

УДК 633.11:631.95:575.22

DOI <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2021.122.4>

ЧАСТОТА І РІВЕНЬ МІНЛИВОСТІ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ЗА ДІЇ ГАММА-ПРОМЕНІВ

Ізболдін О.О. – старший викладач кафедри рослинництва,
Дніпровський державний аграрно-економічний університет

Використання біорізноманіття місцевих (локальних) сортових ресурсів для генетичного поліпшення сільськогосподарських культур шляхом як комбінативної, так і мутаційної мінливості є значущим пріоритетом у сучасних дослідженнях для сфер агроекології, практичної генетики, селекції, фізіології рослин. Застосування мутагенних чинників на новому вихідному матеріалі дозволяє не лише суттєво прискорити цей процес, але й отримати значне розширення варіативності наявних форм, що можна досить успішно використати для широкого спектру досліджень як екогенетичного, так і селекційного напрямку в якості вихідного матеріалу або майбутніх комерційних сортів. Роботу проведено на науково-дослідному полі навчально-наукового центру Дніпровського державного аграрно-економічного університету у 2016–2020 рр. Використано сорти Комерційна і Співанка місцевої селекції (Дніпровського державного аграрно-економічного університету) як матеріал, що повністю відповідає умовам регіону (Півночі Степу України). Сухе насіння обробляли гамма-променями у дозах 100, 150, 200, 250, 300 Гр. Установлено, що для сорту Комерційна варто використовувати для індукції мутаційної мінливості помірну дозу 100 Гр. Для сорту Співанка доцільним є використання всіх помірних і напівлетальних доз у діапазоні 100–200 Гр. Розширення цих значень потребує подальшого дослідження. Проведені дослідження показали більшу перспективність з погляду на мутаційну мінливість місцевого сорту Співанка для отримання корисних форм під час дії мутагенних чинників. Сорт Комерційна доволі перспективний для отримання корисних мутаційних форм стосовно більшої кількості мутантів за окремими ознаками. Сорт Співанка продемонстрував у середньому суттєво нижчу частоту мутацій, але набагато ширший спектр змін за кількістю ознак, за якими вони відбуваються. У сорту Комерційна встановлено можливість отримання значної кількості мутацій за окремими показниками та ймовірність наявності в них різних змін у механізмі контролю відповідної ознаки для потомства за фенотипом форм. Як фактор генотипу вихідного матеріалу, так і фактор підвищення дози гамма-променів значуще впливав на мутаційну мінливість обох сортів.

Ключові слова: пшениця озима, мутагенез, частота мутацій, рівень мінливості, гамма-промені.

Izboldin O.O. Rate and level of variability of winter wheat under the action of gamma rays

The use of biodiversity of local varietal resources for genetic improvement of crops through both combinatorial and mutational variability is a significant priority in modern research in the fields of agroecology, practical genetics, breeding, plant physiology. The use of mutagenic factors on the new source material allows us not only to significantly accelerate this process, but also to significantly expand the variability of existing forms, which can be used quite successfully for a wide range of research in both ecogenetic and breeding directions as a source material or directly as future commercial varieties. The work was carried out in the research fields of the Training and Research Center of the Dnipro State Agrarian and Economic University in 2016–2020. The following locally bred varieties Komertsiina and Spivanka were used (Dnipro State Agrarian and Economic University) as material that fully meets the conditions of the region (Northern Steppe of Ukraine). Dry seeds were treated with gamma rays in doses: 100, 150, 200, 250, 300 Gy. It was found that for the variety Komertsiina we should use a moderate dose of 100 Gy to induce mutational variability, for the Spivanka variety it is expedient to use all moderate and semi-lethal doses in the range of 100–200 Gy. Expansion of these values requires further study. Studies have shown greater prospects in terms of mutational variability of the local variety Spivanka to obtain beneficial forms under the influence of mutagenic factors. Variety Komertsiina is quite promising for obtaining useful mutation forms in terms of more mutants on individual traits. The variety Spivanka showed, on average, a significantly lower rate of mutations, but a much wider range of changes in the number of traits by which they occur. Variety Komertsiina showed the possibility of obtaining a significant number of mutations on individual traits and the possibility of various

changes in the control mechanism of the corresponding trait for phenotypically identical forms. Both the genotype factor of the initial material and the factor of increasing the dose of gamma rays significantly influenced the mutational variability of both varieties.

Key words: winter wheat, mutagenesis, mutation rate, variability level, gamma rays.

Постановка проблеми. Застосовані як мутагени гамма-промені відносяться до найпоширеніших у селекційній практиці (до 85% усіх мутантних та мутантно-рекомбінатних сортів) та у практичній генетиці (дослідження з подвійного рецесивного механізму радіосенситивності). Вони відносяться до групи мутагенів із високою ушкоджувальною властивістю, особливо за жорсткої однократної дії із погляду на генетичні та фізіологічні наслідки [1; 7].

Характерною рисою гамма-променів як мутагенів є досить обмежена сайт-специфічність та більш суцільний характер дії на рослинний матеріал, що призводить до суттєвого розширення спектра дії, але звуження можливостей отримати більшу кількість мутацій за якимось окремим типом. Тобто використання цього мутагенного чинника є більш доцільним для нового вихідного матеріалу, особливо під час проведення рекогносцирувальних досліджень із впливу різних доз і виявлення можливостей досить генетично нового матеріалу для отримання цінних мутацій із погляду на генетику і селекцію [11; 12]. Таким чином, використання гамма-променів як мутагенного чинника для вихідного матеріалу місцевої селекції є звичайною передумовою для залучення відповідного матеріалу до широкої роботи із генетичного поліпшення через використання мутаційної мінливості. Інші чинники є більш залежними від генетичних особливостей матеріалу та більш специфічними за дією у системі «генотип-природа мутагену». Саме використання високих доз гамма-променів було та є передумовою найзначніших успіхів у мутаційному поліпшенні сільськогосподарських культур [8]. Залучення ж місцевого матеріалу є трендом для розширення біологічного різноманіття форм під час поліпшення, особливо актуальним для сучасного фокусу на адаптивність [3; 4; 10].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Мутанти, отримані внаслідок дії гамма-променів, демонструють вищу варіативність і суттєво вищу адаптивність до місцевих умов [2; 3]. Найперспективнішими є форми із комплексом мутацій, зокрема полігенні, коли відбуваються системні зміни основних адитивних генів, що контролюють певну ознаку [5; 6]. Вважають, що цей тип мутагенезу є більш специфічним стосовно властивостей вихідного матеріалу, тобто підібране оптимальне поєднання комплексу «мутаген-діапазон доз-вихідний сорт» підвищує частоту мутацій у 1,5-2 рази лише за загальною частотою, причому можливе часткове скерування до отримання підвищення частоти потрібних форм. Зміна хоча б одного зі складників знижує частоту і спектр мутацій, що робить ключовим питання пошуку нового вихідного матеріалу [11; 12]. Це питання вирішується нині у межах парадигми підвищення ролі місцевих генетичних ресурсів і добору вузькоспеціалізованого адаптивного матеріалу. Найбільшу цінність представляють знайдені в M_2 цілком змінені сім'ї (константні), коли мутація відбувається за комплексом господарсько-цінних ознак [9].

Для гамма-променів характерні доволі різкі, стрибкоподібні зміни, тому цей спосіб є більш удалим для первинної обробки нового вихідного матеріалу [1; 11]. Вибрані нами гамма-промені є широко вживаними для мутаційної генетики і селекції. Те ж саме стосується й обраних доз: вони є тривіальними, дослідження із введення якихось нових не планувалося, оскільки у цьому аспекті проблема використання гамма-променів вже багаторазово вивчена протягом останніх 50-60-х років [4; 9].

Виявлено залежність формотворчої дії гамма-променів від дози. Більш низькі дози за однакового відсоткового співвідношення змін підвищують рівень мінливості ознак у 1,5-2 рази. Найперспективнішими вважаються мутанти із комплексом мутацій, зокрема полігенні. Гамма-промені особливо успішно індукують переважно карликові та напівкарликові ранньостиглі форми, є цінними для селекції на стійкість до хвороб [6; 8].

Постановка завдання. Дослідження проводили на науково-дослідному полі навчально-наукового центру Дніпровського державного аграрно-економічного університету у 2016–2020 рр. Дослідні ділянки мають однорідний покрив, представлений чорноземом звичайним малогумусним вилугуваним середньосуглинковим на суглинковому лесі. Вміст азоту (за Тюріним) за роки дослідження не перевищував 3-5 мг, рухомого фосфору (за Чириковим) – 20-30 мг, обмінного калію (за Чириковим) – 20-35 мг на 100 г сухого ґрунту.

Науково-дослідне поле знаходиться у Дніпровському районі Дніпропетровської області, який відноситься до північного, не досить вологого, теплого району. Його кліматичні ресурси характеризуються такими показниками: гідротермічний коефіцієнт > 0,9, кількість опадів за вегетаційний період – 250-280 мм, річна кількість опадів – 450-490 мм, суми температур за період із температурами вище 10°C – близько 2900°C.

Як матеріал для дослідження використані сорти Комерційна і Співанка місцевої селекції (Дніпровського державного аграрно-економічного університету); цей матеріал повністю відповідає умовам регіону (Півночі Степу України). Сухе насіння обробляли гамма-променями у дозах 100, 150, 200, 250, 300 Гр. Дози гамма-променів стандартні для спектру опромінення, що застосовується в експериментальному мутагенезі цієї культури для підвищення мінливості вихідного матеріалу [11; 12].

Оброблення насіння цих сортів здійснювали на гамма-установці центра з ядерних досліджень і тренувань відділу ядерних технологій для харчових ресурсів ФАО-МАГАТЕ (Австрія, Фрайбург) гамма-променями радіоактивного джерела Co_{60} , потужність установки – 0,048 Гр/с.

У другому-третьому поколінні мутантів визначали мутації візуально та за врожайністю у ручних посівах за сім'ями (1–3-рядкові ділянки, ширина міжряддя становила 0,15 м, довжина рядка – 1,5 м), досліджували спадкування та облік продуктивності, здійснювали структурний аналіз відібраних мутантних ліній (площа ділянки становила 5-10 м², повторність 1–3-хкратна). Частота мутацій обраховувалась як кількість мутантних випадків до загальної кількості сімей у другому поколінні у відсотках [6; 11].

Рівень мінливості вираховувався за формулою:

$$P_v = \alpha * \gamma,$$

де P_v – рівень мінливості варіанту;

α – відношення кількості мутацій до загальної кількості сімей у варіанті;

γ – кількість типів змінених ознак у варіанті.

Математичне оброблення одержаних результатів здійснювали за методикою дисперсійного аналізу. Достовірність різниці між одержаними середніми дослідних варіантів і контролем оцінювали за критерієм Стьюдента [7].

Виклад основного матеріалу дослідження. Всього було досліджено 3270 сімей у M_2 – M_3 . Кількість за кожним варіантом становила від 500 сімей (100–150 Гр) до 40–60 сімей (250 Гр). Доза 300 Гр як сублетальна не дала матеріалу

для дослідження в наших умовах, що пов'язано зі специфічністю генетично обумовлених механізмів відповіді на опромінення, характерних для сортів вітчизняної селекції.

У табл. 1 наведена загальна частота за опромінення досліджуваних генотипів пшениці озимої Комерційна і Співанка. Як можна побачити, суттєвою відмінністю є менша частота мутацій для сорту Співанка за дозою у діапазоні 100–200 Гр. Окрім того, різним є характер переходу до високих доз: у разі підвищення до 250 Гр у сорту Комерційна частота залишається на тому ж максимальному рівні (зростання статистично недостовірне), проте у сорту Співанка відбувається суттєве стрімке зростання до рівня мінливості сорту Комерційна. Тобто динаміка має значно менш регулярний характер, мутаційна активність характеризується дуже різкими сплесками пікового характеру.

Таблиця 1

Частота мутацій у пшениці озимої під час дії гамма-променів

Варіант	Загальна кількість сімей, шт.	Кількість мутантних сімей, шт	Відсоток мутантних сімей
Комерційна, контроль	500	6	1,2±0,1
Комерційна, 100 Гр	500	42	8,4±0,6*
Комерційна, 150 Гр	450	61	13,6±1,0*
Комерційна, 200 Гр	120	35	29,2±1,4*
Комерційна, 250 Гр	40	12	30,0±1,6*
Співанка, контроль	500	4	0,8±0,1
Співанка, 100 Гр	500	32	6,4±0,5*
Співанка, 150 Гр	400	43	10,8±0,9*
Співанка, 200 Гр	200	38	19,0±1,1*
Співанка, 250 Гр	60	19	31,6±1,5*

Примітки:* – статистично достовірно перевищує попередній варіант

Аналізуючи окремо за сортами, ми встановлюємо, що на контролі сорт Комерційна характеризується доволі високим рівнем спонтанної мінливості, тобто є менш стабільним щодо сорту Співанка. За помірних доз 100–150 Гр частота мутацій у сорту Комерційна поступово зростає, причому суттєво переважає як контроль, так і більш низьку дозу.

Під час дії дози 200 Гр відбувається стрімке зростання із подальшою стабілізацією на одному рівні за дози 250 Гр, що пов'язане з високою загибеллю отриманого матеріалу під час дії цієї дози. Вочевидь ми підійшли під час застосування цієї дози до критичного рівня для цього генотипу, тому варто у практичних цілях застосовувати гамма-промені в дозі не більше 200 Гр та орієнтуватися на дози та концентрації-аналоги для інших фізичних і хімічних мутагенів у дослідженнях із експериментального мутагенезу.

У сорту Співанка відбувається поступове зростання мутаційної активності за доз 100-200 Гр, що дозволяє використовувати для практики не лише цей діапазон доз, але і можливе перевищення у діапазоні до 250 Гр, коли рівень мутабільності суттєво зростає. Уточнення межі застосування у цьому випадку потребує додаткових досліджень для визначення критичних значень у проміжку між 200 та 250 Гр. У будь-якому випадку всі дози відрізнялись одна від одної і від контролю.

Загалом ідентифіковано 33 типи змінених ознак, класифікованих за такими групами:

I. Мутації структури стебла і листя – всі зміни за морфометрією і морфологією стебла і листя: 1) товсте стебло; 2) тонке стебло; 3) із високим стеблом; 4) із низьким стеблом; 5) напівкарлик; 6) карлик; 7) інтенсивна воскова поволока; 8) слабка воскова поволока;

II. Мутації кольору і структури зерна: 9) крупне зерно;

III. Мутації кольору і структури колосу: 10) остистий колос; 11) безостий колос; 12) довгий колос; 13) рихлий колос; 14) циліндричний колос; 15) веретеноподібний колос; 16) щільний колос; 17) крупний колос; 18) дрібний колос; 19) напівостистий колос; 20) ригідний колос; 21) булавоподібний колос; 22) загострений колос; 23) антоціанові ості;

IV. Змінені фізіологічні ознаки росту та розвитку: 24) стерильність; 25) ранньостиглість; 26) пізньостиглість;

V. Системні мутації – мутації за межею систематичних ознак, характерних для пшениці м'якої озимої, більш властиві спорідненим формам: 27) скверхедний колос; 28) спельтоїдний колос; 29) субкомпактоїд; 30) компактoїд; 31) сферококоїд;

VI. Мутації за продуктивністю та якістю зерна: 32) продуктивні; 33) куцисті форми.

Під час розрахунку рівня мінливості (табл. 2) так само ми знаходимо, що хоча частота мутацій у сорту Співанка була суттєво меншою, але за кількістю ознак, якими відмічена варіативність матеріалу, вона значно перевищувала сорт Комерційна (тобто мала суттєво ширший спектр мутаційної мінливості).

Таблиця 2

Рівень мінливості за дії гамма-променів у пшениці озимої

Сорт	Кількість типів змінених ознак	Рівень мінливості
Комерційна, контроль	4	0,05
Комерційна, 100 Гр	21	1,76*
Комерційна, 150 Гр	18	2,45*
Комерційна, 200 Гр	15	4,38*
Комерційна, 250 Гр	11	3,30*
Співанка, контроль	4	0,03
Співанка, 100 Гр	24	1,54*
Співанка, 150 Гр	28	3,02*
Співанка, 200 Гр	24	4,56*
Співанка, 250 Гр	15	4,74

Примітки: * – статистично достовірно перевищує попередній варіант.

Якщо у сорту Комерційна більшу кількість ознак, що змінилися, знаходимо за дози 100 Гр із поступовим зменшенням вже за дози 150 Гр, то для сорту Співанка характерний широкий спектр дії (від 100 до 200 Гр) зі збідненням спектру мутацій вже за дози 250 Гр, що знову ж таки пов'язано зі сублетальним характером дози. Тобто стосовно спектру для Комерційної є перспективною доза 100 Гр, для Співанки – дози 100–200 Гр.

У разі дії доз 100-200 Гр рівень мінливості поступово зростав для обох генотипів, але за дози 250 Гр у сорту Комерційна мінливість суттєво знизилася за рахунок різкого збіднення спектру; у сорту Співанка мінливість залишилася приблизно на тому ж самому рівні, що і для дози 200 Гр.

Цікавим є аналіз, що саме причинило варіативність окремо за показником загальної частоти і рівня мінливості, оскільки вже зауважено, що динаміка за цими показниками досить істотно відрізняється: сорт Співанка демонструє переважно нижчу частоту в оптимальному діапазоні доз, а сорт Комерційна – суттєво бідніший спектр мутацій. У табл. 3–4 представлено результати факторного аналізу за факторами «генотип» (сорт вихідного матеріалу) і «доза».

Таблиця 3

Результати факторного аналізу частоти мутацій

Джерело варіації	SS	df	MS	F	P	F _{критичне}
Доза мутагену	1188	4	297	29,51	0,01	6,399
Генотип	19,04	1	19,04	1,89	0,24	7,71
Похибка	40,26	4	10,06			
Всього	1247,30	9				

Таблиця 4

Результати факторного аналізу рівня мінливості

Джерело варіації	SS	df	MS	F	P	F _{критичне}
Доза мутагену	25,97	4	6,49	30,06	0,01	6,39
Генотип	7,38	1	3,38	9,76	0,03	7,70
Похибка	0,86	4	0,21			
Всього	34,21	9				

Аналізуючи таблицю 3, ми встановлюємо, що на загальну частоту мутацій вплинув лише фактор «доза». Тобто, незважаючи на суттєві відмінності, природа сорту ніяк не проявилася на цьому показнику, відмінностей за дії різних доз не досить для того, щоб у комплексі оцінити фактор генотип-мутагенної взаємодії як значущий.

За результатами аналізу показника рівня мінливості ми знаходимо, що зміни за частотою у комплексі із відмінностями за широтою спектру мутацій вже суттєво залежали не лише від застосованої дози, але і від генотипу, тобто від сорту вихідного матеріалу. Залишається достовірним і значущим вплив різниці за дозами на мутаційну мінливість в обох випадках.

Отже, для сорту Комерційна варто використовувати для індукції мутаційної мінливості дозу 100 Гр із можливістю використання, хоча і за збіднення спектру, доз 150–200 Гр. Для сорту Співанка доцільним є використання всіх доз у діапазоні 100–200 Гр із можливим розширенням меншої градації доз за межу у 200 Гр. Генотип-мутагенна взаємодія є значущою щодо мутаційної мінливості навіть у випадку дії чинником (гамма-промені), що має відносно низьку сайт-специфічність.

Висновки і пропозиції. Проведене дослідження показало більшу перспективність із погляду на мутаційну мінливість місцевого сорту Співанка для отримання

корисних форм під час дії гамма-променів. Окрім того, можливий для індукції варіативності у випадку цього генотипу суттєво ширший діапазон доз гамма-променів, та, відповідно, інших мутагенних чинників в аналоговому щодо дії простору доз і концентрацій. Хоча у випадку застосування вже хімічних мутагенів є можливість більш суттєвого впливу сайт-специфічної дії і суттєвої корекції наявної ситуації, але загалом це буде окремим випадком. Сорт Комерційна теж доволі перспективний для отримання корисних мутаційних форм, але все-таки його використання як вихідного матеріалу може бути більш обмеженим як стосовно кількості мутагенного чинника, так і спектру отриманих мутантних форм (зменшення кількості ознак, за якими можливі мутаційні зміни). Можливою є більша перспективність цього сорту для отримання окремих типів цінних форм, для чого потрібне більш ретельне дослідження спектру і виявлення значущості окремих ознак у ньому.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Hallajian M.T. Mutation Breeding and Drought Stress Tolerance in Plants, *Drought Stress Tolerance in Plants*. 2016. No2. P. 359-383. doi: 10.1007/978-3-319-32423-4_13.
2. Hiroyasu Y. Mutation breeding of ornamental plants using ion beams, *Breeding Science*. 2018. Vol. 68(1). P. 71-78. doi: 10.1270/jsbbs.17086
3. International Atomic Energy Agency. Mutant varieties database. [Online] Vienna: IAEA, 2020. Available at: <https://mvd.iaea.org> [Accessed 16 October 2021].
4. Kolakar S.S., Nadukeri S., Jakkeral S.A., Hanumanthappa M. & Gangaprasad S. Role of mutation breeding in improvement of medicinal and aromatic crops: Review, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2018. SP3. 425-429. doi: <http://dx.doi.org/10.4171/2267-0412.100e108>.
5. Li H.J., Timothy D. M., Mc Intosh R.A., Zhou Y. Wheat breeding in northern China: achievements and technical advances, *The Crop Journal*. 2019. No 7 (6). P. 718-729. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.09.003>.
6. Nazarenko M., Lykholat Y., Grigoryuk I., Khromykh N. Optimal doses and concentrations of mutagens for winter wheat breeding purposes. Part I. Grain productivity, *Journal of Central European Agriculture*. 2018. Vol. 19(1). P. 194-205. doi: /10.5513/JCEA01/19.1.2037.
7. Nazarenko M., Beiko V. & Bondarenko M. Induced mutations of winter wheat caused by gamma-rays fixed on plant height and stem structure, *Agriculture and Forestry*. 2019. Vol. 65(3). P. 75–83. doi: 10.17707/AgricultForest.65.3.06.
8. Naveed A., Nazir A., Abdu, H., Raza S., Muhammad A. Mutation breeding: a tool to improve wheat yield and yield components, *Life Science*. 2015. No 9 (1). P. 3274–3279.
9. Shu Q.Y., Forster B.P., Nakagava H. Plant mutation breeding and biotechnology. CABI publishing, Vienna, 2013. doi: 10.1079/9781780640853.0000.
10. 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.
11. Tengcong J., Jian L., Yujing G., He J. Simulation of plant height of winter wheat under soil water stress using modified growth functions, *Agricultural Water Management*. 2020. Vol. 232. P. 106-166. doi: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106066>.
12. Xicun D., Xia Y., Wenjian L. Plant Mutation Breeding with Heavy Ion Irradiation at IMP, *Journal of Agricultural Science*. 2016. No 8(5). P. 34–41. doi: 10.5539/jas.v8n5p34.