

УДК 633.11:631.95:575.21

DOI <https://doi.org/10.32782/2226-0099.2024.141.2.3>

СПАДКОВА МІНЛИВІСТЬ ЗА ДІЇ ЕПІМУТАГЕНУ NONIDET P-40 У ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ

Окселенко О.М. – к.с.-г.н.,

докторант кафедри селекції і насінництва,

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Назаренко М.М. – д.с.-г.н.,

професор кафедри селекції і насінництва,

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Nonidet P-40 належить до класу епімутагенів – речовин, здатних викликати спадкові зміни без значного пошкодження ДНК. Його дія спрямована на модифікацію білкової частини хромосоми, що опосередковано впливає на структуру та функціонування генетичного матеріалу. Насіння пшениці озимої (по 1000 зерен на кожну концентрацію) обробили Nonidet P-40 (4-нонілфеніл-поліетиленгліколь) у концентраціях 0,01 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,5 %. Експозиція 18 годин. Використовували 4 сорти Фаррел, NE 12443, Ронін, Сейлор. У поколіннях М2–М3 мутації були ідентифіковані шляхом візуальної оцінки та біометричного аналізу структури врожайності. Всього досліджено 10000 родин у другому-третьому поколінні. Зі статистичною достовірністю на загальну частоту мутацій вплинув показник підвищення концентрації, у той же час як показник генотипу був менш вагомим, при попарному порівнянні суттєво відрізнялися сорти Ронін і Сейлор. Сорти по-різному реагують на нижчі концентрації (0,01 % і 0,05 %). На вищих концентраціях (0,1 % і 0,5 %) відмінності згладжуються. Концентрація NP-40 статистично значимо вплинула на рівень мінливості. Генотип також показав вплив на рівень мінливості, хоча менш виражений. Виділилися сорти Ронін і Сейлор з найвищими показниками рівня мінливості. В спектрі було отримано всього 30 змінених ознак по 6 групах мінливості. Групи змінених ознак мають різну ступінь впливу на загальну мінливість. Значимість окремих груп залежить як від концентрації NP-40, так і від вихідного генотипу. Дискримінантний аналіз дозволив встановити модельність частоти, рівня мінливості, першої, четвертої та шостої груп ознак. Аналіз показав відсутність різниці у дії NP-40 при концентраціях 0,01 % і 0,05 %. Найбільш передбачуваними є мутації, які сприяють формуванню низькостеблових рослин із підвищеною стійкістю до вилягання, форм із слабкою восковою поволокою, що може впливати на транспірацію, рослин із довгим колосом, що може позитивно позначитися на врожайності. Існує висока ймовірність виділення форм з коротшим вегетаційним періодом. Відзначено перспективність появи високопродуктивних форм. NP-40 як екогенетичний чинник демонструє слабку дію з низькою частотою змінених форм, проте спектр індукованих змін доволі широкий. Спадкові зміни, хоч і рідкісні, мають регулярний характер, іноді специфічний для сортів (наприклад, Ронін і Сейлор). Висока ймовірність отримання цінних форм з довгим озерним колосом, ранньостиглих і низькорослих форм, але це ускладняється регулярною появою пізньостиглих і високорослих епімутацій. Для вихідного матеріалу перспективними є концентрації NP-40 у межах 0,1–0,5 %, при цьому сортова специфіка виражена посередньо. Регулярність появи продуктивних форм підкреслює потенціал чинника у формотворчому процесі.

Ключові слова: пшениця озима, Nonidet P-40, епімутації, генотип, мінливість.

Okselenko O.M., Nazarenko M.M. Hereditary variability under the action of epimutagen Nonidet P-40 for winter wheat

Nonidet P-40 belongs to the class of epimutagens – speech agents that produce rapid changes without significant damage to DNA. This action is directly aimed at modifying the protein part of the chromosome, which indirectly influences the structure and functioning of the genetic material. Winter wheat seeds (1000 seeds for each concentration) were treated with chemical epimutagen Nonidet P-40 (4-nonylphenyl-polyethylene glycol) in concentrations of 0.01%, 0.05%, 0.1%,

0.5%. Exposure 18 hours. Used 4 varieties Farrell, NE 12443, Ronin, Sailor. In generations M2–M3, mutations were identified by visual assessment and biometric analysis of the yield structure. A total of 10,000 families in the second-third generation were studied. According to the statistical significance of the mutation frequency, the indicator of increased concentration was shown at the same time as the indicator of the genotype was less responsive, with pairwise equalization, the Ronin and Sailor varieties were differentiated. Varieties react differently to lower concentrations (0.01% and 0.05%). At higher concentrations (0.1% and 0.5%), the intensity is smoothed out. The concentration of NP-40 statistically significantly increased the level of intensity. The genotype also showed an influx of variability, although fewer expressions. The varieties Ronin and Sailor were seen with the best indicators of the level of moisture. In the spectrum, a total of 30 changing signs were identified across 6 groups of intensity. Groups of changing signs may vary at different levels in the global flow. The significance of these groups depends both on the concentration of NP-40 and on the output genotype. Discriminant analysis made it possible to establish the pattern of frequency, level of intensity, first, fourth and sixth groups of signs. The analysis showed a significant difference in the dose of NP-40 at concentrations of 0.01% and 0.05%. The most transmissible mutations are those that promote the formation of low-stemmed sprouts from increased resistance to wilting, forms with a weak waxy fiber that can be fused to transpire, sprouts from long ear, which can have a positive impact on the yield. This explains the high likelihood of seeing forms with a short growing season. The potential for the emergence of highly productive forms has been shown. NP-40, as an ecogenetic agent, demonstrates a weak action with a low frequency of changes in forms, but the spectrum of induced changes is quite wide. Rainfall changes, although rare, may be of a regular nature, sometimes specific to varieties (for example, Ronin and Sailor). There is a high probability of removing valuable forms with a long grained ear, early-growing and low-growing forms, but this is complicated by the regular emergence of late-growing and high-growing epimutations. For the output material, the most promising concentrations are NP-40 concentrations in the range of 0.1–0.5%, at which the variety specificity is in the middle. The regularity of the appearance of productive forms reinforces the potential of the maker in the form-creating process.

Key words: winter wheat, Nonidet P-40, epimutations, genotype, variability.

Постановка проблеми. Nonidet P-40 належить до класу епімутагенів – речовин, здатних викликати спадкові зміни без значного пошкодження ДНК. Його дія спрямована на модифікацію білкової частини хромосоми, що опосередковано впливає на структуру та функціонування генетичного матеріалу [1, 3]. Завдяки своїм епігенетичним властивостям, Nonidet P-40 вибірково впливає на специфічні ділянки хроматину, сприяючи зміні доступності генів для транскрипції [2, 9].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Вивчення екогенетичної активності чинників є ключовим аспектом для оптимізації хімічного мутагенезу, що дозволяє досягти високої ефективності у створенні нових цінних форм рослин [6, 7].

Правильне регулювання таких параметрів, як концентрація епімутагенів, тривалість та інтенсивність впливу, а також ретельний добір генотипів, створює умови для значного підвищення частоти бажаних спадкових змін [4, 5].

Дослідження показують, що генотипи демонструють різний рівень чутливості або толерантності до дії епімутагенних чинників, що є важливим аспектом для розробки селекційних програм. Особливості цієї чутливості часто залежать від генетичної структури сорту, адаптивних механізмів, а також умов вирощування [8, 9]. Незважаючи на потенційну важливість цих особливостей, генетичні механізми толерантності залишаються недостатньо вивченими [10].

Метою дослідження було визначити частоти та спектри епігенетичної мінливості у сортів пшениці озимої, а також виявити ключові аспекти виникнення спадкових змін, залежно від характеристик вихідного матеріалу.

Постановка завдання. Насіння 4 сортів пшениці озимої Фаррел, NE 12443, Ронін, Сейлор обробляли розчином хімічного епімутагену Nonidet P-40 (4-ноніл-феніл-полиетиленгликоль, 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 M_2 – M_3 мутантні сімейства були відібрані шляхом візуальної оцінки, аналізу проходження фенофаз, 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).

Виклад основного матеріалу дослідження. У ході дослідження було проаналізовано 10 000 сімей у другому та третьому поколінні, що дозволило отримати значний обсяг даних для оцінки епігенетичної мінливості (Таблиця 1).

Результати дослідження свідчать, що порогові значення концентрацій NP-40 досягнуті не були, оскільки у кожному варіанті експерименту зберігалось не менше ніж 500 сімей. Навіть за використання вищої концентрації NP-40 0,5 % не відзначалося суттєвого зниження життєздатності.

Підвищення концентрації NP-40 статистично достовірно впливало на частоту мутацій ($F = 145,15$; $F_{0,05} = 3,67$; $P = 8,17 \times 10^{-5}$). Це свідчить про те, що концентрація є ключовим фактором у стимуляції епігенетичних змін. Генотип не мав статистично значимого впливу ($F = 3,44$; $F_{0,05} = 3,86$; $P = 0,06$). При попарному порівнянні жоден сорт не демонстрував суттєвих відмінностей у частоті мутацій, що вказує на універсальність дії NP-40 для різних генотипів.

Навіть за найвищої концентрації (0,5 %), життєздатність рослин залишалася стабільною, що підкреслює відносну безпечність NP-40 для використання у генетичному поліпшенні.

Аналіз результатів частоти епігенетичних змін для різних сортів пшениці озимої за впливу різних концентрацій NP-40 показав, що частота змін у відсотках за дії NP-40 0,01 % мінімум: 1,6 % (сорт Фаррел, NE 12443), максимум 2,4 % (сорт Ронін), NP-40 0,05 % мінімум 2,2 % (сорт NE 12443), максимум 3,2 % (сорт Ронін), NP-40 0,1 % мінімум 3,4 % (сорт Фаррел), максимум 3,6 % (інші сорти), NP-40 0,5 % мінімум 4,2 % (сорти NE 12443, Сейлор), максимум 4,4 % (сорти Фаррел, Ронін). Усі концентрації NP-40 статистично достовірно відрізнялися між собою та від контролю.

Частота змін зростала зі збільшенням концентрації NP-40 у всіх сортах. Максимальна частота зафіксована при NP-40 0,5 %. Сорти по-різному реагують на нижчі концентрації (0,01 % і 0,05 %). На вищих концентраціях (0,1 % і 0,5 %) відмінності згладжуються. Сорти Ронін і Сейлор виявляють найбільший потенціал для практичного використання за дії NP-40. Варто враховувати сорти з підвищеною чутливістю для оптимізації використання даного чинника.

Проведена класифікація сортів на основі частоти змін показала їх поділ на три групи (Рис. 1) перша група Ронін і Сейлор, друга і третя мінорні групи відповідно Фаррел і NE 12443. Поділ зумовлений більшою різницею у відповідях сортів на концентрації NP-40 0,01 % і NP-40 0,05 %.

Таблиця 1

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

Сорт	Варіант	Загальна кількість сімей	Кількість мутантних сімей	Частота, %
Фаррел	вода	500	3	$0,60 \pm 0,10^a$
	NP-40 0,01 %	500	8	$1,60 \pm 0,15^b$
	NP-40 0,05 %	500	14	$2,80 \pm 0,21^c$
	NP-40 0,1 %	500	17	$3,40 \pm 0,22^d$
	NP-40 0,5 %	500	22	$4,40 \pm 0,24^e$
NE 12443	вода	500	2	$0,40 \pm 0,11^a$
	NP-40 0,01 %	500	8	$1,60 \pm 0,15^b$
	NP-40 0,05 %	500	11	$2,20 \pm 0,21^c$
	NP-40 0,1 %	500	18	$3,60 \pm 0,23^d$
	NP-40 0,5 %	500	21	$4,20 \pm 0,24^e$
Ронін	вода	500	2	$0,40 \pm 0,10^a$
	NP-40 0,01 %	500	12	$2,40 \pm 0,16^b$
	NP-40 0,05 %	500	16	$3,20 \pm 0,21^c$
	NP-40 0,1 %	500	18	$3,60 \pm 0,24^d$
	NP-40 0,5 %	500	22	$4,40 \pm 0,27^e$
Сейлор	вода	500	2	$0,40 \pm 0,11^a$
	NP-40 0,01 %	500	11	$2,20 \pm 0,15^b$
	NP-40 0,05 %	500	14	$2,80 \pm 0,20^c$
	NP-40 0,1 %	500	18	$3,60 \pm 0,23^d$
	NP-40 0,5 %	500	21	$4,20 \pm 0,24^e$

Примітка: різниця статистично достовірна за факторним аналізом ANOVA за концентраціями при $P0,05$

Рівень мінливості обчислено як відношення кількості змінених сімей до загальної кількості ознак. Результати подано у Таблиці 2. Концентрація NP-40 статистично значимо вплинула на рівень мінливості ($F = 41,1$; $F_{0,05} = 3,67$; $P = 5,14 \cdot 10^{-4}$). Генотип також показав вплив на рівень мінливості, хоча менш виражений ($F = 3,99$; $F_{0,05} = 3,86$; $P = 0,05$). Виділилися сорти Ронін і Сейлор з найвищими показниками рівня мінливості ($F = 7,11$; $F_{0,05} = 5,98$; $P = 0,03$).

У багатьох випадках не було різниці між впливом концентрацій NP-40 0,01 % та 0,05 %. Це свідчить про стабільний вплив низьких концентрацій на генетичну мінливість без значного посилення ефекту при підвищенні концентрації. Підвищення концентрації NP-40 суттєво впливає на рівень мінливості, але генотипи також мають певний вплив, особливо у специфічних сортів. Концентрації 0,01 % і 0,05 % часто демонструють схожі результати, що свідчить про потенціал використання нижчих доз для досягнення бажаних ефектів.

Виявлено 30 змінених ознак, які розподілені по 6 групах мінливості. Для оцінки значимості окремих груп використано дискримінантний і факторний аналіз. Відповідно до проведених аналізів, значимість груп подано у Таблицях 3 і 4. Групи

змінених ознак мають різну ступінь впливу на загальну мінливість. Значимість окремих груп залежить як від концентрації NP-40, так і від вихідного генотипу.

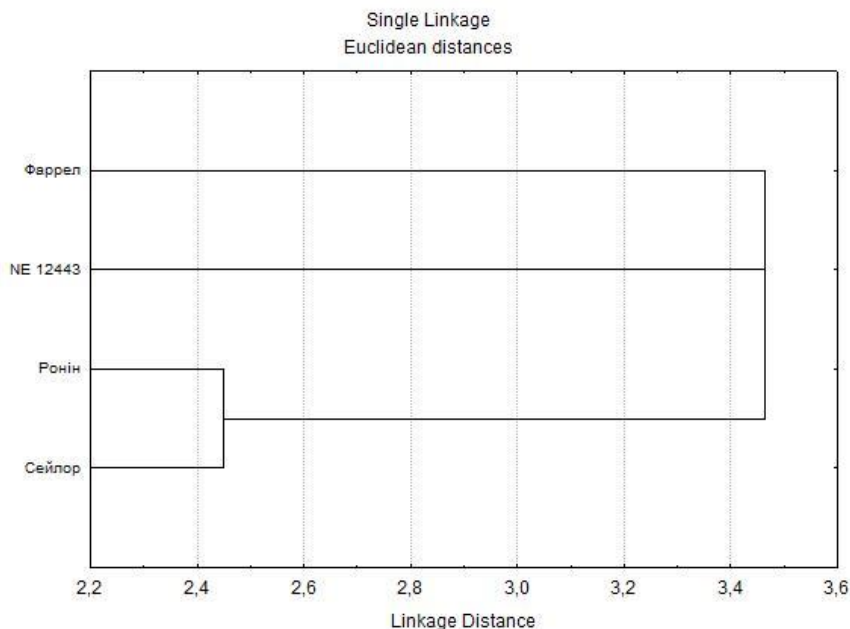


Рис. 1. Класифікація у кластерному просторі

Перша група мутації за структурою стебла. Це такі ознаки як високостеблові, низькостеблові, напівкарлик, інтенсивна воскова поволока, слаба воскова поволока, відсутність воскової поволоки. Висока частота високорослих форм (0,41 %, регулярна), можливі зміни за послабленням воскової поволоки (0,30 %, регулярна), до регулярних також відноситься низькостебловість в середньому 0,18 %. Друга група складається з ознак структури зерна. Виникнення мутацій за всіма цими ознаками малоімовірно але регулярне, особливо для ознаки крупне зерно та для сортів NE 12443, Ронін, Сейлор. Третя група включає зміни за структурою колосу. Це такі ознаки як 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 зміни низькоїмовірні, але більша вірогідність отримання остистого колосу з безостої форми та ймовірно виявлення форм з довгим колосом (0,11 %, регулярні). Більш варіативна четверта група (зміни за фізіологією росту та розвитку). Можливі регулярні зміни за строками стиглості, в окремих випадках 0,31 % (пізньостиглість) та 0,24 % ранньостиглість. Зростає кількість стерильних форм 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 куцистістю та продуктивністю. Продуктивні носять регулярний характер, але з невисокою частотою (0,16).

Таблиця 2

Рівень мінливості за дії NP-40

Сорт	Варіант	Рівень мінливості	Кількість змінених ознак
Фаррел	вода	0,02 ± 0,01 ^a	3
	NP-40 0,01 %	0,11 ± 0,02 ^b	7
	NP-40 0,05 %	0,34 ± 0,04 ^c	12
	NP-40 0,1 %	0,48 ± 0,09 ^d	14
	NP-40 0,5 %	0,66 ± 0,10 ^e	15
NE 12443	вода	0,01 ± 0,01 ^a	2
	NP-40 0,01 %	0,13 ± 0,04 ^b	8
	NP-40 0,05 %	0,20 ± 0,05 ^b	9
	NP-40 0,1 %	0,54 ± 0,06 ^c	15
	NP-40 0,5 %	0,63 ± 0,10 ^c	15
Ронін	вода	0,01 ± 0,01 ^a	2
	NP-40 0,01 %	0,26 ± 0,06 ^b	11
	NP-40 0,05 %	0,38 ± 0,07 ^b	12
	NP-40 0,1 %	0,50 ± 0,08 ^{bc}	14
	NP-40 0,5 %	0,66 ± 0,10 ^c	15
Сейлор	вода	0,01 ± 0,01 ^a	2
	NP-40 0,01 %	0,22 ± 0,05 ^b	10
	NP-40 0,05 %	0,31 ± 0,06 ^b	11
	NP-40 0,1 %	0,58 ± 0,08 ^c	16
	NP-40 0,5 %	0,67 ± 0,10 ^c	16

Примітка: різниця статистично достовірна за факторним аналізом ANOVA за концентраціями при P0,05

Дискримінантний аналіз дозволив встановити модельність окремих параметрів спадкової мінливості за групами.

Основні результати свідчать, що найбільш суттєві зміни зафіксовані у першій, четвертій та шостій групах. Частота, рівень мінливості та мутацій у цих групах були статистично значимими. Аналіз показав відсутність різниці у дії NP-40 при концентраціях 0,01 % і 0,05 %, що відображено на Рисунку 2. Це вказує на схожу епігенетичну активність речовини у зазначених концентраціях.

Результати аналізу показали, що центроїдні відстані між групами для усіх досліджених концентрацій NP-40 були незначними. Попарне порівняння виявило, що попередня концентрація значимо відрізнялася від наступної, але без суттєвих якісних переходів між ними. Найбільш передбачуваними є мутації, які сприяють формуванню низькостеблових рослин із підвищеною стійкістю до вилягання, форм із слабкою восковою поволокою, що може впливати на транспірацію, рослин із довгим колосом, що може позитивно позначитися на врожайності. Існує висока ймовірність виділення форм з коротшим вегетаційним періодом. Відзначено перспективність появи високопродуктивних форм, що є ключовим для покращення агрономічних характеристик. Інші позитивні варіанти мутацій є менш ймовірними, але не виключеними, що залишає простір для подальшого вивчення ефектів NP-40.

Таблиця 3

Модельні параметри мутагенної активності (NP-40)

Параметр в моделі	Wilks Lambda λ	Часткова Lambda	F-критичне (4,12)	p-рівень
Загальна частота	0,11	0,78	18,02	0,01
Рівень мінливості	0,11	0,79	18,32	0,01
Перша група	0,20	0,54	5,99	0,03
Друга група	0,67	0,20	1,17	0,18
Третя група	0,44	0,43	2,13	0,08
Четверта група	0,17	0,61	6,49	0,03
П'ята група	0,61	0,21	1,30	0,15
Шоста група	0,21	0,56	4,14	0,05

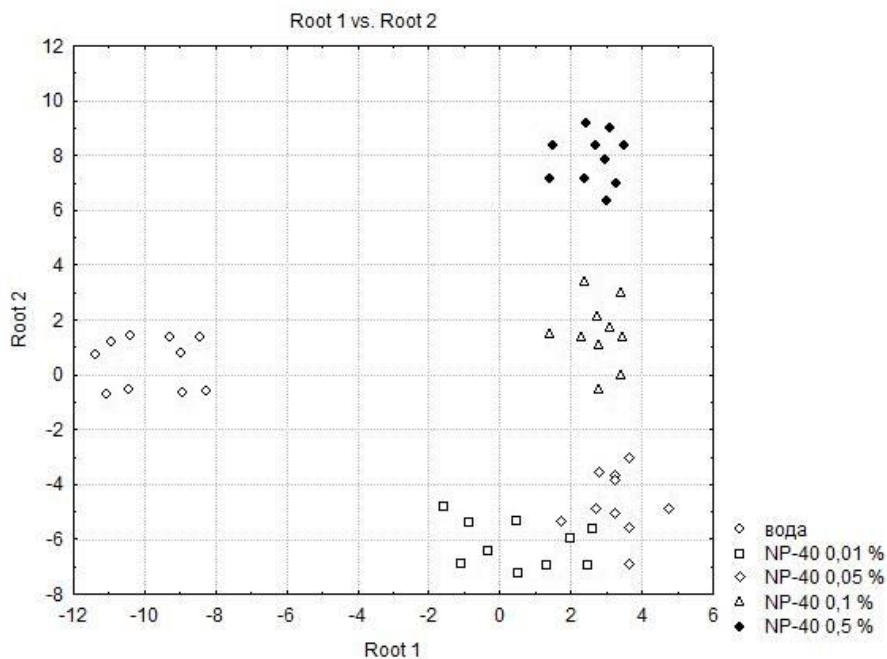


Рис. 2. Класифікація у факторному просторі

Висновки і пропозиції. NP-40 як екогенетичний чинник демонструє слабку дію з низькою частотою змінених форм, проте спектр індукованих змін доволі широкий. Спадкові зміни, хоч і рідкісні, мають регулярний характер, іноді специфічний для сортів (наприклад, Ронін і Сейлор). Висока ймовірність отримання цінних форм з довгим озерним колосом, ранньостиглих і низькорослих форм, але це ускладнюється регулярною появою пізньостиглих і високорослих епімутатій. Для вихідного матеріалу перспективними є концентрації NP-40 у межах 0,1–0,5 %, при цьому сортова специфіка виражена посередньо. Регулярність появи продуктивних форм підкреслює потенціал чинника у формотворчому процесі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. 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.
2. Ariraman, M., Dhanavel, D., Seetharaman, N., Murugan, S., & Ramkumar, R. Gamma radiation influences on growth, biochemical and yield characters of *Cajanus cajan* (L.) *MILLSP. Journal of Plant Stress Physiology*. 2018. 4. P. 38–40.
3. Chakraborty S., Mahapatra S., Hooi A., Ali N., Satdive R. Determination of Median Lethal (LD50) and Growth Reduction (GR50) Dose of Gamma Irradiation for Induced Mutation in Wheat. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2023. 66. e23220294.
4. Hassine M., Baraket M., Marzougui N. Slim-Amara H. Screening of the effect of mutation breeding on biotic stress tolerance and quality traits of durum wheat. *Gesunde Pflanzen*. 2023. 75. P. 837–846.
5. Hongjie L., Timothy D., McIntosh R.A. Yang Z. Breeding new cultivars for sustainable wheat production. *The Crop Journal*. 2019. 7(6). P. 715–717.
6. Lal R., Chanotiya C., Gupta P. Induced mutation breeding for qualitative and quantitative traits and varietal development in medicinal and aromatic crops at CSIR-CIMAP, Lucknow (India): past and recent accomplishment. *International Journal of Radiation Biology*. 2020. 96(12). P. 1513–1527.
7. Mangi N., Baloch A., Khaskheli N., 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.
8. 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.
9. 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.
10. Shimelis H., Olaolorun B., Mathew I., Laing M. Optimising the dosage of ethyl methanesulphonate mutagenesis in selected wheat genotypes. *South African Journal of Plant and Soil*. 2019. 36(5). P. 357–366.