

ОСОБЛИВОСТІ ЕКОГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ ЗА ДІЇ 1,4-БІСДІАЗОАЦЕТИЛБУТАНУ У ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ

ОКСЕЛЕНКО О.М. – кандидат сільськогосподарських наук
orcid.org/0000-0001-7797-1305

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

НАЗАРЕНКО М.М. – доктор сільськогосподарських наук
orcid.org/0000-0002-6604-0123

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Постановка проблеми. 1,4-бісдіазоацетилбутан належить до класу супермутагенів, тобто хімічних речовин, які можуть спричинити велику кількість мутацій, не завдаючи суттєвої шкоди життєздатності організмів, що зазнають їхнього впливу. Завдяки алкілюючим властивостям, ця речовина вибірково діє на певні ділянки ДНК, що підвищує ймовірність виникнення певних типів мутацій. Такі мутації часто ведуть до розвитку інтенсивних форм рослин з підвищеним врожаєм або стійкістю до несприятливих умов, що робить ці мутагени корисними в селекції і генетиці рослин [1, 3].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Вивчення мутагенної активності різних чинників справді має велике значення для підвищення ефективності індукції господарсько-цінних форм. Особливо це стосується хімічного мутагенезу, де можна регулювати умови для отримання більш корисних результатів. Правильно підібрані концентрації мутагенів, дози впливу і генотипи організмів можуть значно підвищити частоту появи бажаних мутацій [6, 7].

Оптимізація мутагенезу включає вибір мутагену, його дозування, тривалість впливу, а також облік генетичних особливостей організму, що підлягає мутагенезу. Цей процес дозволяє краще спрямовувати мутації в потрібному напрямку [4, 5].

Деякі генотипи виявляють підвищену чутливість або толерантність до дії мутагенних чинників. Це особливо характерно для місцевих сортів, генетичні механізми толерантності яких ще недостатньо вивчені [8, 9]. Підвищена активність за ключовими параметрами, як-от частота мутацій чи ефективність їхнього прояву, може залежати від генетичних особливостей цих сортів, таких як наявність специфічних генів, що впливають на мутаційну толерантність [10].

Мета. Метою було вивчити частоти та спектри екогенетичної мінливості у сучасних сортів пшениці озимої, виявити ключові моменти спадкової мінливості за знаками та в залежності від вхідного матеріалу.

Матеріали та методика досліджень. Насіння 4 сортів пшениці озимої Перспектива Одеська, Соната Полтавська, Шпалівка, МІП Лада обробляли розчином хімічного мутагену ДАБ (1,4-бісдіазоацетилбутан) у концентраціях 0,1, 0,2 та 0,3%. Для кожної обробки були використані 1000 зерен пшениці озимої. Експозиція дії мутагену становила 18 годин. Для контролю використовували необроблені вихідні ініціальні форми (зерна сортів, замочені у воді).

У поколіннях М2–М3 мутантні сімейства були відібрані шляхом візуальної оцінки, аналізу проходження фенотипу, структурним аналізом та аналізом за зерновою продуктивністю. Посів проводили вручну, в кінці вересня, на глибину 4–5 см і з нормою 100 життєздатних насінин в рядок (довжина 1,5 м), міжряддя 15 см, між зразками 30 см, 2 рядки, контроль з необробленим насінням вихідної форми через кожні 20 варіантів.

Досліди проводили на дослідному полі Дніпровського державного аграрно-економічного університету (с. Олександрівка, Дніпровський район, Дніпропетровська область, Україна). Математичну обробку результатів проводили факторним аналізом за допомогою модуля ANOVA, дискримінантним аналізом (Statistica 10.0).

Результати досліджень. Як представлено в таблиці 1 всього було вивчено 8 000 сімей у другому-третьому поколінні. Використовували звичайні концентрації, що характерні для селекційної практики.

При цьому порогові значення досягнуті не були, про що свідчить наявність не менш ніж 500 сімей по кожному варіанту без виключення, навіть вища концентрація ДАБ 0,3% не призвела до значного зниження життєздатності. Зі статистичною достовірністю на загальну частоту мутацій вплинув показник підвищення концентрації ($F=399,51$; $F_{0,05}=3,86$; $P=6,87 \cdot 10^{-10}$), у той же час як показник генотипу був менш, але суттєвим ($F=3,95$; $F_{0,05}=3,86$; $P=0,05$), але при аналізі знаходимо, що при попарному порівнянні суттєво відрізнявся сорт Перспектива Одеська ($F=6,82$; $F_{0,05}=5,98$; $P=0,04$) (через відсутність різниці у дії першої-другої концентрації).

Що стосується частоти змін, то вона варіювала у наступних межах від 2,6% (сорт МІП Лада) до 3,4% (сорт Перспектива Одеська) при дії ДАБ 0,1%, за дії ДАБ 0,2% від 3,6% до 3,8% з відсутністю будь-якої різниці між сортами та від 4,8% (МІП Лада) до 5,2% (сорт Перспектива Одеська) ДАБ 0,3%. В усіх випадках варіанти відрізняються один від одного та від контролю, крім Перспектива Одеська при першій-другій концентраціях. Була зроблена методом кластерного аналізу класифікація сортів (Рис. 1), що показала поділ всіх сортів на дві групи – в першій групі Перспектива Одеська, в другій усі інші сорти.

Сумарним показником, котрий урахує також кількість ознак, за котрими пройшли зміни, обрахований як відношення кількості змінених сімей до загальної кількості ознак, є рівень мінливості (Таблиця 2). У цьому випадку зі статистичною достовірністю на рівень мін-

Таблиця 1

Загальна частота мутацій за дії ДАБ ($x \pm SD$, $n = 500$)

Варіант	Загальна кількість сімей	Кількість мутантних сімей	Частота, %
Перспектива Одеська, кт.	500	2	$0,40 \pm 0,10^a$
Перспектива Одеська, ДАБ 0,1%	500	17	$3,40 \pm 0,18^b$
Перспектива Одеська, ДАБ 0,2%	500	19	$3,80 \pm 0,20^b$
Перспектива Одеська, ДАБ 0,3%	500	26	$5,20 \pm 0,28^c$
Соната Полтавська, кт.	500	3	$0,60 \pm 0,11^a$
Соната Полтавська, ДАБ 0,1%	500	14	$2,80 \pm 0,17^b$
Соната Полтавська, ДАБ 0,2%	500	18	$3,60 \pm 0,20^c$
Соната Полтавська, ДАБ 0,3%	500	25	$5,00 \pm 0,29^d$
Шпалівка, кт.	500	2	$0,40 \pm 0,10^a$
Шпалівка, ДАБ 0,1%	500	15	$3,00 \pm 0,17^b$
Шпалівка, ДАБ 0,2%	500	19	$3,80 \pm 0,20^c$
Шпалівка, ДАБ 0,3%	500	25	$5,00 \pm 0,29^d$
МІП Лада, кт.	500	3	$0,60 \pm 0,11^a$
МІП Лада, ДАБ 0,1%	500	13	$2,60 \pm 0,17^b$
МІП Лада, ДАБ 0,2%	500	18	$3,60 \pm 0,21^c$
МІП Лада, ДАБ 0,3%	500	24	$4,80 \pm 0,27^d$

Примітка: різниця статистично достовірна за факторним аналізом ANOVA за концентраціями при $P_{0,05}$

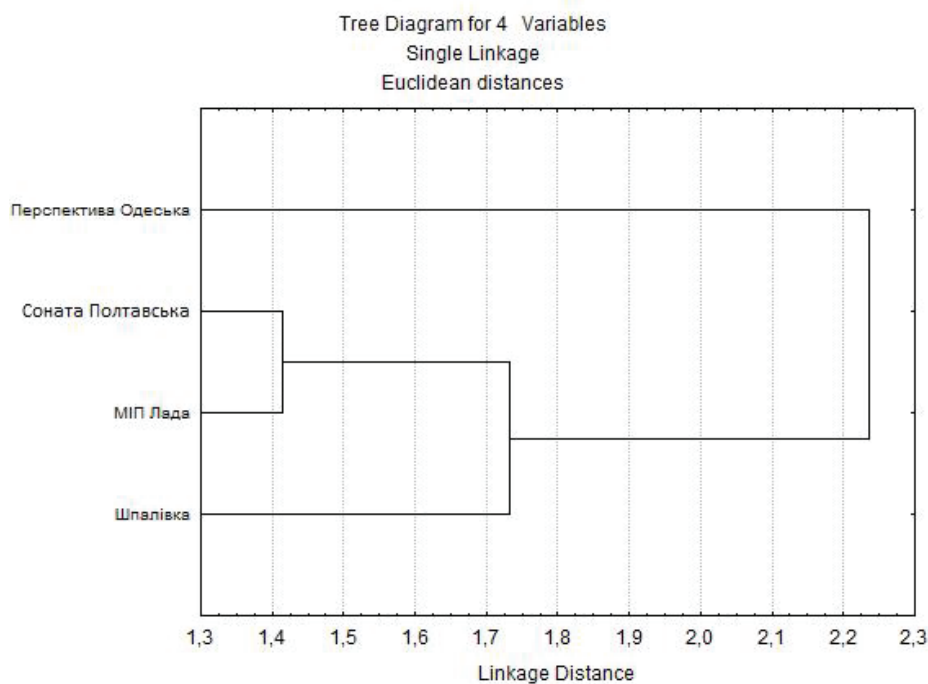


Рис. 1. Результати кластерного аналізу по показнику частоти

ливості вплинув як показник підвищення концентрації ($F=89,17$; $F_{0,05}=3,86$; $P=1,12 \cdot 10^{-6}$), так і показник генотипу ($F=3,89$; $F_{0,05}=3,86$; $P=0,05$), при попарному порівнянні виділився сорт Перспектива Одеська ($F=6,11$; $F_{0,05}=5,98$; $P=0,05$). Параметр варіював від 0,34 (сорт Соната Полтавська) до 0,44 (сорт Перспектива Одеська) за дії ДАБ 0,1%, від 0,50 (сорт МІП Лада) до 0,61 (сорт Шпалівка) за дії ДАБ 0,2%, та від 0,96 (сорт МІП Лада) до 1,09 (сорт Перспектива Одеська).

З урахування спектру варіативності суттєво не змінилася. Знову відсутня різниця для Перспективи Одеської за дії першої та другої концентрації.

В спектрі було отримано всього 27 змінених ознаки по 6 групах мінливості, котрі були проаналізовані за дискримінантним та факторним аналізом для виявлення значимості окремих груп (Таблиці 3, 4).

Перша група мутації за структурою стебла. Це такі ознаки як товсте стебло, тонке стебло, високостеблові, низькостеблові, напівкарлик, слаба воскова поволока, відсутність воскової поволоки. Висока частота високостеблових форм (до 06,0%, регулярна), можливі зміни за восковою поволокою за послабленням реалізації ознаки. Друга група складається з ознак структури зерна. Виникнення мутацій

Таблиця 2

Рівень мінливості за дії ДАБ

Варіант	Рівень мінливості	Кількість змінених ознак
Перспектива Одеська, кт.	0,01 ± 0,01 ^a	2
Перспектива Одеська, ДАБ 0,1%	0,44 ± 0,08 ^b	13
Перспектива Одеська, ДАБ 0,2%	0,57 ± 0,09 ^b	15
Перспектива Одеська, ДАБ 0,3%	1,09 ± 0,20 ^c	21
Соната Полтавська, кт.	0,02 ± 0,01 ^a	3
Соната Полтавська, ДАБ 0,1%	0,34 ± 0,07 ^b	12
Соната Полтавська, ДАБ 0,2%	0,54 ± 0,09 ^c	15
Соната Полтавська, ДАБ 0,3%	1,00 ± 0,19 ^d	20
Шпалівка, кт.	0,01 ± 0,01 ^a	2
Шпалівка, ДАБ 0,1%	0,39 ± 0,07 ^b	13
Шпалівка, ДАБ 0,2%	0,61 ± 0,13 ^c	16
Шпалівка, ДАБ 0,3%	1,00 ± 0,19 ^d	20
МІП Лада, кт.	0,02 ± 0,01 ^a	3
МІП Лада, ДАБ 0,1%	0,31 ± 0,06 ^b	12
МІП Лада, ДАБ 0,2%	0,50 ± 0,08 ^c	14
МІП Лада, ДАБ 0,3%	0,96 ± 0,19 ^d	20

Примітка: різниця статистично достовірна за факторним аналізом ANOVA за концентраціями при $P_{0,05}$

за всіма цими ознаками мало ймовірно. Третя група включає зміни за структурою колосу. Це такі ознаки як остистий колос, безостий колос, довгий колос, рихлий колос, циліндричний колос, веретеноподібний колос, щільний колос, крупний колос, дрібний колос, напівостистий колос, ригідний колос, булавоподібний колос, загострений колос, антоціанові ості. Фактично всі мутації низько ймовірні, але виділилися форми з довгим колосом (до 0,4%, регулярні). Більш варіативна четверта група (зміни за фізіологією росту та розвитку). Можливі регулярні зміни за строками стиглості, в окремих випадках до 0,4%. П'ята група складається з системних мутацій, котрі зовсім нехарактерні, за виключенням невеликої кількості спельтоїдних форм. Шоста група складається з господарчо-цінних форм з високою кущистістю та продуктивністю. Не носять регулярний характер.

Для процесу спадкової мінливості дискримінантним аналізом встановлено модельність окремих параметрів за групами (Таблиця 3, Рис. 2). Суттєвою вона була за частотою, рівнем мінливості, мутацій в першій, четвертій групах. Дискримінантний аналіз показав відсутність різниці у дії ДАБ 0,1 та 0,2% (Рис. 2).

Таким чином, можна достовірно передбачити для дії ДАБ у даних вихідних форм регулярність появи високостеблових мутантів, форм з довгим колосом. Також непогані перспективи у змін за строками стиглості. Інші варіанти мало ймовірні.

Висновки. ДАБ як екогенетичний чинник доволі слабо діє з огляду на частоту та спектр індукованих форм, переважно зміни не мають регулярний характер. Висока ймовірність отримання цінних форм з довгим озерним колосом та регулярне виникнення цінних ранньостиглих форм, але ситуація погіршується через наявність регулярного виникнення пізньостиглих та високостеблових змін. Для використаного вихідного матеріалу суттєві відмінності існують лише за дії ДАБ 0,1–0,2% та лише для сорту Перспектива Одеська. Очевидно, використання цього діапазону не доцільно. Але й ДАБ 0,3% не призводить до отримання вагомої кількості цінного матеріалу. Таким чином, досліджений вихідний матеріал малоефективний у практичному використанні у комплексі з ДАБ. Незважаючи на переважно слабкі зміни у фенотипі, вони не відносяться до практично-цінної частини спектру.

Таблиця 3

Модельні параметри мутагенної активності (ДАБ)

Параметр в моделі	Wilks Lambda λ	Часткова Lambda	F-критичне (4,12)	p-рівень
Загальна частота	0,10	0,79	19,12	0,01
Рівень мінливості	0,09	0,82	19,92	0,01
Перша група	0,22	0,56	4,35	0,05
Друга група	0,69	0,20	1,11	0,18
Третя група	0,45	0,47	2,34	0,08
Четверта група	0,20	0,61	5,47	0,03
П'ята група	0,66	0,21	1,45	0,16
Шоста група	0,27	0,64	3,22	0,06

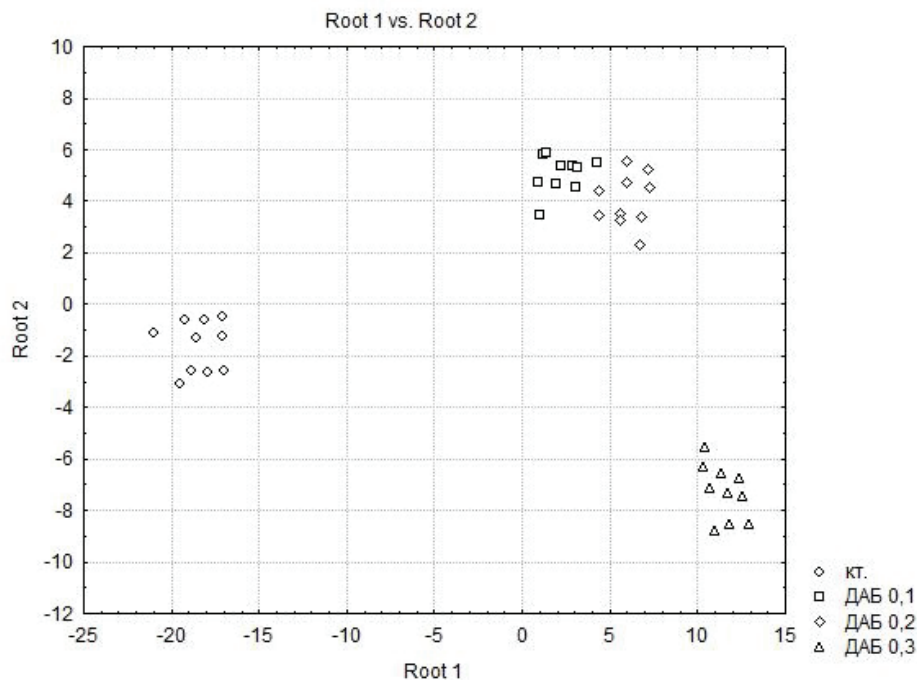


Рис. 2. Результати дискримінантного аналізу за впливом ДАБ

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Abaza G., Awaad A., Attia M., Abdellateif S., Gomaa A., Abaza S., Mansour E. Inducing potential mutants in bread wheat using different doses of certain physical and chemical mutagens. *Plant Breeding and Biotechnology*. 2020. 8(3). P. 252-264.
2. Anter A. Induced Mutations in Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Improved Grain Yield by Modifying Spike Length. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2021. 20: P. 313-323. Retrieved January 14, 2023, from doi: 10.3923/ajps.2021.313.323
3. Chaudhary J., Deshmukh R., Sonah H. Mutagenesis Approaches and Their Role in Crop Improvement. *Plants*. 2019. 8, 467.
4. Mangi N., Baloch A. W., Khaskheli N. K., Ali M., Afzal W. Multivariate Analysis for Evaluation of Mutant Bread Wheat Lines Using Metric Traits. *Integrative Plant Sciences*. 2021. 1(1). P. 29-34.
5. Nazarenko M., Izhboldin O. Izhboldina O. Study of variability of winter wheat varieties and lines in terms of winter hardness and drought resistance. *AgroLife Scientific Journal*. 2022. 11(2). P. 116-123.
6. Horshchar, V., Nazarenko, M. Peculiarities of the sodium azide action as a factor of variability on winter wheat. *Agriculture and Forestry*. 2024. 70(2). P. 61-76.
7. Shabani M., Alemzadeh A., Nakhoda B., Razi1 H., Houshmandpanah Z., Hildebrand D. Optimized gamma radiation produces physiological and morphological changes that improve seed yield in wheat. *Physiology Molecular Biology Plants*. 2022. 28(8). 1571-1586.
8. Spencer-Lopes M.M., Forster B.P., Jankuloski L. Manual on mutation breeding. Third edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 2018. P. 672.
9. Udage A. Introduction to plant mutation breeding: different approaches and mutagenic agents. *Journal*

of Agricultural Sciences – Sri Lanka. 2021. 16. 466.

10. Yali W., Mitiku T. Mutation Breeding and Its Importance in Modern Plant Breeding. *Journal of Plant Sciences*. 2022. 10(2). 64-70.

REFERENCES:

1. Abaza G., Awaad A., Attia M., Abdellateif S., Gomaa A., Abaza S., Mansour E. (2020). Inducing potential mutants in bread wheat using different doses of certain physical and chemical mutagens. *Plant Breeding and Biotechnology*. 8(3). 252-264.
2. Anter A. (2021). Induced Mutations in Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Improved Grain Yield by Modifying Spike Length. *Asian Journal of Plant Sciences*. 20. 313-323.
3. Chaudhary J., Deshmukh R., Sonah H. (2019). Mutagenesis Approaches and Their Role in Crop Improvement. *Plants*. 8, 467.
4. Mangi N., Baloch A. W., Khaskheli N. K., Ali M., Afzal W. (2021). Multivariate Analysis for Evaluation of Mutant Bread Wheat Lines Using Metric Traits. *Integrative Plant Sciences*. 1(1), 29-34.
5. Nazarenko M., Izhboldin O. Izhboldina O. (2022). Study of variability of winter wheat varieties and lines in terms of winter hardness and drought resistance. *AgroLife Scientific Journal*. 11(2), 116-123.
6. Horshchar, V., Nazarenko, M. (2024). Peculiarities of the sodium azide action as a factor of variability on winter wheat. *Agriculture and Forestry*. 70(2). 61-76.
7. Shabani M., Alemzadeh A., Nakhoda B., Razi1 H., Houshmandpanah Z., Hildebrand D. (2022). Optimized gamma radiation produces physiological and morphological changes that improve seed yield in wheat. *Physiology Molecular Biology Plants*. 28(8). 1571-1586.

8. Spencer-Lopes M.M., Forster B.P., Jankuloski L. Manual on mutation breeding. Third edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 2018. P. 672.
9. Udage A. (2021). Introduction to plant mutation breeding: different approaches and mutagenic agents. *Journal of Agricultural Sciences – Sri Lanka*. 16. 466.
10. Yali W., Mitiku T. (2022). Mutation Breeding and Its Importance in Modern Plant Breeding. *Journal of Plant Sciences*. 10(2). 64-70.

Окселенко О.М., Назаренко М.М. Особливості екогенетичної мінливості за дії 1,4-бисдіазаоцетилбутану у пшениці озимій

Вивчення мутагенної активності різних чинників справді має велике значення для підвищення ефективності індукції господарсько-цінних форм. Особливо це стосується хімічного мутагенезу, де можна регулювати умови для отримання більш корисних результатів. **Мета.** Метою було вивчити частоти та спектри екогенетичної мінливості у сучасних сортів пшениці озимі, виявити ключові моменти спадкової мінливості за знаками та в залежності від вхідного матеріалу. **Методи.** Насіння 4 сортів пшениці озимі Перспектива Одеська, Соната Полтавська, Шпалівка, МІП Лада обробляли розчином хімічного мутагену ДАБ (1,4-бисдіазаоцетилбутан) у концентраціях 0,1, 0,2 та 0,3%. У поколіннях М2–М3 мутантні сімейства були відібрані шляхом візуальної оцінки, аналізу проходження фенофаз, структурним аналізом та аналізом за зерновою продуктивністю. **Результати.** Було вивчено 8 000 сімей у другому-третьому поколінні. Використовували звичайні концентрації, що характерні для селекційної практики. При цьому навіть вища концентрація ДАБ 0,3% не призвела до значного зниження життєздатності. Зі статистичною достовірністю на загальну частоту мутацій вплинули показники підвищення концентрації та вихідної форми, при попарному порівнянні суттєво відрізнявся сорт Перспектива Одеська, в усіх випадках варіанти відрізняються один від одного та від контролю крім ДАБ 0,1 та 0,2% для сорту Перспектива Одеська. На рівень мінливості вплинув як показник підвищення концентрації, так і показник генотипу, при попарному порівнянні відділився сорт Перспектива Одеська. В спектрі було отримано всього 27 змінених ознак по 6 групах мінливості, можна достовірно передбачити для даного мутагену на даному матеріалі високу кількість (в порівнянні) високостеблових мутантів, форм з довгим колосом. Також непогані перспективи у змін за строками стиглості. Інші варіанти малоймовірні. Для процесу спадкової мінливості дискримінантним аналізом встановлено модельність окремих параметрів за групами. Суттєвою вона була за частотою, рівнем мінливості, мутацій в першій, четвертій групах. Дискримінантний аналіз показав відсутність різниці у дії ДАБ 0,1 та 0,2%. **Висновки.** Висока ймовірність отримання цінних форм з довгим колосом та регулярне виникнення цінних ранньостиглих форм, але ситуація погіршується через наявність регулярного виникнення пізньостиглих та високостеблових змін. Використання діапазону ДАБ 0,1–0,2% не

доцільно, але й ДАБ 0,3% не призводить до отримання вагомій кількості цінного матеріалу. Досліджений вихідний матеріал малоефективний у практичному використанні у комплексі з ДАБ.

Ключові слова: пшениця озима, 1,4-бисдіазаоцетилбутан, мутації, частота, спектр.

Okselenko O.M., Nazarenko M.M. Peculiarities of ecogenetic variability under the influence of 1,4-bisdiazoacetylbutane in winter wheat

The study of the mutagenic activity of various factors is really of great importance for increasing the efficiency of the induction of economic and valuable forms. This is especially true of chemical mutagenesis, where conditions can be adjusted to produce more beneficial results. **Purpose.** The aim was to study the frequencies and spectra of ecogenetic variability in modern varieties of winter wheat, to identify the key moments of hereditary variability by signs and depending on the input material. **Methods.** Seeds of 4 varieties of winter wheat Perspektiva Odeska, Sonata Poltavska, Shpalivka, MIP Lada were treated with a solution of the chemical mutagen DAB (1,4-bisdiazoacetylbutane) in concentrations of 0.1, 0.2 and 0.3%. In the M2–M3 generations, mutant families were selected by visual assessment, phenophase analysis, structural analysis, and grain yield analysis. **Results.** 8,000 families in the second-third generation were studied. Usual concentrations typical for breeding practice were used. At the same time, even a higher DAB concentration of 0.3% did not lead to a significant decrease in viability. With statistical reliability, the overall frequency of mutations was influenced by the indicators of increased concentration and initial form, in pairwise comparisons, the variety Perspektiva Odeska differed significantly, in all cases the variants differ from each other and from the control, except for DAB 0.1 and 0.2% for the variety Perspektiva Odeska. The level of variability was influenced by both the concentration increase indicator and the genotype indicator, and the variety Perspektiva Odeska variety was separated in a pairwise comparison. In the spectrum, a total of 27 changed signs in 6 groups of variability were obtained, it is possible to reliably predict for this mutagen on this material a high number (in comparison) of high-stemmed mutants, forms with a long spike. There are also good prospects for changes in terms of maturity. Other options are unlikely. For the process of hereditary variability, discriminant analysis established the modeling of individual parameters by groups. It was significant in terms of frequency, level of variability, and mutations in the first and fourth groups. Discriminant analysis showed no difference in the effect of DAB 0.1 and 0.2%. **Findings.** There is a high probability of obtaining valuable forms with a long eared ear and regular occurrence of valuable early-ripening forms, but the situation is worsened by the presence of regular occurrence of late-ripening and high-stem changes. Using the DAB range of 0.1–0.2% is not advisable, but even 0.3% DAB does not lead to obtaining a significant amount of valuable material. The studied raw material is not very effective in practical use in combination with DAB.

Key words: winter wheat, 1,4-bisdiazoacetylbutane, mutations, rate, spectra.