

УДК 633.11:631.95:575.21

DOI <https://doi.org/10.32782/2226-0099.2025.144.14>

СПАДКОВІ ЗМІНИ ЗА ДІЇ АЗИДУ НАТРІЮ У ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ

Кришин Р.О. – аспірант кафедри селекції і насінництва,

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

orcid.org/0009-0005-2362-8698

Назаренко М.М. – д.с.-г.н.,

професор кафедри селекції і насінництва,

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

orcid.org/0000-0002-6604-0123

Хімічний мутагенез є перспективним напрямом сучасної селекції рослин завдяки високій специфічності взаємодії з генотипом та здатності до сайт-специфічного впливу на оригінальну, нативну ДНК рослинного організму. Насіння 2 сортів пшениці озимої Співанка та Алтіго 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 мутації були ідентифіковані шляхом візуальної оцінки та біометричного аналізу структури врожайності. Всього досліджено 4400 родин у другому поколінні. Мутагенна дія була значущою для дисперсії зміни концентрації мутагену та для взаємодії генотип-мутаген, генотипів. При попарному порівнянні суттєво відрізнялися сорти Співанка та Алтіго, причому Співанка була менш чутливою до дії АН. В спектрі було отримано всього 37 змінених ознак по 6 групах мінливості. 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, веретеноподібним колосом, спельтоїдів, високостеблових. Досліджуваний хімічний супермутаген продемонстрував високий загальний рівень мутаційної мінливості та надзвичайно високу активність щодо індукції нових форм за всіма основними господарсько-біологічними ознаками рослин озимої пшениці. Водночас найбільш специфічною та характерною для нього є дія, спрямована на модифікацію висоти рослин, що суттєво вирізняє цей агент серед інших подібних хімічних мутагенів. Особливий інтерес представляють форми зі зменшеною висотою, переважно напівкарликові, а також ранньостиглі мутанти, отримані в результаті застосування цього агента. За результатами дослідження встановлено, що для досягнення оптимального мутагенного ефекту на використаному вихідному матеріалі доцільними є помірні концентрації азиду натрію (АН) у межах 0,025–0,05 %. При підвищенні концентрації до 0,1 % спостерігаються переважно негативні ефекти, що робить її недоцільною для селекційної практики. Щодо сортової специфічності дії агента, сорт Співанка можна визнати середнім за чутливістю, тоді як сорт Алтіго демонструє вищу перспективність для подальшого використання з цим мутагеном, що підтверджується також попередніми дослідженнями. Наступними етапами дослідження є поглиблений аналіз отриманих мутантних форм за біохімічними показниками, зокрема за вмістом і якістю білка та клейковини в зерні.

Ключові слова: пшениця озима, азид натрію, мутації, генотип, мінливість.

Kryshyn R.O., Nazarenko M.M. Hereditary changes under the action of sodium azide for winter wheat

Chemical mutagenesis is a promising direction of modern plant breeding due to the high specificity of interaction with the genotype and the ability to site-specific influence on the original, native DNA of the plant organism. Seeds of 2 winter wheat varieties Spivanka and Altigo 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. Exposure to the mutagen effect was 18 hours. In generations M2–M3, mutations were identified by visual assessment and biometric analysis of the yield structure. A total of 4400 families in the second generation were studied. The mutagenic effect was significant for the variance of the change in the mutagen concentration and for the genotype-mutagen interaction, genotypes. In pairwise comparison, the varieties Spivanka and Altigo differed significantly, with Spivanka being less sensitive to the effect of SA. 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 tall-stemmed and semi-dwarf mutants, early-ripening forms. A negative phenomenon is the high probability and regularity of forms with a small, spindle-shaped ear, speltoids, tall-stemmed. The studied chemical supermutagen demonstrated a high overall level of mutational variability and extremely high activity in inducing new forms for all the main economic and biological traits of winter wheat plants. At the same time, the most specific and characteristic for it is the action aimed at modifying the height of plants, which significantly distinguishes this agent among other similar chemical mutagens. Of particular interest are forms with reduced height, mainly semi-dwarf, as well as early-ripening mutants obtained as a result of the use of this agent. According to the results of the study, it was found that to achieve the optimal mutagenic effect on the used starting material, moderate concentrations of sodium azide (SA) within the range of 0.025–0.05% are appropriate. When the concentration is increased to 0.1%, mainly negative effects are observed, which makes it impractical for breeding practice. Regarding the varietal specificity of the agent's action, the variety Spivanka can be considered average in sensitivity, while the variety Altigo demonstrates higher prospects for further use with this mutagen, which is also confirmed by previous studies. The next stages of the study are an in-depth analysis of the obtained mutant forms by biochemical indicators, in particular by the content and quality of protein and gluten in the grain.

Key words: winter wheat, sodium azide, mutations, genotype, variability.

Постановка проблеми. Хімічний мутагенез є перспективним напрямом сучасної селекції рослин завдяки високій специфічності взаємодії з генотипом та здатності до сайт-специфічного впливу на оригінальну, нативну ДНК рослинного організму. Саме ця властивість відрізняє хімічні мутагени від фізичних чинників, дія яких є менш вибірковою та значно менш генотип-специфічною [2, 9]. Використання хімічних мутагенів відкриває низку перспективних можливостей для селекційного покращення господарських характеристик культурних рослин, включаючи отримання цільових корисних мутацій із мінімальною кількістю супутніх негативних змін, що є менш характерним при використанні інших типів мутагенних факторів [1, 3].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Пшениця м'яка озима залишається стратегічною зерновою культурою, особливо в умовах ризикованого землеробства, до яких належить вся територія України. В умовах глобального потепління спостерігається поступове просування ареалів теплолюбних культур у більш північні регіони, що позитивно впливає на перезимівлю озимих зернових. Проте одночасно суттєво зростають ризики втрат врожаю, спричинені посиленням абіотичних стресів у критичні періоди розвитку рослин, зокрема посухи та температурних коливань [4, 5, 6, 8].

Застосування нових хімічних мутагенних факторів на локальному генетичному матеріалі надає широкі можливості для збільшення частоти та зміни спектру мутацій, що індукуються, а також дозволяє ефективніше використовувати генотипи з підвищеною мутабільністю до конкретних чинників [10]. Особливий інтерес представляють так звані комплексні мікромутації, що характерні саме для хімічних мутагенів. Такі мутації здатні покращувати біохімічні та харчові характеристики культурних рослин без супутніх негативних морфо-фізіологічних змін. Це особливо важливо для традиційних сільськогосподарських культур, що зазвичай мають певні недоліки за вмістом важливих біологічно активних сполук, вітамінів чи мікроелементів, які є необхідними для здорового харчування [7, 9].

Отже, перспективним напрямком є дослідження генотип-специфічної реакції локальних сортів пшениці на дію хімічних мутагенів із метою отримання нових форм із покращеними господарсько-цінними ознаками, зокрема адаптивністю до змінюваних кліматичних умов і підвищеними харчовими властивостями зерна.

Постановка завдання. 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 Співанка та Алтіго 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 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. Як представлено в таблиці 1 всього було вивчено 4 400 сімей у другому-третьому поколінні. Використовували звичайні концентрації, що характерні для селекційної практики.

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 добром лише 450 сімей для Співанки та 350 для Алтіго. Зі статистичною достовірністю на загальну частоту мутацій вплинув показник підвищення концентрації ($F=43,22$; $F_{0,05}=2,17$; $P=2,77 \cdot 10^{-3}$), показник генотипу теж був суттєвим ($F=7,45$; $F_{0,05}=4,01$; $P=0,01$), при аналізі знаходимо, що при попарному порівнянні суттєво відрізнялися сорти Співанка та Алтіго ($F=11,22$; $F_{0,05}=5,17$; $P=0,008$), причому Співанка була менш чутливою до дії АН.

Таблиця 1

**Загальна частота мутацій при дії АН в другому-третьому поколінні
($\bar{x} \pm SD$, $n = 350-500$)**

Варіант	Загальна кількість сімей	Кількість мутантних сімей	Частота, %
Співанка, кт.	500	2	$0,40 \pm 0,10^a$
Співанка, АН 0,01%	500	22	$4,40 \pm 0,20^b$
Співанка, АН 0,025%	500	33	$6,60 \pm 0,30^c$
Співанка, АН 0,05%	500	53	$10,60 \pm 0,41^d$
Співанка, АН 0,1%	500	62	$12,40 \pm 0,50^e$
Алтіго, кт.	450	4	$0,80 \pm 0,09^a$
Алтіго, АН 0,01%	500	29	$5,80 \pm 0,25^b$
Алтіго, АН 0,025%	500	40	$8,00 \pm 0,29^c$
Алтіго, АН 0,05%	500	60	$12,00 \pm 0,43^d$
Алтіго, АН 0,1%	350	79	$17,58 \pm 0,58^e$

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

Що стосується цього параметру взагалі, то він варіював у наступних межах від 4,4 % (сорт Співанка) до 5,8 % (сорт Алтіго) при дії АН 0,01%, від 6,6 % (сорт Співанка) до 8,0 % (сорт Алтіго) за дії АН 0,025%, від 10,0 % (сорт Співанка) до

12,0 % (сорт Алтіго) при дії АН 0,05%, від 12,40 % (сорт Співанка) до 17,58 % (сорт Алтіго) 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.

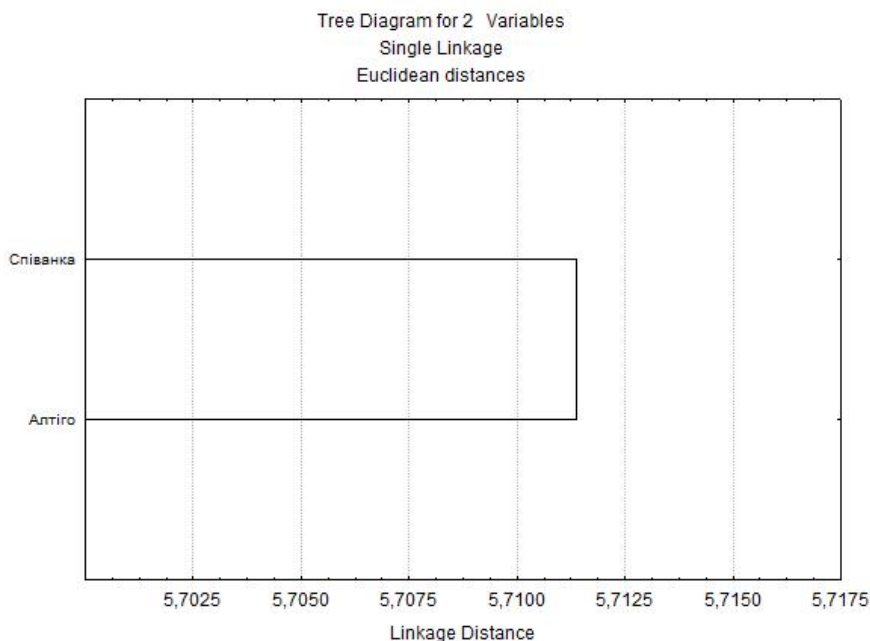


Рис. 1. Результати кластерного аналізу по показнику частоти мутацій.

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).

Таблиця 2

Рівень мінливості за дії АН

Варіант	Рівень мінливості	Кількість змінених ознак
Співанка, кт.	$0,01 \pm 0,01^a$	2
Співанка, АН 0,01%	$0,66 \pm 0,10^b$	15
Співанка, АН 0,025%	$1,45 \pm 0,20^c$	22
Співанка, АН 0,05%	$2,86 \pm 0,30^d$	27
Співанка, АН 0,1%	$3,86 \pm 0,31^c$	28
Алтіго, кт.	$0,03 \pm 0,01^a$	4
Алтіго, АН 0,01%	$1,16 \pm 0,09^b$	20
Алтіго, АН 0,025%	$2,40 \pm 0,11^c$	30
Алтіго, АН 0,05%	$3,48 \pm 0,21^d$	29
Алтіго, АН 0,1%	$6,77 \pm 0,32^c$	30

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

У цьому випадку зі статистичною достовірністю на рівень мінливості вплинув як показник підвищення концентрації ($F=75,11$; $F_{0,05}=2,17$; $P=2,13 \cdot 10^{-4}$), так і показник генотипу ($F=8,89$; $F_{0,05}=4,01$; $P=0,01$), при попарному порівнянні сорти суттєво відрізнялися ($F=12,93$; $F_{0,05}=5,17$; $P=0,006$).

Що стосується цього параметру взагалі, то він варіював у наступних межах від 0,66 (сорт Співанка) до 1,16 (сорт Алтіго) при дії АН 0,01%, від 1,45 (сорт Співанка) до 2,40 (сорт Алтіго) за дії АН 0,025%, від 2,86 (сорт Співанка) до 3,48 (сорт Алтіго) при дії АН 0,05%, від 3,86 % (сорт Співанка) до 6,77 % (сорт Алтіго) при дії АН 0,1%. Таким чином, за рахунок спектру різниці за дії вищих концентрацій між сортами зростає. В усіх випадках варіанти відрізняються один від одного та від контролю. За результатами кластерного аналізу (Рис. 2) знов виділили обидва генотипи окремо.

В спектрі було отримано всього 37 змінених ознак по 6 групах мінливості, котрі були проаналізовані за дискримінантний та факторним аналізом для виявлення значимості окремих груп (Таблиці 3, 4).

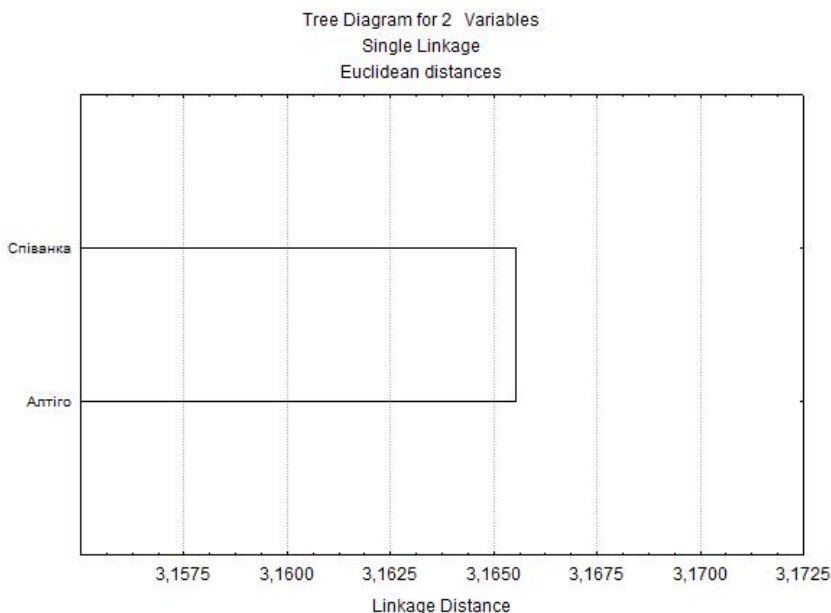


Рис. 2. Результати кластерного аналізу по показнику рівня мінливості.

Перша група мутації за структурою стебла. Це такі ознаки висоти стебла та інтенсивності воскової поволоки. Найвища частота високостеблових форм (до 2,0 %, в середньому 0,71%), також значима ймовірність отримання напівкарликів, рослин з відсутністю воскової поволоки, інші варіанти малоймовірні. Друга група складається з ознак структури зерна. Виникнення мутацій за всіма цими ознаками малоймовірно. Третя група включає зміни за структурою колосу. Більшість мутацій низькоймовірні, але виділилися форми з безостим колосом (до 0,86 %, в середньому 0,37 %), напівостистим та форми з дрібним та веретеноподібним колосом. Зазвичай більш варіативна четверта група (зміни за фізіологією росту та розвитку). Включає ознаки стерильності, ранньостиглості, пізньостиглості, стійкості

до захворювань, але регулярна індукція лише ранньостиглості (до 1,00 %, в середньому 0,48 %). П'ята група складається з системних мутацій - скверхедний колос, спельтоїдний колос, субкомпактоїд та інші. Доволі значна кількість спельтоїдів (до 1,14 %), але лише для високих концентрацій. Шоста група складається з господарчо-цінних форм з високої куцистістю та продуктивністю. Вони мало ймовірні для дії АН, але регулярні за характером виникнення. Більш оптимальними були концентрації АН 0,025 та 0,05 %

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.

Таблиця 3

Модельні параметри мутагенної активності (АН)

Параметр в моделі	Wilks Lambda λ	Часткова Lambda	F-критичне (4,02)	p-рівень
Загальна частота	0,12	0,71	16,18	0,01
Рівень мінливості	0,10	0,81	23,17	0,01
Перша група	0,13	0,67	7,99	0,01
Друга група	0,61	0,28	1,34	0,15
Третя група	0,32	0,55	2,01	0,09
Четверта група	0,52	0,72	6,11	0,03
П'ята група	0,21	0,56	4,05	0,05
Шоста група	0,28	0,54	2,05	0,09

Таблиця 4

Факторне навантаження параметрів мутагенної активності

Параметр	Генотип	Концентрація
Загальна частота	0,793128	0,917511
Рівень мінливості	0,913244	0,916241
Перша група	0,632341	0,763231
Друга група	0,314373	0,276509
Третя група	0,320012	0,338553
Четверта група	0,511113	0,548792
П'ята група	0,500543	0,407679
Шоста група	0,436910	0,355947
Пояснена компонента	2,363737	2,675490
Загальна компонента	0,543451	0,443832

Примітка: статистично значимі виділені жирним

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, веретеноподібним колосом, спельтоїдів, високостеблових.

Висновки і пропозиції. Досліджуваний хімічний супермутаген продемонстрував високий загальний рівень мутаційної мінливості та надзвичайно високу активність щодо індукції нових форм за всіма основними господарсько-біологічними ознаками рослин озимої пшениці. Водночас найбільш специфічною та

характерною для нього є дія, спрямована на модифікацію висоти рослин, що суттєво вирізняє цей агент серед інших подібних хімічних мутагенів. Особливий інтерес представляють форми зі зменшеною висотою, переважно напівкарликові, а також ранньостиглі мутанти, отримані в результаті застосування цього агенту. За результатами дослідження встановлено, що для досягнення оптимального мутагенного ефекту на використаному вихідному матеріалі доцільними є помірні концентрації азиду натрію (АН) у межах 0,025–0,05 %. При підвищенні концентрації до 0,1 % спостерігаються переважно негативні ефекти, що робить її недоцільною для селекційної практики. Щодо сортової специфічності дії агента, сорт Співанка можна визнати середнім за чутливістю, тоді як сорт Алтіго демонструє вищу перспективність для подальшого використання з цим мутагеном, що підтверджується також попередніми дослідженнями. Наступними етапами дослідження є поглиблений аналіз отриманих мутантних форм за біохімічними показниками, зокрема за вмістом і якістю білка та клейковини в зерні, співвідношенням білкових фракцій, а також визначення вмісту біологічно активних речовин і цінних мікроелементів, що дозволить краще оцінити їхню господарську цінність та потенціал для використання у селекційній роботі.

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* (*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, Semenchenko O., Izhboldin O., Hladkikh Y. French winter wheat varieties under ukrainian north steppe condition. *Agriculture and Forestry*. 2021. 67(2). P. 89–102.
9. le Roux M., Burger N., Vlok M., Kunert K., Cullis C., Botha A. EMS Derived Wheat Mutant BIG8-1 (*Triticum aestivum* L.) - A New Drought Tolerant Mutant Wheat Line. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. 22. 5314.
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.