествени признаци, както и промяна в отделни биохимични показатели. В научната литература са описани подобни резултати при други видове от род *Sorghum*, представящи взаимовръзката между някои количествени признаци като ранозрелост и нискостъбленост, продуктивност и високостъбленост, удължен вегетационен период и високостъбленост, размер на листата и метлиците (Шепель, 1985), количеството на формираните зърна и размер на листата (Parra-Negrette *et al.*, 1984), между теглото и броя на зърната от една метлица (Patil *et al.* 1995). В Таблица 25 е представена характеристика на някои перспективни мутантни форми, получени от трите изходни сорта суданска трева по 18 количествени и биохимични показатели.

#### **6.5.2.1. Мутантни форми от сорт Kazitachi**

Мутантните форми **М-100/234** и **М-100/272** са получени чрез облъчване с доза 100 Gy. Формират относително високи стъбла в края на вегетативната фенофаза (ВВСН-47), доказано по-дълги листа, средна листна площ за един лист и по-високо съдържание на суров протеин и фосфор. М-100/234 формира по-дълга метлица, но с по-ниски продуктивни възможности, докато М-100/272 е с по-добър продуктивен потенциал.

**М-200/20** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 200 Gy. Формира сравнително високо стъбло в края на вегетативната и репродуктивна фенофаза от развитието си. Отличава се с по-добри продуктивни възможности по отношение структурните елементи на добива и по-високо процентно съдържание на суров протеин, сурови влакнини и фосфор.

**М-200/48** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 200 Gy. Формира по-високо централно стъбло през двете отчетени фенофази (ВВСН-47 и 89) и е с много добри продуктивни възможности по признака маса на едно растение (ВВСН-47). Узрява с 10 дни по-късно, но е с относително добра семенна продуктивност.

**Таблица 25.** Описание на перспективни мутантни форми за селекцията на суданска трева

Форми	Отклонения във вег. период	Листа, бр	Средна дължина на листата, см	Средна ширина на листата, cm <sup>2</sup>	Средна площ на 1 типичен лист, cm <sup>2</sup>	Маса на 1 растение, g ВВСН-47	Височина на 1 растение, ВВСН-47	Височина на 1 растение, см ВВСН-89	Дължина на метлицата, см	Маса на метлицата, g	Маса на зърната от една метлица, g	Маса на оронена метлица, g	СП, % СВ	СВ, % СВ	Са, % СВ	P, % СВ	Водоразтворими захари, %	Смилаемост in vitro на сухо вещество, % СВ
<b>Kaztashi</b>	<b>119</b>	<b>8-10</b>	<b>56.2</b>	<b>3.0</b>	<b>71.7</b>	<b>60.3</b>	<b>170.0</b>	<b>211.7</b>	<b>31.0</b>	<b>10.6</b>	<b>9.3</b>	<b>1.25</b>	<b>5.67</b>	<b>30.25</b>	<b>0.476</b>	<b>0.124</b>	<b>9.2</b>	<b>52.74</b>
M – 100/234	0	8-10	66.8*	3.3	94.2*	52.6	191.8	215.0	33.8	9.7	8.1	1.56	6.79	29.84	0.410	0.187	8.4	54.15
M – 100/272	0	8-9	69.8	2.9	88.2*	52.6	193.1	206.9	31.0	13.9	12.5	1.38	6.29	31.22	0.454	0.163	7.5	48.18
M – 200/20	0	9-10	54.4	3.0	70.0	78.1	200.0	214.8	35.5	20.5*	18.0*	2.55*	7.48	31.77	0.520	0.189	6.5	50.23
M – 200/48	+10	9-10	61.6	3.0	80.4	89.4*	220.1*	259.5*	37.7	15.9	13.0	2.93*	5.97	31.28	0.474	0.126	7.5	48.94
M – 200/70	+10	10-11	67.0*	2.6	75.5	78.5	217.6*	241.4	31.5	11.3	10.2	1.07	7.15	31.64	0.466	0.137	5.5	48.02
M – 200/86	+10	9-10	73.2*	3.1	98.2*	75.7	219.6*	255.7*	41.0*	28.5*	25.7*	2.83*	5.87	30.68	0.433	0.146	9.0	48.16
M – 300/23	+10	8-9	66.2*	2.5	70.1	77.1	193.5	199.5	24.1	6.0	5.1	0.85	6.72	27.39	0.540	0.220	11.6	58.76
M – 300/43	-12	9-10	58.6	4.2*	102.9*	90.0*	176.8	203.2	40.6*	26.7*	22.3*	4.40*	5.92	30.39	0.489	0.124	6.5	51.07
<b>Vecsors</b>	<b>118</b>	<b>8-9</b>	<b>54.6</b>	<b>2.4</b>	<b>57.8</b>	<b>46.1</b>	<b>147.8</b>	<b>188.5</b>	<b>28.0</b>	<b>8.2</b>	<b>7.5</b>	<b>0.75</b>	<b>5.00</b>	<b>28.85</b>	<b>0.356</b>	<b>0.185</b>	<b>9.2</b>	<b>54.65</b>
M – 100/183	0	9-10	52.2	2.4	54.3	71.1*	177.8*	214.8*	34.83*	21.3*	19.5*	1.73*	6.10	26.79	0.330	0.139	14.5	56.76
M – 200/8	0	8-9	55.2	2.8	66.3	65.0*	183.1*	228.0*	35.3	16.9*	15.2*	1.63*	5.91	26.94	0.330	0.136	11.5	56.41
M – 200/93	-8	7-8	55.2	2.3	55.4	68.1*	167.1*	217.4*	25.0	4.4	3.1	1.31	5.57	27.29	0.278	0.125	13.5	56.25
M – 200/110	0	8-9	54.4	2.5	58.4	70.5*	178.4*	207.9*	28.2	11.0	9.7	1.28	7.30	30.32	0.419	0.209	6.6	55.35
M – 200/180	0	8-9	54.0	2.8	65.7	53.4	154.9	188.8	31.9*	16.7*	15.4*	1.27	5.52	29.15	0.389	0.229	7.7	52.17
M – 300/69	0	8-9	65.6*	2.8	79.4*	56.6	169.6*	214.9*	27.8	11.5	10.0	1.48*	5.05	29.77	0.345	0.158	7.7	53.23
M – 300/114	+3	9-10	63.6*	3.2*	88.5*	65.7*	184.4*	210.4*	33.0*	14.7*	12.9*	1.80*	4.07	26.69	0.336	0.142	15.0	56.99
<b>Воронешкая</b>	<b>117</b>	<b>8-9</b>	<b>52.8</b>	<b>3.4</b>	<b>76.0</b>	<b>71.8</b>	<b>174.8</b>	<b>202.0</b>	<b>27.8</b>	<b>10.8</b>	<b>9.7</b>	<b>0.72</b>	<b>4.35</b>	<b>32.85</b>	<b>0.237</b>	<b>0.139</b>	<b>11.6</b>	<b>52.28</b>
M – 100/200	+11	10-12	69.0*	4.0*	119.0*	117.4*	196.1*	229.9*	31.0	14.4	12.9	1.17	4.57	31.83	0.280	0.190	12.3	47.34
M – 100/212	0	10-11	65.4*	4.08*	114.2*	93.5	170.6	207.6	27.0	9.7	8.5	1.24	6.61	30.30	0.302	0.210	9.1	50.64
M – 200/255	+13	9-11	49.6	2.9	61.3	119.9*	189.9*	246.2*	35.0*	18.1*	16.8*	1.95*	5.06	29.21	0.284	0.185	13.5	54.07
M – 200/256	+13	10-11	53.2	3.3	75.6	115.7*	190.5*	233.2*	35.5*	20.6*	17.9*	2.70*	6.45	27.91	0.504	0.207	11.0	54.61
M – 300/169	0	9-10	67.6*	4.4*	128.4*	110.6*	184.3*	208.8	28.7	13.0	11.3	0.80	6.54	28.26	0.330	0.228	8.6	53.40

Легенда: \* - статистически доказани разлики при P=0.05

**М-200/70** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 200 Gy. Отличава се с по-високо централно стъбло в края на вегетативната и репродуктивна фенофаза. Узрява с 10 дни по-късно. Представлява интерес за селекцията поради по-високата си интензивност на нарастване, по-добра облистеност и силно удължена листна петура.

**М-200/86** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 200 Gy. Формира много високо не полягащо стъбло в двете отчетени фенофази. Вегетационният период е по-дълъг с 10 дни. Образува от 9 до 10 доказано по-дълги листа и е с добра семенна продуктивност. В селекционно отношение представлява безспорен интерес с оглед отличните си продуктивни възможности.

**М-300/23** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 300 Gy. Слабо превишава по височина централното стъбло на изходния сорт, но формира статистически доказано по-дълги листа (с 10 cm). Узрява 10 дни по-късно. Ценността на М-300/23 се изразява в промяна на някои от биохимичните показатели в сравнение с изходния сорт (съдържание на суров протеин, калций, фосфор, водоразтворими захари и смиланост *in vitro* на сухо вещество).

**М-300/43** е получена след облъчване на семена с доза 300 Gy. Характеризира се с по-добра облистеност и по-високо тегло на едно растение преди изметляване (ВВСН-47). Откроява се с отличен темп на отрастване и формиране на надземна биомаса. Узрява с 12 дни по-рано. Характерна особеност е вълнообразната периферия на листната петура. Поради отличните си продуктивни възможности (бърз темп на отрастване, подобрена облистеност и формиране на по-голямо количество биомаса) и изключителната си ранозрелост представлява интерес за селекцията в направление добивност.

#### **6.5.2.2. Мутантни форми от сорт Vercors**

**М-100/183** е получена чрез облъчване на семена с гама-лъчи в доза 100 Gy. Откроява се със значително по-високо (30 cm), неполягащо и добре облистено стъбло (до 10 листа) от това на сорт Vercors. Характеризира се с по-добра продуктивност по отношение дължината на метлицата, маса на метлицата, маса на зърната от една метлица. Съдържа висок процент водоразтворими захари – 14.5%.

**М-200/8** е получена чрез облъчване с доза 200 Gy. Формира много високо, неуделебено стъбло с доказано по-висока биомаса средно за едно растение (ВВСН-47). Образува относително широки листа и добре озърнена метлица, т.е. може да бъде отнесен към мутантите с мощен хабитус. Съдържа повече водоразтворими захари спрямо Vercors.

**М-200/93** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 200 Gy. Приключва вегетацията си с 8 дни по-рано от Vercors, но е с относително по-слаба облистеност (7-8 листа). Формира доказано по-високо централно стъбло в края на вегетативната и репродуктивна фенофаза, по-голямо количество биомаса (ВВСН-47) и по-високо съдържание на водоразтворими захари.

Мутантните форми **М-200/110** и **М-200/180** са получени чрез облъчване с гама-лъчи в доза 200 Gy. Първата мутантна форма се отличава със статистически доказано по-високо централно стъбло и формирана свежа биомаса (ВВСН-47). Последната притежава по-добра семенна продуктивност, формирана върху по-дълга метлица. М-200/110 се отличава с относително по-високо съдържание на суров протеин, калций и фосфор.

**М-300/69** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 300 Gy. Откроява се с доказано по-високо централно стъбло (ВВСН-47 и 89), удължени листа и

по-голяма листна площ за един лист доказано превишаващи изходния сорт съответно с 20.0% и 37.4%, формира относително по-голяма биомаса на едно растение преди изметляване и по-голямо количество зърна.

**M-300/114** е получена чрез облъчване с доза 300 Gy. Формата е ценна в селекционно отношение, поради добрите си продуктивни възможности (бърз темп на отрастване, облистеност, формиране на по-голямо количество надземна биомаса) и ранозрелост.

### **6.5.2.3. Мутантни форми от сорт Воронежская 9**

**M-100/200** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 100 Gy. Откроява се с формиране на мощни растения в края на вегетативната и репродуктивна фенофаза. Узрява с 11 дни по-късно. Представлява интерес за селекцията поради по-добра облистеност, увеличена листна петура и по-висока интензивност на нарастване.

**M-100/212** е получена чрез облъчване с гама-лъчи в доза 100 Gy. Притежава добра облистеност и по-голяма средна дължина и ширина на листата, което е в пряка връзка с по-високото тегло на едно растение преди изметляване (ВВСН-47). Притежава значително по-високо съдържание на суров протеин, калций и фосфор.

Мутантните форми **M-200/255** и **M-200/256** са получени чрез облъчване с доза 200 Gy. Мутантните форми представляват интерес в селекционен аспект, поради по-добра си облистеност, по-високата интензивност на нарастване и силно увеличена листна петура.

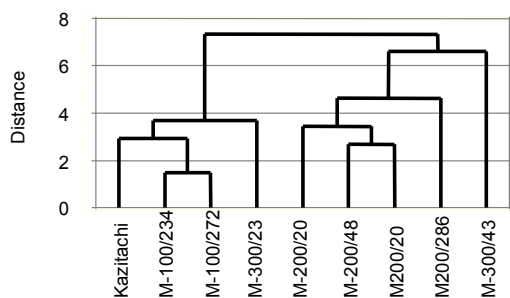
**M-300/169** е получена чрез облъчване на семена с 300 Gy. Формира относително високо неполягащо стъбло в двете отчетени фенофази. Образува от 9 до 10 листа, чиято средна дължина и ширина надвишава тази на Воронежская 9, което е в пряка връзка с по-високото тегло на едно растение преди изметляване (ВВСН-47). M-300/169 е с относително по-високи стойности по отношение семенната продуктивност и по-високо съдържание на суров протеин.

### **6.5.2.4. Кластерен анализ на новополучените мутантни форми**

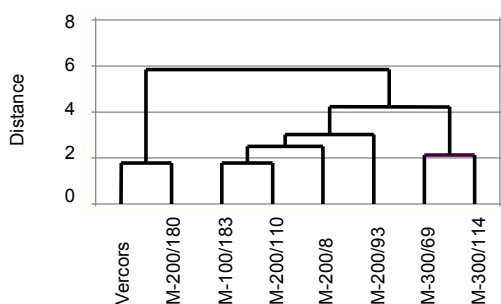
Въз основа на стойностите на анализираниите количествени признаци е проведен йерархичен кластерен анализ за групиране на изследваните мутантни форми и съответните изходни сортове суданска трева (Фиг. 12, 13 и 14).

При мутантните форми от сорт Kazitachi се формират два кластера (Фиг. 12). Първият кластер се формира от изходния сорт и M-100/234, M-100/272 и M-300/23, които могат да се приемат като относително близки. В една група са M-100/234 и M-100/272 открояващи се по дължината на листата. Като самостоятелна се отделя M-300/23 с най-голяма маса на едно растение. Другият кластер е по-голям и в него са обединени 5 мутантни форми M-200/20, M-200/48, M-200/20, M-200/286 и M-300/43 с по-високи стойности на комплекса от изследваните признаци и по-отдалечени от изходния сорт, където последните две форми се открояват с най-добър комплекс от показатели.

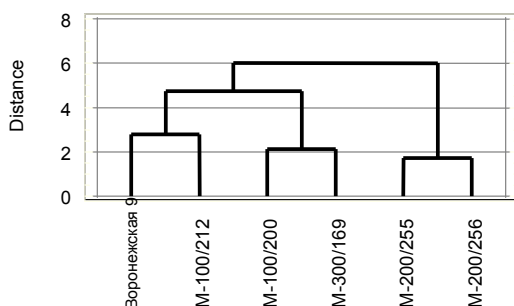
При мутантните форми от сорт Vercors на разстояние от приблизително 2 единици се формират два кластера (Фиг. 13). В първия се включват изходният сорт и M-200/180, открояваща се с по-добра семенна продуктивност. Във вторият влизат останалите осем форми с по-високи стойности на признаците, характеризиращи формирането на вегетативна биомаса. Най-отдалечени от изходния сорт (ниво 6) по комплекса от признаци са M-300/69 и M-300/114.



**Фигура 11.** Дендрограма на мутантни форми получени от сорт Kazitachi по 9 количествени признака



**Фигура 12.** Дендрограма на мутантни форми получени от сорт Vercors по 9 количествени признака



**Фигура 13.** Дендрограма на мутантни форми получени от сорт Воронежская 9 по 9 количествени признака

Мутантните форми от сорт Воронежская 9 се разпределят в два кластера, от които първият е с две подгрупи (Фиг. 14). В първата подгрупа с изходният сорт е мутантна форма M-100/212, а втората включва формиращите високи стъбла и относително по-големи листа – M-100/200 и M-300/169. В самостоятелен кластер (на ниво 6) се обединяват M-200/255 и M-200/256, с най-близко сходство по отношение на семенната продуктивност и формираната вегетативна биомаса.

Получените мутантни форми M-200/286 и M-300/43 от сорт Kazitachi, M-300/69 и M-300/114 от Vercors и M-200/255 и M-200/256 от Воронежская 9 превъзхождат изходните сортове с най-добро съчетание на комплекса от признаци. Кластерният анализ и дендрограмите показват, че с помощта на гамалъчите е създадена растителна плазма с широка генетична основа, което е предпоставка за обогатяването на генетичния фонд при суданската трева.

Настоящото изследване потвърждава потенциала и демонстрира възможностите на гамалъчите за създаване на генетично разнообразие при суданската трева, в резултат на което е създадена колекция от мутантни форми, притежаващи важни биологични и стопански качества и признаци.



## **ИЗВОДИ**

- 1.** Облъчването с гама-лъчи в диапазона 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800 и 2000 Gy не оказва статистически значимо влияние върху лабораторната кълняемост на семената при проучените сортове суданска трева, което прави този показател неподходящ при прогнозиране на оптималните дози на облъчване за целите на мутационната селекция при тази култура. Наблюдаван е статистически доказан подтискащ ефект на гама-лъчите върху първоначалното нарастване и натрупване на свежа биомаса на кълна и корена.
- 2.** Получена е нова информация за цитогенетичните ефекти на гама-лъчите при суданската трева, която досега не е била обект на задълбочени проучвания в тази насока. При анафазния анализ на хромозомните аберации в първия митотичен цикъл след облъчване на сухи семена не са установени съществени различия в радиочувствителността на изследваните три сорта, като само Воронежская 9 проявява повишена устойчивост на най-високата доза (400 Gy). Спектърът на наблюдаваните хромозомни преустройства е показателен за наличие на асинхронност на клетъчната популация в сухите семена по отношение на фазите на клетъчния цикъл, която се очаква да е естествено синхронизирана в предсинтетичния стадий (G1) на интерфазата.
- 3.** Биологичният ефект на гама-лъчите при полски условия, в дози 100, 200, 300 и 400 Gy в  $M_1$  поколение и при трите сорта (Kazitachi, Vercors и Воронежская 9) се изразява в доказано намаляване на броя на поникналите, преживелите и фертилните растения, понижаване на височината на централното стъбло и увеличаване на продължителността на вегетационния период. Дози над 400 Gy предизвикват пълна леталност на растенията при изпитаните сортове при тези условия.
- 4.** Доказано е инхибиращото влияние на гама-лъчите върху проучените количествени признаци и при трите сорта суданска трева в  $M_1$ . Най-съществено е въздействието върху признаците маса на зърната от една метлица, маса на оронената метлица и брой на зърната от една метлица.
- 5.** Установени са тесни корелационни зависимости между мутационната честота във  $M_2$  и показателите полска кълняемост, преживяемост и стерилност, маса на зърната от една метлица, маса на оронената метлица и брой зърна в една метлица в  $M_1$ . Тези зависимости дават основание конкретните показатели да бъдат използвани като надеждни прогнозни критерии при определяне на оптималните дози на облъчване за целите на мутационната селекция.
- 6.** Според комплексната оценка на отчетените показатели в  $M_1$ , най-висока радиочувствителност проявява сорт Kazitachi, следван от Vercors, а най-слаба – Воронежская 9.
- 7.** Установени са ясно изразени различия в стойностите на  $LD_{50}$  при изследване действието на гама-лъчите в диапазона от 200 до 2000 Gy при оранжерийни условия (Kazitachi –  $LD_{50}=557.7$  Gy; Vercors –  $LD_{50}=567.4$  Gy и Воронежская 9 с  $LD_{50}=674.7$  Gy), от една страна и при полски условия (Kazitachi –  $LD_{50}=307.5$  Gy, Vercors –  $LD_{50}=342.6$  Gy и Воронежская 9 –  $LD_{50}=341.0$  Gy) от друга.
- 8.** Честотата на индуцираните генни мутации в  $M_2$ , изразена чрез броя на мутациите на 100  $M_1$  растения и броя на мутантите на 100  $M_2$  растения статистически доказано нараства с увеличаване на дозите на облъчване, съответно от 9.1 до 17.3% и от 0.60 до 2.31%, с изразена най-висока мутабилност при Kazitachi и най-ниска при Воронежская 9.

**9.** Идентифициран е типа и са описани гама-индуцираните хлорофилни (група *chlorohom* и *chlorodiv*), морфологични (засягащи хабитуса на растенията и морфологията на листата и метлицата) и физиологични (засягащи фертилността на растенията и продължителността на вегетационния период) видими мутации в  $M_2$  поколенията на три сорта суданска трева, които досега не са били предмет на подробни проучвания.

**10.** Установените корелационни зависимости между честотата на хлорофилните мутации и честотата на морфологичните мутации в  $M_2$ , в рамките на отделния сорт, дават основание хлорофилните мутации да се използват като приблизителен критерий за оценка на мутабилността при различните дози на облъчване на семена от суданска трева. Анализът на получените данни за влиянието на генотипа върху спектъра на индуцираните генни мутации показва обаче, че този критерий не е достатъчно надежден за сравнителен анализ на мутабилността на различни сортове.

**11.** Определена е мутагенната ефективност и мутагенната ефикасност на гама-лъчите при изследваните сортове суданска трева, базираща се на честотата на мутациите, засягащи гени, които контролират агрономически значими признаци и свойства и на тази основа като оптимални за целите на мутационната селекция може да се препоръчат дози, граничещи със стойностите на  $LD_{50}$  в диапазона 200-300 Gy.

**12.** Получени са нови мутантни форми от трите сорта суданска трева, като М-200/286 и М-300/43 с произход сорт Kazitachi, М-300/69 и М-300/114 – произход Vercors и М-200/255 и М-200/256 – произход Воронежская 9 превъзхождат изходните сортове с най-добро съчетание на комплекс от стопански ценни показатели.

### **ПРИНОСИ С ТЕОРЕТИЧЕН ХАРАКТЕР**

**1.** Установени са статистически значими регресионни линейни зависимости между въздействието на различни дози гама-лъчи и кълняемостта на семената и преживяемостта на растенията при лабораторни, оранжерийни и полски условия, както и стойностите на  $LD_{50}$  при конкретните сортове суданска трева. Тези зависимости придобиват практическо значение при избора на оптимални дози на облъчване на сухи семена при суданска трева за целите на експерименталния мутагенезис.

**2.** Въз основа на проучванията на спектъра на индуцираните видими мутации и проведения корелационен анализ на получените данни са изяснени възможностите за използване на хлорофилните мутации като прогнозен критерий за определяне на оптималните дози на гама-лъчите и мутабилността на сортовете за целите на мутационната селекция при суданската трева.

**3.** Проучена е мутагенната ефективност и ефикасност на широк диапазон от дози при гама-лъчите след използване на модифициран алгоритъм за изчисляване на тези критерии, базиращ се на честотата на генните мутации, засагащи агрономически значими признаци.

### **ПРИНОСИ С ПРИЛОЖЕН ХАРАКТЕР**

**1.** Въз основа на изпитването на широк диапазон от дози и прилагането на комплекс от радиобиологични критерии са установени оптималните дози гама-лъчи за целите на мутационната селекция при една слабо проучена култура, каквато е суданската трева.

2. Установено е, че сорт Kazitachi се отличава с най-висока радиочувствителност и мутабилност, което го прави подходящ при включване в селекционни програми, базираци се на индуциран радиационен мутагенезис.
3. Направена е характеристика на оригинално получени мутантни форми по признаци със селекционно значение и на тази основа е създадена колекция от 20 мутантни форми, притежаващи комплекс от ценни признаци и биохимични показатели, превъзхождащи изходните форми по повече от един от проучваните признаци, които могат да бъдат използвани успешно в селекционните програми при суданската трева.

### **Abstract**

#### **An investigation of the possibilities for enrichment of the diversirty in Sudan grass (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) by means of mutation induction with gamma-rays**

This study was aimed at investigation of the possibilities for enrichment of the gene pool in Sudan grass (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) by means of experimental induction of gene mutations with gamma-rays – Cs<sup>137</sup>. The objects of studies were three varieties of different origin - Kazitachi (Japan), Vercors (USA) and Voronejskaya 9 (Russia). The correlations between a number of M<sub>1</sub> biological parameters, on one hand, and the frequency of the induced visible gene mutations in M<sub>2</sub>, on the other, after irradiation of dry seeds with wide range of doses (200-2000 Gy) were studied, and based on the data obtained the most convenient prognostic criteria for determination of the optimal doses were established for the purposes of mutation breeding. New information concerning the cytogenetic effects of gamma-rays in Sudan grass was obtained. Clearly pronounced differences of the values of LD<sub>50</sub> under greenhouse and field conditions were observed. The frequency of induced gene mutations as scored on the basis of the number of mutations per 100 M<sub>1</sub> plants and the number of 100 mutants per M<sub>2</sub> plants showed a proportional dose-dependent effect, being the highest in Kazitachi and the lowest in Voronejskaya 9. The mutagenic effectiveness and mutagenic efficiency of gamma-rays in Sudan grass varieties analysed were determined on the basis of the frequency of mutations of genes controlling agronomically important traits. Based on the data obtained, doses bordering the values of LD<sub>50</sub> at the range of 200-300 Gy were supposed to be the most convenient for the purposes of mutation breeding. An assessment of the originally selected mutant forms according to indications of breeding importance was done and on this basis a collection of 20 forms possessing a complex of economically valuable traits was created which can be successfully used in breeding programs of Sudan grass.

### **Списък на публикациите във връзка с дисертацията**

1. **Golubinova, I., K. Gecheff, 2011.** M1 cytogenetic and physiological effects of gamma-rays in Sudan grass (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.). Bulg. J. Agric. Sci., 17:417-423.
2. **Голубинова, И. 2011.** Радиационен мутагенез при видовете от род *Sorghum* с акцент върху суданската трева (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.). Селскостопанска наука, 44(5): 3-11.
3. **Голубинова, И., К. Гечев, 2012.** Проучване върху мутагенната ефективност и мутагенната ефикасност на гама-лъчите при суданска трева (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.). Селскостопанска наука, 45(1):42-51.
4. **Голубинова, И. 2012.** Радиочувствителност при суданска трева (*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf.) I. При лабораторни условия. Аграрни науки –под печат.