

## Література

1. Бреславец Л.П. Полиплоидия в природе и опыте. – М., 1963. – 364 с.
2. Потапов С.П., Канашина Р.А., Захарова В.А. Улучшение качества плодов яблони путем индуцированного мутагенеза // Вторая Всесоюзная конференция по с-х радиобиологии. Тез.докл. – Обнинск, 1984. – Т. 2. – С. 53–54.
3. Dermen H. Three additional endogenous tetraploids from giant apple sports // *Am.J.Bot.*, 1955. – V. 42. – P. 837–841.
4. Захарова В.О., Герасько Т.В., Хилько В.Т., Захаров М.В. Экспериментальний мутагенез в селекції яблуні; Зб.наук.праць // НАН України, НААН України, НАМН України, Укр.т-во генетиків і селекціонерів ім.М.І. Вавилова. – К.: Логос, 2012. – Т. 3. – С. 60–65.
5. Vaarama A. Meiosis and poliploid characters in the tetraploid apple Variety Hiberna // *Hereditas*, – 1948. – Vol. 34, №1-2. – P. 147–160.
6. Седов Е.Н., Седышева Г.А. Роль полиплоидии в селекции яблони. – Тула, 1985. – 146 с.
7. Канашина Р.А., Захарова В.А. Влияние гамма-излучения на некоторые хозяйственно-ценные признаки яблони // Сб. научных трудов. – М.: ТСХА, 1986. – С. 3–7.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. школа, 1980. – 293 с.

**ZAKHAROVA V.A., ZAKHAROV M.V., KHIL'KO V.T.**

*Tavria State Agrotechnical University of Melitopol*

*Ukraine, 72312, Melitopol, Sverdlova str., 68, e-mail: sachar.aleksej@mail.ru*

## SELECTION OF APPLE-TREE ON POLIPLIROID LEVELS

**Aims.** To work out new methods changes of heredity, that would give an opportunity in a greater scale to induce mutational and recombination changeability. **Methods.** Cytologic research on the generally accepted methodology. **Results.** Through the study of diploid – tetraploid chimeras derived from experimental mutagenesis, the number of violations found in the different phases of meiosis. Characterized some diploid – tetraploid chimeras with valuable economic and biological traits.

**Key words:** feedstock, polyploidy, chromosomes, meiosis, gametes, chimeras, microsporogenesis, macrosporogenesis.

**КАТЕРИНЧУК О.М., ЧУГУНКОВА Т.В.**

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України*

*03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: katernychuks@mail.ru*

## ОПТИМАЛЬНІ ДОЗИ ХІРАЛЬНИХ МУТАГЕНІВ В ІНДУКУВАННІ ВИДИМИХ МУТАЦІЙ НА ОЗИМІЙ М'ЯКІЙ ПШЕНИЦІ

Провідне місце серед генетичних методів селекції, які використовуються для збагачення генетичного різноманіття та виведення нових високопродуктивних сортів культурних рослин, займає експериментальний мутагенез. Станом на 2012 рік зареєстровано більш ніж 3200 мутантних сортів рослин, із яких 87 % створені з використанням фізичних і 13 % – хімічних мутагенів. За допомогою мутаційної селекції в 2011 році у світі створено більше 250 сортів озимої м'якої пшениці [1].

Озима пшениця є головною продовольчою культурою серед зернових і за посівними площами займає в Україні перше місце. Для підвищення врожайності та росту валових зборів зерна важливим є збагачення та урізноманітнення генофонду пшениць. В Україні чільне місце по

одержанню нових сортів озимої пшениці займає Інститут фізіології рослин та генетики НАН України, де виведено 116 нових мутантних сортів озимої пшениці, гібридів кукурудзи та інших культур [2].

На сьогодні найбільш поширеними високоефективними мутагенними чинниками, є гамма-промені, а також такі хімічні супермутагени як N-нітрозоетилсечовина, N-нітрозометилсечовина, N-нітрозодиметилсечовина, етиленімін, етилметансульфонат, 1,4-бисдіазаацетилбутан та інші. Але у практиці застосовуються небагато з них. Подальший розвиток досліджень з мутаційної селекції рослин може бути пов'язаний з відкриттям нових високоактивних хімічних мутагенів. Кращі мутагени повинні забезпечувати отримання мутацій з високою частотою і широ-

ким спектром корисних ознак. Хіральні речовини, механізм дії яких пов'язаний з різною оптичною активністю стереоізомерів, є привабливими

для застосування в експериментальному мутагенезі рослин [3, 4].

### Матеріали і методи

Матеріалом дослідження були сорти озимої м'якої пшениці Кірена (вітчизняної селекції) і Federer (чеської селекції). В якості мутагенів використовували хіральні нітрузоалкілсечовини: R(-) і S(+) 1-N-нітрузо-1-N-метил-3-N-вторбутилсечовина (НМвБС) синтезовані в лабораторії стереохімії Інституту хімічної фізики ім. М.М. Семенова РАН\*.

Насіння (по 1000 зерен у кожному варіанті досліду) обробляли хіральними мутагенами у концентраціях 0,005; 0,01; 0,03; 0,05 % за загально прийнятою методикою. Контролем було насіння відповідного сорту, оброблене водою. Для порівняння дії різних мутагенів на рослини пшениці використовували нітрузоетилсечовину

(НЕС) у оптимальних концентраціях 0,0125 і 0,025 % та гамма-промені (ГП) у дозі 100 Гр. Експозиція при обробці насіння хімічними мутагенами складала 18 годин.

Рослини вирощували на полях дослідного господарства Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (сmt Глеваха Васильківського району Київської області). Визначали польову схожість насіння пшениці та виживаність після весняного відновлення вегетації рослин. Мутації визначали шляхом добору змінених рослин на всіх фазах розвитку та аналізу успадкування змінених ознак в поколіннях  $M_2$ – $M_3$ . Статистичну обробку результатів дослідів проводили за методикою [5].

### Результати та обговорення

Дослідження реакції рослин озимої м'якої пшениці першого мутантного покоління на дію хіральних R(-) та S(+) стереоізомерів розпочали з аналізу польової схожості насіння. Цей показник залежить від дози та природи мутагенного чинника і свідчить про токсичність мутагену [6–8]. Результати вивчення польової схожості насіння та виживання рослин сортів Кірена та Federer у зимовий період представлені в таблиці 1. Майже в усіх варіантах обробки мутагенами виявлено зниження польової схожості насіння в порівнянні з контролем. Винятком були варіанти обробки R(-) НМвБС у найнижчій концентрації (0,005 %).

Спостерігали лінійну залежність між дозою та польовою схожістю насіння. За максимальної концентрації (0,05 %) обох стереоізомерів виявили найбільшу пригнічуючу дію на схожість насіння. Так, за дії S(+) у сорту Federer схожість становила 53,5 %, а у сорту Кірена – 50,7 %. Низькі значення польової схожості після обробки мутагенами у концентрації 0,05 % вказують на те, що максимальні дози, які використовували у дослідях, є напівлетальними для озимої пшениці. Спостерігали деякі відмінності у реакції сортів на дію стереоізомерів, сорт Federer за польовою схожістю насіння виявився більш стійким, ніж сорт Кірена.

Таблиця 1. Польова схожість насіння та виживання рослин  $M_1$  озимої пшениці за дії мутагенів

Мутаген, концентрація, %	Польова схожість, %		Вживання в зимовий період, %	
	сорт Federer	сорт Кірена	сорт Federer	сорт Кірена
Контроль (вода)	94,4±0,73	96,2±0,60	84,6±1,17	91,3±0,91
ГП 100 Гр	79,4±0,1*	80,0±1,26*	59,4±1,55*	79,2±1,28*
НЕС 0,0125	77,2±1,38*	78,0±0,1*	62,6±1,53*	52,2±1,58*^
НЕС 0,025	74,3±1,32*	73,1±0,2*	60,3±1,55*	47,8±1,58*
R(-) НМвБС 0,005	90,3±0,94*^	95,8±0,63^	73,1±1,48*^	84,2±1,18*^
R(-) НМвБС 0,01	78,6±1,30*^	76,3±1,34*^	67,4±1,67*^	72,7±1,61*^
R(-) НМвБС 0,03	77,1±1,33*	74,5±1,38*	64,7±1,72*	70,4±1,67*
R(-) НМвБС 0,05	55,7±1,57*^	51,1±1,58*^	48,3±2,12*^	49,8±2,21*^
S(+) НМвБС 0,005	86,4±1,08*^	81,6±1,23*^	71,8±1,53*^	82,1±1,34*^
S(+) НМвБС 0,01	74,8±1,37*^	63,3±1,52*^	62,6±1,77*^	70,4±1,81*^
S(+) НМвБС 0,03	74,1±1,39*	62,7±1,57*	61,2±1,79*	68,7±1,98*
S(+) НМвБС 0,05	53,5±1,58*^	50,7±1,58*^	45,1±2,15*^	47,3±2,22*^

Примітки: \* – різниця достовірна за  $P_{0,05}$  в порівнянні з контролем; ^ – різниця достовірна за  $P_{0,05}$  в порівнянні з попереднім показником.

Було проаналізовано виживання рослин пшениці після весняного відновлення вегетації. В усіх дослідних варіантах виявлено достовірне зниження рівня виживання рослин у порівнянні з контролем, в залежності від концентрації мутагенів. Найбільш низький показник виживання був у варіантах обробки стереоізомерами R(-) та S(+) у концентрації 0,05 %.

Дослідження частоти мутацій у M<sub>2</sub>-M<sub>3</sub> засвідчило, що у третьому мутантному поколінні виділяється значна кількість рослин пшениці, які відрізняються за морфологічними ознаками та фізіологічними показниками від вихідних сортів. Аналіз мутантних форм виявив тенденцію до збільшення частоти мутацій при підвищенні

доз мутагенів. Так, із зростанням концентрації хіральних мутагенів збільшувалася частота мутацій: у сорту Federer від 3,2 % до 9 %, сорту Кірена – від 5 % до 12,6 % (табл. 2).

За дії хіральних R(-) НМвБС максимальна частота мутацій становила 10,2 %, це суттєво перевищило частоту мутацій, індукованих гамма-променями у дозі 100 Гр. Під впливом R(-) стереоізомеру в концентраціях 0,03 % та 0,05 % спостерігали мутації на рівні дії НЕС в оптимальних концентраціях. Це дає підставу стверджувати, що концентрації 0,03 % та 0,05 % R(-) НМвБС є оптимальними для індукування мутацій на озимій м'якій пшениці.

Таблиця 2. Частота видимих мутацій у сортів м'якої озимої пшениці в поколінні M<sub>3</sub>

Мутаген, концентрація, %	Вивчено сімей	Сімей з мутаціями, %	
	шт.	Сорт Federer	Сорт Кірена
Контроль (вода)	500	0,4±0,28	0,8±0,4
ГП 100 Гр	500	4,2±0,9*	5,2±0,99*
НЕС 0,0125	500	5,4±1,01*	8,0±1,21*
НЕС 0,025	500	5,6±1,03*	7,8±1,2*
R(-) НМвБС 0,005	500	3,2±0,79*	5,0±0,97*
R(-) НМвБС 0,01	500	3,6±0,83*	5,4±1,01*
R(-) НМвБС 0,03	500	4,8±0,96*	10,2±1,35*‡
R(-) НМвБС 0,05	500	5,4±1,01*	9,2±1,29*‡
S(+) НМвБС 0,005	500	5,0±0,97*	5,0±0,97*
S(+) НМвБС 0,01	500	5,6±1,03*	9,0±1,28*‡
S(+) НМвБС 0,03	500	6,0±1,06*	9,2±1,29*‡
S(+) НМвБС 0,05	500	9,0±1,28*, ‡, ^, **	12,6±1,48*, ‡, ^

Примітки: \* – різниця достовірна з 1 при P<sub>0,05</sub>; ‡ – різниця достовірна з 2 при P<sub>0,05</sub>; ^ – різниця достовірна з 3, 4 при P<sub>0,05</sub>; \*\* – різниця достовірна з 5-8 при P<sub>0,05</sub>.

За дії стереоізомеру S(+) НМвБС в максимальній концентрації (0,05 %) відмічено найбільшу частоту видимих мутацій (12,6 %), а також достовірне перевищення частоти мутантних сімей в порівнянні з дією ГП та НЕС на обох досліджуваних сортах пшениці. Дія S(+) в концен-

траціях 0,01 % та 0,03 % знаходилась на рівні супермутагену НЕС. Це дозволяє вважати концентрації 0,01 % та 0,03 % S(+) НМвБС оптимальними для індукування видимих мутацій у озимої пшениці.

### Висновки

Таким чином, комплексний аналіз одержаних результатів по схожості насіння, виживанню в зимовий період і частоти видимих мутацій за дії стереоізомеру R(-), дає підставу вважати, що концентрації 0,03 % та 0,05 % є оптимальними для використання в мутаційній селекції.

За дії S(+) стереоізомеру оптимальними є

концентрації 0,01 % та 0,03 %. Концентрація 0,05 % S(+) стереоізомеру (за результатами польової схожості насіння та виживанням рослин) є напівлетальною, в той же час за її дії у обох досліджуваних сортів спостерігали найбільшу частоту видимих мутацій.

\* Автори щиро вдячні завідувачу лабораторії стереохімії Інституту хімічної фізики ім. М.М. Семенова РАН д.х.н., проф. Р.Г. Костяновському за люб'язно надані хіральні стереоізомери нітрозометилвторбутилсечовини для досліджень згідно з договором про творчу співпрацю.

### Література

1. FAO/IAEA Mutant Variety Database. – Режим доступу: <http://mvgs.iaea.org>.
2. Моргун В.В. Досягнення інституту фізіології рослин і генетики НАН України (до 65-ї річниці від дня заснування) // Физиология и биохимия культ. растений. – 2011. – 43, №3. – С. 187–211.
3. Hiroyoshi Omokawa, Jae Hwan Ryou. Enantioselective Response of Rice and Barnyard Millet on Root Growth Inhibition by Optically Active  $\alpha$ -Methylbenzyl Phenylureas // Pesticide Biochemistry and Physiology. – 2001. – 70, №1. – Р. 1–6.
4. Hisahiro Kojima, Takako Numata, Ryota Tadaki, Hiroyoshi Omokawa. PCR-based suppression subtractive hybridization analyses of enantioselective gene expression in root tips of wheat treated with optically active urea compounds // Pesticide Biochemistry and Physiology. – 2010. – 98, №3. – Р. 359-369.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк. 1990. – 352 с.
6. Мальченко В.В., Гуляев Г.В., Хотяновская Е.Б. Экспериментальный мутагенез озимой пшеницы. Действие химических мутагенов на  $M_1$  и частота мутаций в  $M_2$  // Генетика. – 1976. – Vol. 12, №2. – С. 25–35.
7. Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. Мутационная селекция пшеницы. – Киев: Наук. думка, 1995. – 628 с.
8. Оксьом В.П. Вплив мутагенних чинників на рослини  $M_1$  озимої пшениці та його зв'язок із частотою змінених форм у другому поколінні // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – 42, №2. – С. 153–162.

**KATERYNCHUK A.M., CHUGUNKOVA T.V.**

*Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine  
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 31/17, e-mail: katerynchuks@mail.ru*

### OPTIMAL DOSE CHIRAL MUTAGENS IN INDUCING VISIBLE MUTATIONS ON WINTER WHEAT

**Aim.** In order to expand the class of mutagens that would allow to obtain new mutant forms of crops, we investigated the optimal dose of chiral nitrosoalkylureas on winter wheat for the first time. **Methods.** We used standard methods of processing seed mutagens, field and laboratory methods for the analysis of plants in the generation of  $M_1$ – $M_3$ , methods of statistical analysis. **Results.** The greatest number of mutations in both varieties was induced by the action of S (+) stereoisomer at a concentration of 0,05 %. The frequency of visible mutations in variety Federer ranged from 3,2 % to 9 %, in a variety of Kyrene – from 5 % to 12,6 %. **Conclusions.** As a result, the effect of chiral stereoisomers on winter wheat was studied. Found that stereoisomers R(-) and S(+) nitroso-*sec*-butyl-methylureas cause significant mutant changes in the varieties of wheat. The optimal and semi-lethal doses of chiral stereoisomers S(+)-NMsBU and R(-)-NMsBU for winter wheat seeds were first determined.

*Key words:* chiral nitrosoalkylureas, mutation frequency, optimal dose, common winter wheat.

**КОВАЛЕВА Л.В., ЗАХАРОВА Е.В., ТИМОФЕЕВА Г.В., УСТИНОВА А.В., РАКИТИН В.Ю.**

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук  
Россия, 127273, г. Москва, ул. Ботаническая, 35, e-mail: kovaleva\_l@mail.ru*

### ЭТИЛЕН В ПРОГАМНОЙ ФАЗЕ ОПОДОТВОРЕНИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

В настоящее время накапливается все больше данных об участии этилена в регуляции репродуктивного процесса растений [1]. Показано, что трансгенные растения петунии со сниженной экспрессией гена PhEIN2 проявляли низкую чувствительность к этилену при старении цветков и созревании плодов, а сверхэкспрессия в трансгенных растениях табака гена Cm-

ETR1/H69A или Cm-ERS1/H70A индуцировала стерильность пыльцы или снижала ее фертильность [2]. Анализ профиля глобальной экспрессии генов в развивающемся пыльнике риса выявил наличие синтеза и сигналинга этилена в микроспорах, пыльцевых зернах и тапетуме, в частности выявил экспрессию АЦК-синтазы6(ACS6), АЦК-оксидазы2(ACO2) и