

ОСОБЛИВОСТІ ІНДУКЦІЇ МУТАЦІЙ У ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ СТЕПОВОГО ЕКОТИПУ

ДІДЕНКО В.В. – аспірант

orcid.org/0009-0009-1912-8438

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

НАЗАРЕНКО М.М. – доктор сільськогосподарських наук

orcid.org/0000-0002-6604-0123

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Постановка проблеми. Азид натрію належить до групи високоефективних хімічних мутагенів, які умовно називають «супермутагенами». Їх особливістю є здатність викликати високу частоту індукованих мутацій без значного зниження життєздатності рослин, на відміну від фізичних мутагенів, застосування яких у подібних дозах зазвичай супроводжується суттєвим зниженням виживаності та продуктивності оброблених рослин. Завдяки специфічному механізму дії – алкілюючому ефекту та вибірковій спорідненості до окремих ділянок молекули ДНК – азид натрію забезпечує виникнення специфічних мутацій, зокрема пов'язаних із морфологічними ознаками. Це зумовлює можливість отримання інтенсивних форм рослин із високими показниками господарської придатності, що особливо важливо для сучасної селекції [1, 3].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Дослідження останніх років вказують на важливість детального вивчення особливостей мутагенної активності різних чинників для максимізації ефективності індукції господарсько-цінних мутацій. Встановлено, що в умовах оптимізації системи «природа мутагену – доза (концентрація) – генотип» ефективність індукції мутацій може зростати на 60–80%, що особливо характерно для хімічних мутагенів [6, 7].

Однією з найважливіших характеристик хімічних мутагенів є їхня висока сайт-специфічність, яка на рівні фенотипу проявляється у підвищеній частоті певних типів мутацій порівняно з іншими, менш специфічними мутагенними факторами. Це дозволяє цілеспрямовано керувати процесом індукції окремих категорій корисних мутацій [4, 5].

Однак, реакція рослинних організмів на мутагенну дію суттєво залежить від генотипу. Встановлено, що окремі генотипи, особливо локальні сорти з певними генетичними особливостями, проявляють значно вищу активність за ключовими параметрами мутагенезу. Водночас генетичні механізми, що забезпечують толерантність або чутливість окремих сортів до дії мутагенів, до кінця не досліджені [8, 9].

Таким чином, важливим завданням практичного мутагенезу в селекції є оптимальний підбір генотипів рослин для обробки конкретними мутагенами. Одним із перспективних підходів до встановлення меж генетичної пластичності рослин є поглиблена оцінка широкого асортименту зародкової плазми культур [10].

Мета. Метою роботи було визначити особливості індукції частоти та спектру мутаційних змін у рослин озимої пшениці в другому-третьому поколіннях після дії азиду натрію, а також виявити ключові закономірності мутаційної мінливості за окремими морфобіологічними ознаками залежно від генотипу вихідного матеріалу.

Матеріали та методика досліджень. Застосували мутаген азид натрію (далі тут та по тексту – АН), що відомий доволі високою генетичною активністю при помірному зниженні життєздатності.

Насіння 2 сортів пшениці озимої Вежа та Ігрита обробляли розчином хімічного мутагену АН у концентраціях 0,01, 0,025, 0,05, 0,1%. 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 4 500 сімей у другому-третьому поколінняі. Використовували звичайні концентрації, що характерні для селекційної практики.

Таблиця 1

Загальна частота мутацій при дії АН в другому-третьому поколінняі ($\bar{x} \pm SD$, $n = 450-500$)

Варіант	Загальна кількість сімей	Кількість мутантних сімей	Частота, %
Вежа, кт.	500	2	0,40±0,11a
Вежа, АН 0,01%	500	24	6,40±0,21b
Вежа, АН 0,025%	500	36	9,40±0,32c
Вежа, АН 0,05%	500	52	12,60±0,45d
Вежа, АН 0,1%	500	61	15,60±0,51e
Ігрита, кт.	500	1	0,20±0,07a
Ігрита, АН 0,01%	500	19	4,40±0,24b
Ігрита, АН 0,025%	500	25	6,40±0,27c
Ігрита, АН 0,05%	500	34	10,20±0,33d
Ігрита, АН 0,1%	450	45	13,78±0,48e

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

Таблиця 2

Рівень мінливості за дії АН

Варіант	Рівень мінливості	Кількість змінених ознак
Вежа, кт.	0,01±0,01 ^a	2
Вежа, АН 0,01%	1,34±0,10 ^b	21
Вежа, АН 0,025%	2,82±0,21 ^c	30
Вежа, АН 0,05%	4,03±0,31 ^d	32
Вежа, АН 0,1%	4,84±0,32 ^e	31
Ігрита, кт.	0,01±0,01 ^a	1
Ігрита, АН 0,01%	0,75±0,07 ^b	17
Ігрита, АН 0,025%	1,28±0,10 ^c	20
Ігрита, АН 0,05%	2,86±0,22 ^d	28
Ігрита, АН 0,1%	4,41±0,31 ^e	32

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

При цьому порогові значення досягнуті не були, про що свідчить наявність не менш ніж 500 сімей по кожному варіанту з одним виключенням, вища концентрація АН 0,1% призвела до деякого зниження життєздатності з доббором лише 450 сімей. Зі статистичною достовірністю на загальну частоту мутацій вплинув показник підвищення концентрації ($F=44,51$; $F_{0,05}=2,17$; $P=4,34 \cdot 10^{-3}$), показник генотипу теж був суттєвим ($F=7,92$; $F_{0,05}=4,01$; $P=0,01$), при аналізі знаходимо, що при попарному порівнянні суттєво відрізнялися сорти Вежа та Ігрита ($F=9,19$; $F_{0,05}=5,17$; $P=0,01$), причому була менш чутливою до дії АН.

Що стосується цього параметру взагалі, то він варіював у наступних межах від 4,4 % (сорт Ігрита) до 6,4 % (сорт Вежа) при дії АН 0,01%, від 6,4 % (сорт Ігрита) до 9,4 % (сорт Вежа) за дії АН 0,025%, від 10,2 % (сорт Ігрита) до 12,6 % (сорт Вежа) при дії АН 0,05%, від 13,78 % (сорт Ігрита) до 15,6 % (сорт Вежа) при дії АН 0,1%. В усіх випадках варіанти відрізняються один від одного та від контролю. Була зроблена методом кластерного аналізу класифікація генотипів (Рис. 1), що підтвердила поділ всіх сортів на дві групи.

Інтегративним показником, що ураховує також і спектр змінених ознак є рівень мінливості, котрий обраховується як відношення кількості змінених сімей до загальної кількості ознак, по котрих пройшли зміни (Таблиця 2).

У цьому випадку зі статистичною достовірністю на рівень мінливості вплинув як показник підвищення концентрації ($F=76,10$; $F_{0,05}=2,17$; $P=4,44 \cdot 10^{-4}$), так і показник генотипу ($F=5,67$; $F_{0,05}=4,01$; $P=0,03$), при

попарному порівнянні сортів суттєво відрізнялися ($F=6,73$; $F_{0,05}=5,17$; $P=0,03$).

Що стосується цього параметру взагалі, то він варіював у наступних межах від 0,75 (сорт Ігрита) до 1,34 (сорт Вежа) при дії АН 0,01%, від 1,28 (сорт Ігрита) до 2,82 (сорт Вежа) за дії АН 0,025%, від 2,86 (сорт Ігрита) до 4,03 (сорт Вежа) при дії АН 0,05%, від 4,41 (сорт Ігрита) до 4,84 % (сорт Вежа) при дії АН 0,1%. Таким чином, за рахунок спектру немає різниці за дії вищих концентрацій між сортами (АН 0,1%). В інших усіх випадках варіанти відрізняються один від одного та від контролю. За результатами кластерного аналізу (Рис. 2) знов виділили обидва генотипи окремо.

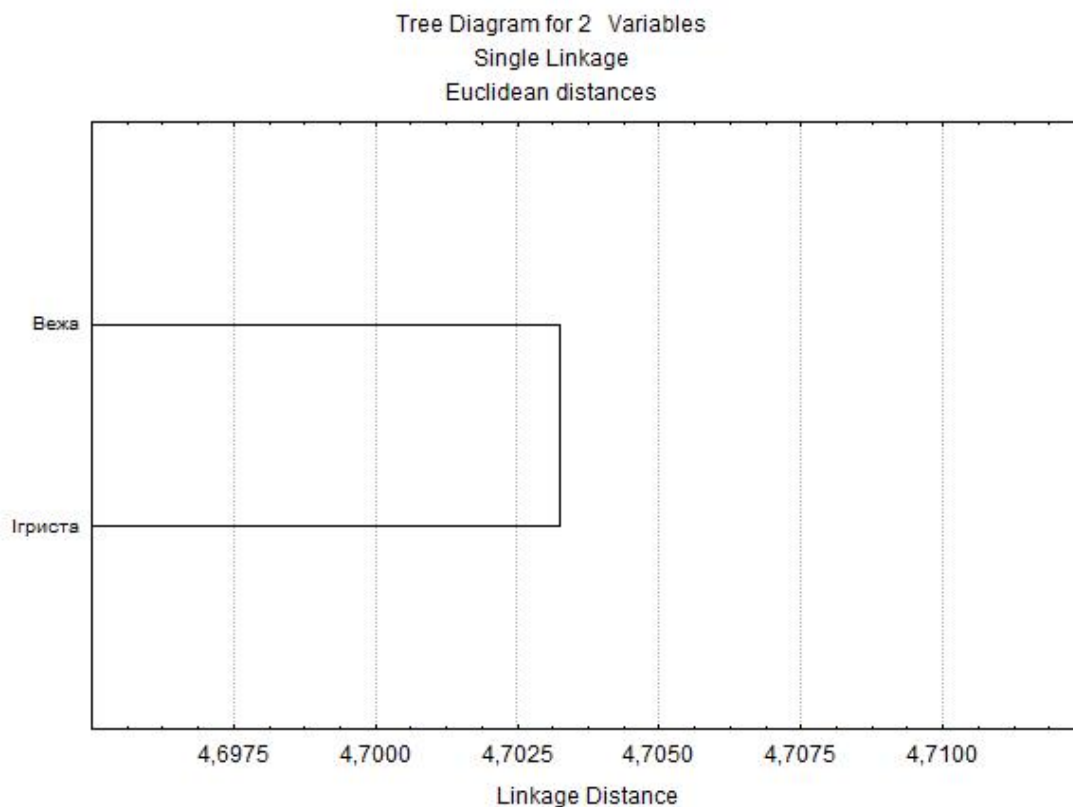


Рис. 1. Результати кластерного аналізу по показнику частоти мутацій

Таблиця 3

Модельні параметри мутагенної активності (АН)

Параметр в моделі	Wilks Lambda	Часткова Lambda	F-критичне (4,02)	p-рівень
Загальна частота	0,11	0,73	17,12	0,01
Рівень мінливості	0,09	0,85	24,22	0,01
Перша група	0,14	0,69	8,78	0,01
Друга група	0,60	0,29	1,89	0,16
Третя група	0,31	0,56	2,04	0,08
Четверта група	0,5	0,70	7,22	0,02
П'ята група	0,22	0,57	4,25	0,05
Шоста група	0,29	0,55	2,17	0,08

Таблиця 4

Факторне навантаження параметрів мутагенної активності

Параметр	Генотип	Концентрація
Загальна частота	0,693428	0,947577
Рівень мінливості	0,843244	0,986243
Перша група	0,627141	0,765171
Друга група	0,316543	0,273439
Третя група	0,326512	0,338993
Четверта група	0,544213	0,545222
П'ята група	0,500223	0,405479
Шоста група	0,431710	0,351247
Пояснена компонента	2,354637	2,677040
Загальна компонента	0,543161	0,443009

Примітка: статистично значимі виділені жирним.

В спектрі було отримано всього 37 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 висоти стебла та інтенсивності воскової поволоки. Найвища частота високостеблових форм (до 1,4%, в середньому 0,67%), також значима ймовірність отримання напівкарликів, рослин зі слабкою восковою поволокою та її відсутністю, інші варіанти мало ймовірні. Друга група складається з ознак структури зерна. Виникнення мутацій за всіма цими ознаками мало ймовірно. Третя група включає зміни за структурою колосу. Більшість мутацій низької ймовірності, але виділилися форми з напівостистий колосом (до 1,0%, в середньому 0,42%) та форми з дрібним та буловаподібним колосом. Більш варіативна четверта група (зміни за фізіологією росту та розвитку). Включає ознаки стерильності, ранньостиглості, пізньостиглості, стійкості до захворювань. Виникнення стерильності, ранньостиглості, пізньостиглості доволі часте, індукція регулярна. П'ята група складається з системних мутацій – скверхедний колос, спельтоїдний колос, субкомпактоїд та інші. Доволі значна кількість спельтоїдів (до 0,80 %). Шоста група складається з господарчо-цінних форм з високої кушистістю та продуктивністю. Вони мало ймовірні для дії АН. Але регулярні за характером виникнення.

Для мутаційного процесу в процесі дискримінантного аналізу встановлено модельність окремих параметрів за групами (Таблиця 3, 4). Суттєвими вона була за частотою, рівнем мінливості, мутацій в першій, четвертій, п'ятій групі.

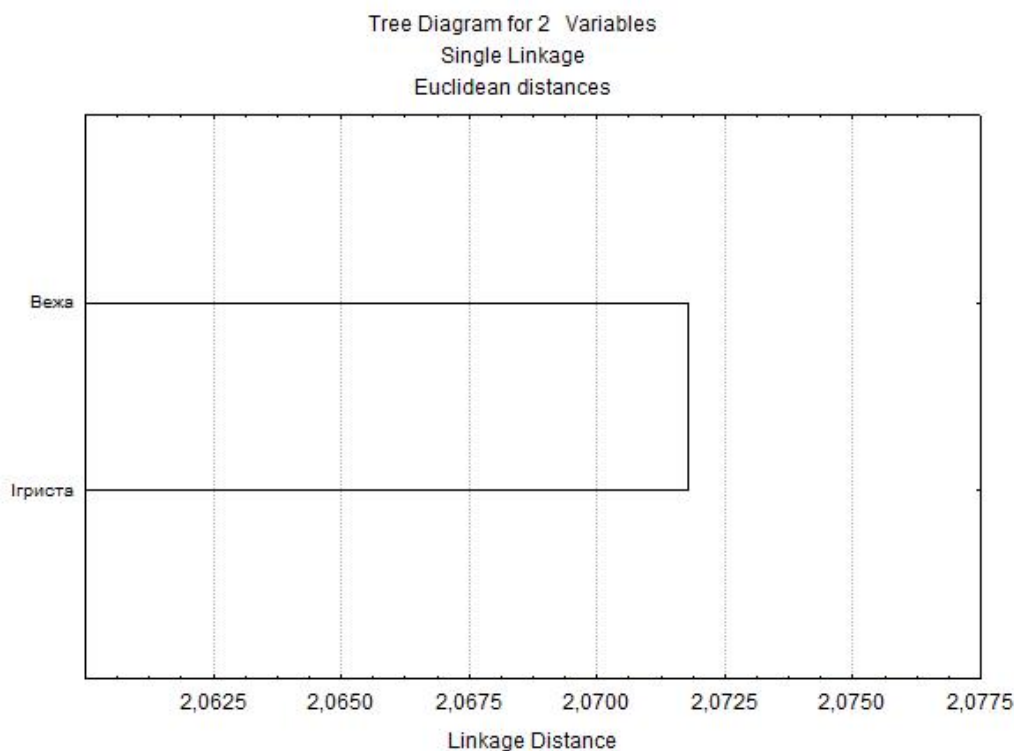


Рис. 2. Результати кластерного аналізу по показнику рівня мінливості

Таким чином, можна достовірно передбачити для даного мутагену на даному матеріалі високу кількість (в порівнянні) високостеблових та напівкарликових мутантів, ранньостиглих форм. Негативним явищем є висока ймовірність та регулярність форм з дрібним колосом, стерильних, високостеблових.

Висновки. АН як агент мутаційної активності індукує доволі високу кількість різних типів мутацій, але з доволі високою ймовірністю появлення негативних ознак. Висока ймовірність отримання цінних ранньостиглих та напівкарликових форм. Висока ймовірність отримання форм зі спельтоїдним колосом, високим стеблом, пізньостиглих, стерильних, з булавовидним колосом, що є негативними ознаками. Використаний вихідний матеріал є більш перспективним у дії в поєднанні з помірними концентраціями АН 0,025 – 0,05 %, при концентрації АН 0,1 % регулярні негативні зміни. Сорти Вежа та Ігриста, ураховуючи попереднє вивчення мутагену слід визнати посереднім суб'єктом дії для цього агента.

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), 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), 116–123.
6. Nazarenko M. Identification and characterization of mutants induced by gamma radiation in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific Papers. Series A. Agronomy*. 2016. LIX. P. 350–353.
7. Shabani M., Alemzadeh A., Nakhoda B., Razi 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). P. 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: P. 313-323. Retrieved January 14, 2023, from doi: 10.3923/ajps.2021.313.323
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. Nazarenko M. (2016) Identification and characterization of mutants induced by gamma radiation in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific Papers. Series A. Agronomy*. LIX. P. 350–353.
7. Shabani M., Alemzadeh A., Nakhoda B., Razi 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. (2018) Manual on mutation breeding. Third edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 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.

Діденко В.В., Назаренко М.М. Особливості індукції мутацій у пшениці озимої степового екотипу

Азид натрію належить до групи високоефективних хімічних мутагенів, які умовно називають «супермутагенами». Їх особливістю є здатність викликати високу частоту індукованих мутацій без значного зниження життєздатності рослин. **Мета.** Метою роботи було визначити особливості індукції частоти та спектру мутаційних змін у рослин озимої пшениці в другому-третьому поколіннях після дії азиду натрію. **Методи:** Насіння 2 сортів пшениці озимої Вежа та Ігриста обробляли розчином хімічного мутагену АН у концентраціях 0,01, 0,025, 0,05, 0,1%. Для кожної обробки були використані 1000 зерен пшениці озимої. Експозиція дії мутагену становила 18 годин. У поколіннях М2–М3 мутантні сімейства були відібрані шляхом візуальної оцінки, аналізу проходження фенотипу, структурним аналізом та аналізом за зерновою продуктивністю. **Результати.** Було вивчено 4 500 сімей. Зі статистичною достовірністю на мінливість вплинули фактори підвищення концентрації та генотипу,

при попарному порівнянні сорти суттєво відрізнялися. Ігрита була більш вразлива від Вежи. За рахунок спектру немає різниці за дії вищих концентрацій між сортами (АН 0,1 %). В інших усіх випадках варіанти відрізняються один від одного та від контролю. В спектрі було отримано всього 37 змінених ознаки по 6 групах мінливості, можна достовірно передбачити для даного мутагену на даному матеріалі на даному матеріалі високу кількість (в порівнянні) високостеблових та напівкарликових мутантів, ранньостиглих форм. Негативним явищем є висока ймовірність та регулярність форм з дрібним колосом, стерильних, високостеблових. Використаний вихідний матеріал є більш перспективним у дії в поєднанні з помірними концентраціями АН 0,025–0,05%, при концентрації АН 0,1% регулярні негативні зміни. Сорти Вежа та Ігрита, ураховуючи попереднє вивчення мутагену слід визнати посереднім суб'єктом дії для цього агенту. **Висновки.** АН як агент мутаційної активності індукує доволі високу кількість різних типів мутацій, але з доволі високою ймовірністю появлення негативних ознак. Висока ймовірність отримання цінних ранньостиглих та напівкарликових форм. Висока ймовірність отримання форм зі спельтоїдним колосом, високим стеблом, пізньостиглих, стерильних, з булавовидним колосом, що є негативними ознаками.

Ключові слова: пшениця озима, азид натрію, мутації, частота, спектр.

Didenko V.V., Nazarenko M.M. Features of mutation induction in winter wheat of the steppe ecotype

Sodium azide belongs to a group of highly effective chemical mutagens, conventionally called "supermutagens." Their feature is the ability to cause a high frequency of induced mutations without significantly reducing plant viability. **Purpose.** The aim of the work was to determine the features of the induction of the frequency and spectrum of mutational changes in winter wheat plants in the second

and third generations after the action of sodium azide.

Methods: Seeds of 2 winter wheat varieties Vezha and Igrita were treated with a solution of the chemical mutagen SA in concentrations of 0.01, 0.025, 0.05, 0.1%. 1000 winter wheat grains were used for each treatment. The exposure to the mutagen was 18 hours. In generations M2–M3, mutant families were selected by visual assessment, analysis of phenophases, structural analysis, and analysis of grain yield. **Results.** 4,500 families were studied. The variability was statistically significantly influenced by the factors of increasing concentration and genotype, when comparing the varieties in pairs, they differed significantly. Sparkling was more susceptible than Vezha. Due to the spectrum, there is no difference under the influence of higher concentrations between the varieties (SA 0.1%). In all other cases, the variants differ from each other and from the control. In the spectrum, a total of 37 changed traits were obtained in 6 groups of variability, it is possible to reliably predict for this mutagen on this material a high number (in comparison) of high-stem and semi-dwarf mutants, early-ripening forms. A negative phenomenon is the high probability and regularity of forms with a small spike, sterile, high-stem. The used starting material is more promising in action in combination with moderate concentrations of AN 0.025–0.05%, at a concentration of AN 0.1%, regular negative changes occur. The varieties Vezha and Igrita, taking into account the preliminary study of the mutagen, should be recognized as an intermediate subject of action for this agent.

Findings. SA as an agent of mutational activity induces a fairly high number of different types of mutations, but with a fairly high probability of the appearance of negative traits. High probability of obtaining valuable early-ripening and semi-dwarf forms. High probability of obtaining forms with a spelt-shaped ear, a high stem, late-ripening, sterile, with a club-shaped ear, which are negative traits.

Key words: winter wheat, sodium azide, mutations, rate, spectra.