

УДК 631.528:575.22: 633.11

СПЕКТР ТА ЧАСТОТА МУТАЦІЙ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ, ВИКЛИКАНИХ НІТРОЗОАЛКІЛСЕЧОВИНАМИ

Назаренко М.М. – к.б.н.,

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет

Сорти пшениці м'якої озимої були оброблені хімічними мутагенами у концентраціях: НЕС (нітрозоетилсечовина) – 0,01 %, 0,025 %, НМС (нітрозометилсечовина) – 0,0125 %, 0,025 %. Експозиція хімічних мутагенів склала 18 годин. Досліджено спектр та частоту мутацій. Виділено мутантні лінії зі зміненими ознаками, перевірено їх успадкування. Всього ідентифіковано 35 ознак, по котрим проходили мутації. Створено три нові мутантні лінії з високою зерною продуктивністю. Для мутаційної селекції рекомендовано вживати низькі концентрації НЕС та НМС для отримання господарсько-цінних мутацій.

Ключові слова: пшениця озима, хімічний мутагенез, нітрозозалкілсечовини.

Назаренко Н.Н. *Спектр и частота мутаций пшеницы озимой, вызванных нитроалкилмочевинами*

Сорта пшеницы мягкой озимой были обработаны химическими мутагенами в концентрации: НЭМ (нитрозоэтилочевина) – 0,01 %, 0,025 %, НММ (нитрозометилмочевина) – 0,0125 %, 0,025 %. Исследован спектр и частота мутаций. Выделены мутантные линии с изменёнными признаками, проверено их наследование. Всего идентифицировано 35 признаков, по которым происходили мутации. Создано три новые мутантные линии с высокой зерновой продуктивностью. Для мутационной селекции рекомендовано использовать низкие концентрации НЭМ и НММ для получения хозяйственно-ценных мутаций.

Ключевые слова: пшеница озимая, химический мутагенез, нитрозозалкілмочевини.

Nazarenko M. *Spectrum and rate of winter wheat mutations caused by nitrosoalkylureas*

Winter wheat varieties were treated with chemical mutagens at the following concentrations: NEU (nitrosoethylurea) – 0.01 %, 0.025 %, NMU (nitrosomethylurea) – 0.0125 %, 0.025 %. The spectrum and rate of mutation were investigated. We isolated mutant lines with changed traits, investigated their heredity. Overall, thirty-five mutation traits were identified. Three new high grain productivity lines have been developed. We recommend using low concentrations of NEU and NMU in mutation breeding for getting economically valuable mutations.

Key words: winter wheat, chemical mutagenesis, nitrosoalkylureas.

Постановка проблеми. Застосовані хімічні мутагени відносяться до широко розповсюджених як в селекційній практиці (перші два), так і в практичній генетиці. Усі мутагени відносяться до групи так званих супермутагенів[7].

До супермутагенів відносяться хімічні речовини, котрі здатні індукувати мутації з тою ж частотою, що й фізичні мутагени, але без такого зниження життєздатності вихідного матеріалу. Характерною рисою хімічних мутагенів є специфічність (або сайт-специфічність) їхньої дії, тобто їм властивий переважний вплив на окремі ділянки ДНК і, як наслідок, індукція окремих типів мутацій з більш високою частотою, ніж для гамма-променів, котрі мають більш загальний характер дії та індукують усі типи мутацій більш рівномірно (хоча, звичайно, деяка специфічність властива і всім фізичним мутагенам, більш того, ряд хімічних речовин по своїм властивостям в плані специфічності наближені до фізичних мутагенів) [10].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Мутанти, отримані хімічним мутагенезом, більш адаптивні до умов середовища [1]. Найбільш перспективні хемомутанти з комплексом мутацій, включаючи полігенні [97, 98]. Вважається, що цей тип мутагенезу найбільш генотипспецифічний, тобто підібране оптимальне поєднання комплексу мутаген – діапазон доз – вихідний сорт підвищує частоту мутацій до 50 та більше відсотків. Зміна хоча б однієї зі складових знижує частоту та спектр мутацій. Найбільшу цінність представляють знайдені в M_2 цілком змінені сім'ї (константні), коли мутація відбувається за господарсько-цінною ознакою [7].

Крім того, для хімічного мутагенезу характерні менш різкі, поступові зміни, тому цей спосіб більш вдалий для поліпшення вдалих, вже отриманих іншими способами, сортів. Вибрані нами мутагени є широко вживаними для мутаційної генетики та селекції. Те ж саме стосується й обраних концентрацій – вони є тривіальними і дослідження з введення якихось нових не планувалося, оскільки в цьому аспекті проблема використання хімічних мутагенів вже багаторазово вивчена протягом останніх 50–60-х років [4, 9].

Виявлена залежність формотворчої дії хімічних мутагенів від концентрації. Більш низькі концентрації при однаковому відсотковому співвідношенні змін підвищують рівень мінливості ознак в 2–2,5 рази. Найбільш перспективними вважають мутанти з комплексом мутацій, включаючи полігенні. Хімічні мутагени індують переважно низькостеблові форми (але, на відміну від гамма-променів – більш широко вживані в практичних цілях) та стійкі до хвороб [6, 8].

Вважається, що специфіка хімічних мутагенів проявляється в індукції з більшою вірогідністю окремих ознак з меншою загальною кількістю ознак по котрих проходять мутації. Це пов'язано з дією на молекулярному рівні лише на окремі споріднені ДНК-послідовності [2]. По-друге – індукція переважно нерізких, поступових змін. Тобто чим більш віддалена морфологічно, біохімічно чи онтогенетично отримана ознака від «дикої» алелі тим менш вона вірогідна для даного типу мутагені (таких зв'язок існує і для фізичних мутагенів, але там він не такий тісний) [9].

Постановка завдання. Метою нашого дослідження було встановити частоти виникнення окремих типів мутацій (перш за все – продуктивних мутантних форм) при дії окремих концентрацій для використання в мутаційній селекції пшениці м'якої озимої, виділити концентрації оптимальні для індукції цих типів мутацій, встановити залежності між виникненням мутацій та генотипом вихідного селекційного матеріалу.

Матеріал і методика досліджень. В якості матеріалу для дослідження були використані наступні сорти - Фаворитка, Ласуня, Хуртовина – створені за допомогою дії гамма-променів, лінія 418, Колос Миронівщини – методом гібридизації, Сонечко (НДМС 0,005%) і Калинова (ДАБ 0,1 %) – дією хімічних мутагенів, Волошкова – термомутагенез. Насіння обробляли хімічними мутагенами у концентраціях: НЕС (нітрозоетилсечовина) – 0,01 %, 0,025 %, НМС (нітрозометилсечовина) – 0,0125 %, 0,025 %. Експозиція хімічних мутагенів склала 18 годин за загальноприйнятою методикою [38].

Досліди проводились протягом 2011 – 2015 рр. в умовах ННЦ ДДАЕУ та МПП ім. В.М. Ремесло НААН України. У 2011- 2012 роках в другому-

третьому поколінні проводили визначення мутацій візуально та по врожайності в ручних посівах по сім'ях (1 3 рядкові ділянки, міжряддя 0,15 м, довжина рядка 1,5 м), у 2013 – 2015 роках проводили дослідження успадкування, облік продуктивності, структурний аналіз дібраних мутантних ліній (площа ділянки 5 – 10 м², повторність 1-3-х кратна).

Рівень мінливості вираховувався за формулою :

$$P_n = b * g,$$

де P_n – рівень мінливості варіанту;

b – відношення кількості мутацій до загальної кількості сімей в варіанті;

g — кількість типів змінених ознак в варіанті.

Математичну обробку одержаних результатів проводили за методикою дисперсійного аналізу, достовірність різниці між середніми дослідних варіантів і контролем оцінювали за критерієм Ст'юдента. Достовірність різниці між одержаними середніми дослідних варіантів і контролем оцінювали за критерієм Ст'юдента [3].

Виклад основного матеріалу дослідження. Всього було досліджено 20000 сімей в M_2 – M_7 . Кількість по кожному варіанту складала 500 сімей.

Дія НЕС та НМС була значно менш ефективною в індукції загальної частоти мутацій, ніж гамма-променів. НМС індукував більшу кількість мутацій, ніж НЕС, хоча тут частота мутацій більш суттєво залежала від сорту, ніж у гамма-променів. Єдине виключення – лінія 418, де більша частота індукувалася НЕС.

При дії НЕС вища частота мутацій виявлена у лінії 418 (14,2 %, при НЕС 0,025 %) (таблиця 1). При дії НМС вища частота мутацій виявлена у сорту Волошкова (15 %, при НМС 0,025 %). Слід зауважити, що висока частота у цих генотипів виявлена лише при дії даних мутагенних чинників. Як ми могли побачити вище, при дії гамма-променів високим рівнем мутабельності відзначилися інші сорти. Найменша частота мутацій при дії НЕС відмічена у сорту Сонечко - 3,6 %, при дії НЕС 0,01 %, 4,2 % у сорту Сонечко при дії НМС 0,0125 %. Частота мутацій лінійно зростала при підвищенні концентрації як і рівень мінливості. Жодних порушень цієї закономірності не відбувалося, крім як у сорту Сонечко, де при зростанні концентрації НМС рівень мінливості залишився приблизно на тому ж рівні, але частота мутацій вірогідно збільшилась.

Сорт Сонечко, створений при дії НДМС, значно відрізнявся суттєво меншою загальною частотою мутацій, ніж у інших сортів. Також відносно меншою була й варіативність у сорту Калинова, але не настільки. Все ж таки різниця з іншими сортами і в цьому випадку була достовірною.

Що стосується рівня мінливості, то він був досить високим до 3,2 у сорту Волошкова при дії НЕС та 4,2 при дії НМС у того ж сорту. Тобто при дії нітрозосечовин виділився сорт Волошкова (що показав середній рівень мінливості при дії гамма-променів). У лінії 418 індукувалася більша кількість мутацій, але різноманітність біла суттєво нижчою.

Таким чином сорти, створені при використанні хімічних мутагенів продемонстрували суттєво нижчу частоту мутацій та рівень мінливості, особливо це стосувалося сорту Сонечко, що був отриманий при дії мутагену той же самої групи. Але й сорт Калинова, що був створений при дії ДАБ (мутагену того

ж типу алкільних сполук) показав суттєво нижчий рівень мінливості (хоча й не такий низький).

Таблиця 1. Частота мутацій у пшениці озимій

	Кількість мутантних сімей, шт.	Відсоток мутантних сімей	Рівень мінливості
1	2	3	4
Колос Миронівщини, вода	2	0,4±0,2	0,01
Колос Миронівщини, НМС 0,0125%	48	9,6±1,1*	1,9*
Колос Миронівщини, НМС 0,025%	67	13,4±1,2*	3,1*
Колос Миронівщини, НЕС 0,01 %	44	8,8±1,0*	1,3*
Колос Миронівщини, НЕС 0,025 %	68	13,6±1,2*	2,8*
Калинова, вода	6	1,2±0,4	0,06
Калинова, НМС 0,0125%	32	6,4±0,9*	0,9*
Калинова, НМС 0,025%	54	10,8±1,1*	2,0*
Калинова, НЕС 0,01 %	25	5,0±0,7*	0,5*
Калинова, НЕС 0,025 %	35	7,0±0,8*	0,9*
Волошкова, вода	9	1,8±0,4	0,07
Волошкова, НМС 0,0125%	44	8,8±1,0*	1,7*
Волошкова, НМС 0,025%	75	15,0±1,2*	3,2*
Волошкова, НЕС 0,01 %	39	7,8±1,0*	1,4*
Волошкова, НЕС 0,025 %	79	15,8±1,3*	4,2*
Сонечко, вода	4	0,8±0,2	0,02
Сонечко, НМС 0,0125%	21	4,2±0,5*	0,5*
Сонечко, НМС 0,025%	39	7,8±0,7*	1,3*
Сонечко, НЕС 0,01 %	18	3,6±0,4*	0,7*
Сонечко, НЕС 0,025 %	24	4,8±0,5*	0,8
Фаворитка, вода	3	0,6±0,1	0,01
Фаворитка, НМС 0,0125%	44	8,8±0,8*	1,2*
Фаворитка, НМС 0,025%	62	12,4±1,1*	2,6*
Фаворитка, НЕС 0,01 %	38	7,6±0,8*	0,9*
Фаворитка, НЕС 0,025 %	60	12,0±1,1*	1,7*
Хуртовина, вода	4	0,8±0,1	0,02
Хуртовина, НМС 0,0125%	35	7,0±1,0*	1,0*
Хуртовина, НМС 0,025%	56	11,2±1,4*	2,3*
Хуртовина, НЕС 0,01 %	40	8,0±1,2*	1,4*
Хуртовина, НЕС 0,025 %	51	10,2±1,3*	2,0*
Ласуня, вода	7	1,4±0,6	0,07
Ласуня, НМС 0,0125%	42	8,4±1,0*	1,2*
Ласуня, НМС 0,025%	69	13,8±1,4*	3,8*
Ласуня, НЕС 0,01 %	40	8,0±1,0*	1,2*
Ласуня, НЕС 0,025 %	60	12,0±1,3*	2,8*
Лінія 418, вода	4	0,8±0,2	0,02
Лінія 418, НМС 0,0125%	47	9,4±1,0*	1,3*
Лінія 418, НМС 0,025%	60	12,0±1,4*	3,1*
Лінія 418, НЕС 0,01 %	38	7,6±0,9*	1,1*
Лінія 418, НЕС 0,025 %	71	14,2±1,4*	2,6*

* - різниця статистично достовірна при $t_{0,05}$

Більший рівень мінливості показали інші сорти ніж при дії гамма-променів (Волошкова та лінія 418). За факторним аналізом при дії цих мутагенів перше місце за значимістю посідав генотип, потім природа мутагену, а лише потім – концентрація мутагену, що також дуже відрізнялось від випадку гамма-променів.

Частота мутацій значно поступалася дії високих доз гамма-променів, але треба завважити, що за схожістю та виживанням це фактично аналог 100 Гр., тобто більша формотворча здатність при такому порівнянні все ж таки доведена.

На відміну від гамма-променів НЕС та НМС визвало суттєво більш вузький спектр – тобто кількість типів мутантних ознак знизилась (а не лише загальна частота). Причому деякі мутантні форми, що були навіть високо ймовірними для гамма-променів або зникли зовсім, або характерні лише для поодиноких варіантів. Це стосується перш за все системних мутацій та деяких мутацій за морфологією рослини.

Для ретельного аналізу ми класифікували виділені мутації на декілька груп за загальноновизнаною для озимої пшениці методикою (за Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. [5]). Було ідентифіковано загалом 35 типів змінених ознак, що були класифіковані за наступними групами:

Мутації по структурі стебла та листя – усі зміни за морфометрією та морфологією стебла та листя – товсте стебло (відсутнє при дії НЕС), тонке стебло, високостеблові, низькостеблові, напівкарлик, карлик, інтенсивна воскова поволока, слаба воскова поволока, відсутність воскової поволоки.

Мутації кольору та структури зерна – крупне зерно (відсутнє при дії НМС), дрібне зерно.

Мутації кольору та структури колосу – остистий колос, безостий колос, довгий колос, рихлий колос, веретеноподібний колос, щільний колос, крупний колос, дрібний колос, напівостистий колос, ригідний колос, булавовидний колос, загострений колос, антоціанові ості (відсутні при дії НЕС).

Змінені фізіологічні ознаки росту та розвитку – стерильність, ранньостиглість, пізньостиглість, стійкість до захворювань.

Системні мутації – мутації за межі систематичних ознак характерний для пшениці м'якої озимої та більш властивих спорідненим формам – скверхедний колос, спельтоїдний колос, субкомпактоїд, компактоїд (відсутні при дії НЕС), сферококоїд.

Мутації по продуктивності та якості зерна – продуктивні, куцисті форми.

При дії НЕС, на відміну від гамма-променів [6], доволі багато типів мутантних ознак не виникає, або суттєво знижується ймовірність їх виникнення в окремих варіантах, особливо це стосується сортів Сонечко, Калинова, Колос Миронівщини. Також відбувається і посилення мутагенної активності, але вони теж залежить від генотипу об'єкту мутагенної дії (Хуртовина, лінія 418). НЕС не індукує на відміну від гамма-променів великої системних мутантів, мутантів з редукцією росту, окремих типів мутантів за структурою колосу та зерна. Разом с тим, мутаген досить активний в індукції ранньостиглості та стійкості до хвороб (позитивної). Тобто для НЕС, як для мутагену генотип-мутагенна взаємодія має більш суттєве значення.

При дії НМС, деякі мутантні ознаки не виникають, але менше ніж у випадку з НЕС, доволі багато особливостей виникнення мутацій у сортів Сонечко, Хуртовина, Волошкова, Ласуня, лінії 418. Також відбувається і посилення мутагенної активності, але воно переважно залежить від того, за котрої ознакою відбуваються мутації. НМС не індукує на відміну від гамма-променів великої системних мутантів, окремих типів мутантів за структурою колосу та зерна, але все ж таки таких мутацій істотно більше, ніж у випадку НЕС та з'являються деякі типи мутацій, котрих при дії НЕС не відбувалося, в той час як зникла в порівнянні з цим мутагеном лише одна ознака. Разом з тим, мутаген досить активний в індукції ранньостиглості та низькорослості. Застосування НМС перш за все ефективне в отриманні цих ознак.

Для НЕС, НМС доволі багато типів мутантних ознак не виникає, або суттєво змінюється ймовірність їх виникнення в окремих варіантах, особливо це стосується сортів Сонечко, Калинова, Колос Миронівщини (для НЕС), Сонечко, Хуртовина, Волошкова, Ласуня, лінії 418 (для НМС). НЕС досить активний в індукції ранньостиглості та стійкості до хвороб (позитивної). Для НЕС, як для мутагену генотип-мутагенна взаємодія має більш суттєве значення ніж для гамма-променів, чи НМС. Для НМС - мутаген досить активний в індукції ранньостиглості та низькорослості.

В спектрі до генетично – (можливо використання при схрещуванні як джерело цінної ознаки) і селекційно-цінних мутацій віднесли при дії НЕС та НМС наступні – низькостебельність, напівкарликовість, крупний колос, крупне зерно, ранньостиглість, продуктивні та кущисті рослини. Всього отримано – низькостеблових – 11 (особливо багато у сорту Сонечко), напівкарликів – 5, карликів – 3, с крупним колосом – 8, ранньостиглих – 4. В результаті випробувань вдалося виділити три продуктивні мутантні лінії у варіантах з концентраціями мутагенів НМС 0,0125 % (2) та НЕС 0,01 % (1).

Висновки. При трьохфакторному аналізі за факторами «генотип», «концентрація», «природа мутагену» встановлено, що всі три фактори були значимі, але першочергове значення мав фактор «генотип», потім «концентрація», потім «природа мутагену».

Встановлена специфічність дії окремих мутагенів за частотами окремих ознак в спектрі та мутабільністю окремих сортів. Так, виникнення окремих мутаційних випадків дуже залежить від окремих сортів, може відбуватися як різке суттєве збагачення, так і звуження спектру.

Для індукції ранньостиглих форм варто використовувати НЕС, низькостеблових форм – НМС, форм, стійких до хвороб НЕС. Для індукції системних мутацій, мутацій за структурою колосу та взагалі при генетичних дослідженнях для максимальної варіативності отриманих форм варто вживати НМС в порівнянні з НЕС. Для створення нових продуктивних форм перевага серед хімічних мутагенів за низькими концентраціями нітрозосечовин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Артемчук І. П. Вплив експозиції дії мутагенів на частоту мутацій озимої пшениці / І. П. Артемчук, В.Ф. Логвиненко // Физиол. и биохим. культ. раст. – 2003. – 35, № 3. – С. 222 – 228.

2. Козаченко М. Р. Експериментальний мутагенез в селекції ячменю / М. Р. Козаченко. - Харків, 2010. - 296 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия : Г.Ф. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
4. Ларченко К.А. Ефективність низьких доз мутагенів в індукції селекційно-цінних мутацій кукурудзи / К.А. Ларченко, В.В. Моргун, В.О. Хроменко // Физиология и биохимия культур. растений. — 2002. — 34, N 5. — С. 419-423
5. Моргун В.В. Мутационная селекция пшеницы / В.В. Моргун, В.Ф. Логвиненко. – Киев: Наук. думка, 1995. – 627с.
6. Назаренко М. М. Спектр та частота мутацій пшениці озимої, викликаних гамма-променями / М. М. Назаренко, О. О. Іжболдін // Таврійський науковий вісник. –2016. – Вип. 97, 4. – С. 89–95.
7. Эйгес Н.С. Устойчивость к фитопатогенам полученная с использованием метода химического мутагенеза на озимой пшенице /Н.С. Эйгес, Г.А. Волченко, С.Г. Волченко//Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. - 2013. - Вип. 83. - С. 135-145.
8. Nazarenko M. Identification and characterization of mutants induced by gamma radiation in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) / M. Nazarenko // Scientific Papers. Series A. Agronomy.– 2016. – Vol. LIX. – P. 350–353.
9. Shu, Q.Y., Forster B.P., Nakagava H., 2011 Plant Mutation breeding and Biotechnology, Vienna, CAB publishing.
10. Cheng X. Identification and characterization of a high kernel weight mutant induced by gamma-radiation in wheat (*Triticum aestivum* L.). / X. Cheng, L. Chai, Z. Chen// BMC Genetics. – 17. - 2015. P. 112 – 118.

УДК 633.34:631.5:631.8:631.67

СВІТЛОВИЙ РЕЖИМ ПОСІВІВ СОЇ ТА ЙОГО ЗАЛЕЖНІСТЬ ВІД ТЕХНОЛОГІЧНИХ ЗАХОДІВ ВИРОЩУВАННЯ

Нетіс В.І. – н.с.,
Онуфран Л.І. – к.с.-г.н.,
Інститут зрошуваного землеробства НААН

У статті наведено результати дослідження освітленості в посівах сої залежно від сорту, фону живлення і густоти стояння рослин. Краща освітленість в посівах сої, яка забезпечує високу її продуктивність, була за норми висіву 600 тис./га та інокуляції насіння азотфіксуючими бактеріями.

Ключові слова: соя, світло, сорт, фон живлення, норма висіву.

Нетіс В.И., Онуфран Л.И. Световой режим посевов сои и его зависимость от технологических приемов выращивания

В статье приведены результаты исследования освещенности в посевах сои в зависимости от сорта, фона питания и густоты стояния растений. Лучшая освещенность в посевах сои, обеспечивающая её высокую продуктивность, была при норме высева 600 тыс./га и инокуляции семян азотфиксирующими бактериями.

Ключевые слова: соя, свет, сорт, фон питания, норма высева.