

## МІНЛИВІСТЬ У ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ЗА ФОРМОТВОРЧОЇ ДІЇ NONIDET P-40

**ОКСЕЛЕНКО О.М.** – кандидат сільськогосподарських наук

[orcid.org/0000-0001-7797-1305](https://orcid.org/0000-0001-7797-1305)

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

**НАЗАРЕНКО М.М.** – доктор сільськогосподарських наук

[orcid.org/0000-0002-6604-0123](https://orcid.org/0000-0002-6604-0123)

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

**Постановка проблеми.** Nonidet P-40 належить до класу епімутагенів, тобто хімічних речовин, які можуть спричинити велику кількість спадкових змін, не завдаючи суттєвої пошкодження ДНК живого організму, оскільки впливають на білкову частину хромосоми. Завдяки епігенетичним властивостям, ця речовина вибірково діє ділянки хроматину, що підвищує ймовірність виникнення певних типів спадкових змін. Такі зміни часто ведуть до появи принципово нових форм рослин з підвищеними врожайними якостями, толерантністю до біо- та абіотичних з огляду на генетичне поліпшення рослин [1, 3].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Вивчення екогенетичної активності чинників важливе для підвищення ефективності індукції цінних форм, особливо у хімічному мутагенезі. Регулювання концентрацій епімутагенів, доз впливу та вибір генотипів здатні значно збільшити частоту бажаних спадкових змін [6, 7].

Оптимізація екогенетичного поліпшення передбачає вибір агенту, його дозування, тривалість впливу та врахування генетичних особливостей організму. Це забезпечує цілеспрямоване спрямування спадкових змін у бажаному напрямку [4, 5].

Деякі генотипи виявляють підвищену чутливість або толерантність до дії епімутагенних чинників. Це особливо характерно для місцевих сортів, генетичні механізми толерантності яких ще недостатньо вивчені [8, 9]. Підвищена активність за ключовими параметрами може бути зумовлена генетичними особливостями сортів, зокрема наявністю генів, що впливають на толерантність до спадкових змін [10].

**Мета.** Метою було вивчити частоти та спектри епігенетичної мінливості у сортів пшениці озимої, виявити ключові моменти виникнення спадкових змін за ознаками та в залежності від вихідного матеріалу.

**Матеріали та методика досліджень.** Насіння 4 сортів пшениці озимої Перспектива Одеська, Соната Полтавська, Шпалівка, МІП Лада обробляли розчином хімічного епімутагену Nonidet P-40 (4-нонілфеніл-поліетиленгліколь, тут та далі по тексту – NP-40) у концентраціях 0,01 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,5 %. 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 M2–M3 мутантні сімейства були відібрані шляхом візуальної оцінки, аналізу проходження фенотипів, структурним аналізом та аналізом за зерно-

вою 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 10 000 сімей у другому-третьому поколінні. Для дослідження генетичного поліпшення використовували концентрації раніше визначені для застосування інших епімутагенів.

При цьому порогові значення досягнуті не були, про що свідчить наявність не менш ніж 500 сімей по кожному варіанту без виключення., навіть вища концентрація NP-40 0,5 % не призвела до значного зниження життєздатності. Зі статистичною достовірністю на загальну частоту мутацій вплинув показник підвищення концентрації ( $F=213,51$ ;  $F_{0,05}=3,67$ ;  $P=4,25 \cdot 10^{-7}$ ), у той же час як показник генотипу був не суттєвим ( $F=3,23$ ;  $F_{0,05}=3,86$ ;  $P=0,07$ ), при попарному порівнянні суттєво не відрізнявся жоден сорт.

Що стосується частоти змін, то вона варіювала у наступних межах від 1,8 % (сорт МІП Лада) до 3,4 % (сорт Перспектива Одеська) при дії NP-40 0,01%, за дії NP-40 0,05 % від 2,6 % (МІП Лада) до 3,2 % (сорт Перспектива Одеська) з відсутністю будь-якої різниці між сортами та від 3,6% (Шпалівка) до 4,4 % (сорт Перспектива Одеська) NP-40 0,1%, від 4,4% (МІП Лада) до 5,6 % (сорт Перспектива Одеська) NP-40 0,5%. В усіх випадках варіанти відрізняються один від одного та від контролю.

Була зроблена методом кластерного аналізу класифікація сортів (Рис. 1), що показала поділ всіх сортів на дві групи – в першій групі Перспектива Одеська та Соната Полтавська, 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 мінливості вплинув як показник підвищення концентрації ( $F=43,17$ ;  $F_{0,05}=3,67$ ;  $P=3,13 \cdot 10^{-4}$ ), так і показник генотипу ( $F=3,93$ ;  $F_{0,05}=3,86$ ;  $P=0,05$ ), при попарному порівнянні виділилися сорти Шпалівка та МІП Лада ( $F = 6,01$ ;

Таблиця 1

Загальна частота мутацій за дії NP-40 ( $\bar{x} \pm SD$ , n = 500)

Сорт	Варіант	Загальна кількість сімей	Кількість мутантних сімей	Частота, %
Перспектива Одеська	вода	500	2	0,40 ± 0,10 <sup>a</sup>
	NP-40 0,01 %	500	12	2,40 ± 0,19 <sup>b</sup>
	NP-40 0,05 %	500	16	3,20 ± 0,22 <sup>c</sup>
	NP-40 0,1 %	500	22	4,40 ± 0,25 <sup>d</sup>
	NP-40 0,5 %	500	28	5,60 ± 0,29 <sup>e</sup>
Соната Полтавська	вода	500	5	0,60 ± 0,11 <sup>a</sup>
	NP-40 0,01 %	500	10	2,00 ± 0,18 <sup>b</sup>
	NP-40 0,05 %	500	15	3,00 ± 0,22 <sup>c</sup>
	NP-40 0,1 %	500	21	4,20 ± 0,27 <sup>d</sup>
	NP-40 0,5 %	500	27	5,40 ± 0,29 <sup>e</sup>
Шпалівка	вода	500	2	0,40 ± 0,10 <sup>a</sup>
	NP-40 0,01 %	500	10	2,00 ± 0,18 <sup>b</sup>
	NP-40 0,05 %	500	14	2,80 ± 0,22 <sup>c</sup>
	NP-40 0,1 %	500	18	3,60 ± 0,27 <sup>d</sup>
	NP-40 0,5 %	500	24	4,80 ± 0,29 <sup>e</sup>
МІП Лада	вода	500	3	0,60 ± 0,11 <sup>a</sup>
	NP-40 0,01 %	500	9	1,80 ± 0,18 <sup>b</sup>
	NP-40 0,05 %	500	13	2,60 ± 0,22 <sup>c</sup>
	NP-40 0,1 %	500	19	3,80 ± 0,26 <sup>d</sup>
	NP-40 0,5 %	500	22	4,40 ± 0,28 <sup>e</sup>

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

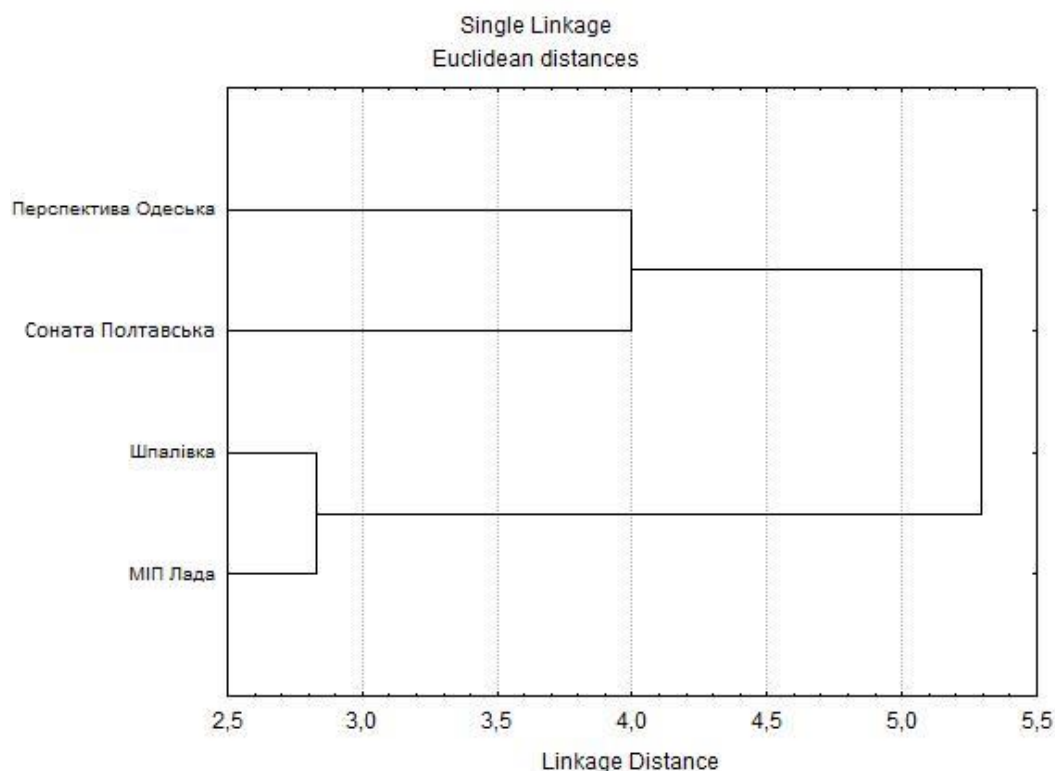


Рис. 1. Результати кластерного аналізу по показнику частоти

Таблиця 2

## Рівень мінливості за дії NP-40

Сорт	Варіант	Рівень мінливості	Кількість змінених ознак
Перспектива Одеська	вода	0,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	2
	NP-40 0,01 %	0,26 ± 0,06 <sup>b</sup>	11
	NP-40 0,05 %	0,45 ± 0,08 <sup>c</sup>	14
	NP-40 0,1 %	0,75 ± 0,16 <sup>d</sup>	17
	NP-40 0,5 %	1,29 ± 0,19 <sup>e</sup>	23
Соната Полтавська	вода	0,02 ± 0,01 <sup>a</sup>	5
	NP-40 0,01 %	0,18 ± 0,06 <sup>b</sup>	9
	NP-40 0,05 %	0,36 ± 0,08 <sup>c</sup>	12
	NP-40 0,1 %	0,67 ± 0,17 <sup>d</sup>	16
	NP-40 0,5 %	1,03 ± 0,20 <sup>e</sup>	19
Шпалівка	вода	0,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	2
	NP-40 0,01 %	0,18 ± 0,05 <sup>b</sup>	9
	NP-40 0,05 %	0,34 ± 0,12 <sup>c</sup>	12
	NP-40 0,1 %	0,58 ± 0,17 <sup>d</sup>	16
	NP-40 0,5 %	0,91 ± 0,19 <sup>d</sup>	19
МІП Лада	вода	0,02 ± 0,01 <sup>a</sup>	3
	NP-40 0,01 %	0,14 ± 0,05 <sup>b</sup>	8
	NP-40 0,05 %	0,26 ± 0,07 <sup>c</sup>	10
	NP-40 0,1 %	0,65 ± 0,15 <sup>d</sup>	17
	NP-40 0,5 %	0,75 ± 0,18 <sup>d</sup>	17

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

Таблиця 3

## Модельні параметри мутагенної активності (NP-40)

Параметр в моделі	Wilks Lambda $\lambda$	Часткова Lambda	F-критичне (4,13)	p-рівень
Загальна частота	0,11	0,29	6,12	0,02
Рівень мінливості	0,03	0,20	12,72	0,01
Перша група	0,10	0,26	9,35	0,01
Друга група	0,32	0,15	2,53	0,08
Третя група	0,46	0,19	2,04	0,08
Четверта група	0,10	0,25	9,47	0,01
П'ята група	0,65	0,10	1,44	0,17
Шоста група	0,14	0,33	4,22	0,05

$F_{0,05} = 5,98$ ;  $P = 0,05$ ). Параметр варіював таким чином, що у даних показників не було різниці між дії NP-40 0,1 % та NP-40 0,5 %.

В спектрі було отримано всього 30 змінених ознак 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 високостеблові, низькостеблові, напівкарлик, інтенсивна воскова поволока, слаба воскова поволока, відсутність воскової поволоки. Висока частота високостеблових форм (до 0,8 %, регулярна), можливі зміни за послабленням воскової поволоки (до 0,6 %, регулярна), до регулярних також відноситься низькорослість до 0,4 %. Друга група складається з ознак структури зерна. Виникнення мутацій за всіма цими ознаками малоімовірно але регулярне, особливо для ознаки дрібне зерно та для сорту Соната Полтавська. Третя група включає зміни за структурою колосу. Це такі ознаки як безо-

стий 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 низькоїмовірні, але виділилися форми з дрібним колосом (до 0,6 %, регулярні), безостий колос та крупним 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 0,6 % (пізньостиглість) та 0,4 % ранньостиглість. Вагома кількість стерильних форм у сортів Перспективи Одеської та Сонати Полтавської при вищих концентраціях. П'ята група складається з системних мутацій, котрі зовсім нехарактерні, за виключенням невеликої кількості спельтоїдних форм та поодиноких скверхедів. Шоста група складається з господарчо-цінних форм з високої кушистістю та продуктивністю. Продуктивні носять регулярний характер, але з низькою частотою.

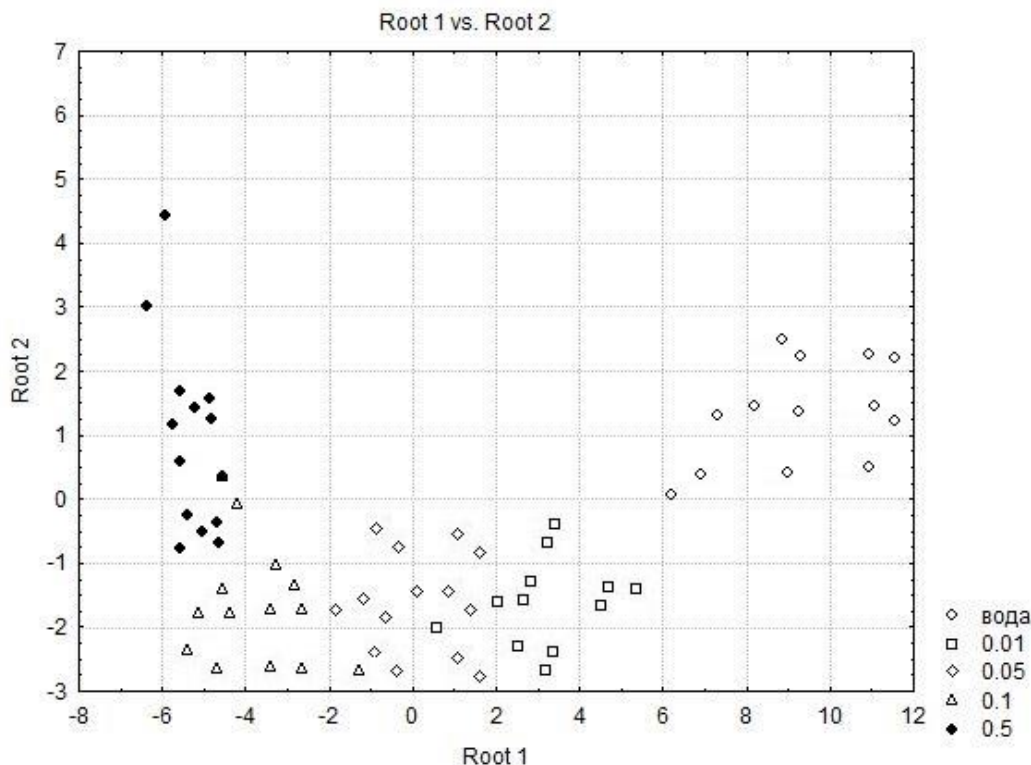


Рис. 2. Результати дискримінантного аналізу за впливом NP-40

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, шостій групах. Дискримінантний аналіз показав відсутність різниці у дії NP-40 0,05 та 0,1 % (Рис. 2).

Взагалі центроїдні відстані були незначні для усіх концентрацій та можна сказати, що попарно попередня концентрація від наступної відрізнялася значимо, але без суттєвих переходів.

Можна достовірно передбачити для дії NP-40 у даних вихідних форм регулярність появи низькостеблових мутантів, форм з крупним колосом. Також непогані перспективи у змін за ранньостиглістю, продуктивних форм. Інші позитивні варіанти малоімовірні.

**Висновки.** NP-40 як екогенетичний чинний доволі слабо діє з огляду на частоту та спектр індукованих форм, але хоч і низькочастотні, зміни мають регулярний характер та де в чому характерні для деяких сортів (Соната Полтавська, Перспектива Одеська). Висока ймовірність отримання цінних форм з крупним озерним колосом та регулярне виникнення цінних ранньостиглих, низькостеблових форм, але ситуація погіршується через наявність регулярного виникнення пізньостиглих та високостеблових змін. Для використаного вихідного матеріалу більш перспективні варіанти дії NP-40 0,1 – 0,5 %, сортова специфіка відсутня. Модельним є наявність продуктивних форм, що є дуже рідким при визначенні канонічних функцій. Досліджений чинник викликає певну цікавість у формотворчому процесі через регулярність змін.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Abaza G., Awaad A., Attia M., Abdellateif S., Goma 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. Мінливість у пшениці озимої за формотворчої дії Nonidet P-40

Nonidet P-40 належить до класу епімутантів, тобто хімічних речовин, які можуть спричинити велику кількість спадкових змін, не завдаючи суттєвої шкоди ДНК живого організму, оскільки впливають на білкову частину хромосоми. **Мета.** Вивчити частоти та спектри епігенетичної мінливості у сортів пшениці озимої, виявити ключові моменти виникнення спадкових змін за ознаками та в залежності від вихідного матеріалу. **Методи.** Насіння 4 сортів пшениці озимої Перспектива Одеська, Соната Полтавська, Шпалівка, МІП Лада обробляли розчином хімічного епімутанту Nonidet P-40 (4-нонілфеніл-полиетиленгликоль, тут та далі по тексту – NP-40) у концентраціях 0,01 %, 0,05 %,

0,1 %, 0,5 %. У поколіннях M2–M3 мутантні сімейства були відібрані шляхом візуальної оцінки, аналізу проходження фенофаз, структурним аналізом та аналізом за зерновою продуктивністю. **Результати.** Було вивчено 10 000 сімей у другому-третьому поколінні. Використовували звичайні концентрації, що характерні для екогенетичної практики. При цьому навіть вища концентрація NP-40 0,5% не призвела до значного зниження життєздатності. Зі статистичною достовірністю на загальну частоту мутацій вплинули показники підвищення концентрації, але не вихідної форми, в усіх випадках варіанти для частоти відрізняються один від одного та від контролю, для рівня мінливості крім крім NP-40 0,1% та 0,5 % для сортів Шпалівка та МІП Лада. В спектрі було отримано всього 30 змінених ознак по 6 групах мінливості, можна достовірно передбачити для даного мутагену на даному матеріалі високу кількість (в порівнянні) низькостеблових мутантів, форм з крупним колосом. Також непогані перспективи у змін за ранньостиглістю, виникнення продуктивних форм. Інші позитивні варіанти малоімовірні. Для процесу спадкової мінливості дискримінантним аналізом встановлено модельність окремих параметрів за групами. Суттєвою вона була за частотою, рівнем мінливості, мутацій в першій, четвертій, шостій групах. Дискримінантний аналіз показав відсутність різниці у дії NP-40 0,05 та 0,1 %. **Висновки.** NP-40 як екогенетичний чинний доволі слабо діє з огляду на частоту та спектр індукованих форм, але хоч і низькочастотні, зміни мають регулярний характер та де в чому характерні для деяких сортів (Соната Полтавська, Перспектива Одеська). Висока ймовірність отримання цінних форм з крупним озерним колосом та регулярне виникнення цінних ранньостиглих, низькостеблових форм, але ситуація погіршується через наявність регулярного виникнення пізньостиглих та високостеблових змін. Для використаного вихідного матеріалу більш перспективні варіанти дії NP-40 0,1 – 0,5 %, сортова специфіка відсутня.

**Ключові слова:** пшениця озима, Nonidet P-40, епімутації, частота, спектр.

#### Okselenko O.M., Nazarenko M.M. Variability in winter wheat under the formative action of Nonidet P-40

Nonidet P-40 belongs to the class of epimutagens, i.e. chemicals that can cause a large number of hereditary changes without causing significant damage to the DNA of a living organism, as they affect the protein part of the chromosome. **Purpose.** To study the frequencies and spectra of epigenetic variability in winter wheat varieties, to identify key moments of the occurrence of hereditary changes in traits and depending on the source material. **Methods:** Seeds of 4 varieties of winter wheat Perspektiva Odeska, Sonata Poltavaska, Shpalivka, MIP Lada were treated with a solution of the chemical epimutagen Nonidet P-40 (4-nonylphenyl-polyethylene glycol, here and hereinafter referred to as NP-40) in concentrations of 0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5%. In generations M2–M3, mutant families were selected by visual assessment, analysis of phenophases, structural analysis, and analysis of grain yield. **Results.** 10,000 families in the second and third generations were studied. Usual concentrations were used, which are typical for ecogenetic practice. At the same time, even a higher concentration of NP-40 0.5% did not lead to a significant decrease in viability. With statistical significance, the total mutation frequency was affected by the indicators of increasing concentration, but not the initial form, in all cases the variants

for frequency differ from each other and from the control, for the level of variability except for NP-40 0.1% and 0.5% for the Shpalivka and MIP Lada varieties. In the spectrum, a total of 30 changed traits were obtained for 6 groups of variability, it is possible to reliably predict for this mutagen on this material a high number (in comparison) of short-stem mutants, forms with a large ear. Also, there are good prospects for changes in early maturity, the emergence of productive forms. Other positive variants are unlikely. For the process of hereditary variability, discriminant analysis established the modelability of individual parameters by groups. It was significant in terms of frequency, level of variability, mutations in the first, fourth, and sixth groups. Discriminant analysis showed no difference in the effect of

NP-40 0.05 and 0.1%. **Findings.** NP-40 as an ecogenetic agent has a rather weak effect due to the frequency and spectrum of induced forms, but although low-frequency, the changes are regular and are in some ways characteristic of some varieties (Sonata Poltavska, Perspektyva Odeska). There is a high probability of obtaining valuable forms with large grain ears and the regular occurrence of valuable early-ripening, low-stem forms, but the situation is worsened by the regular occurrence of late-ripening and high-stem changes. For the source material used, more promising options for the action of NP-40 0.1 – 0.5 %, there is no varietal specificity.

**Key words:** winter wheat, Nonidet P-40, epimutations, rate, spectra.