

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

БЕЙКО ВОЛОДИМИР СЕРГІЙОВИЧ

УДК 631.95:633.11:575.21:575.22:574.24

ДИСЕРТАЦІЯ

**ЕКОЛОГО-ГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ПРИ ДІЇ
ЕПІМУТАГЕНУ З ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНОЮ ГРУПОЮ**

Спеціальність - 201 Агрономія
Галузь знань - 20 Аграрні науки та продовольство

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії (PhD)

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Володимир БЕЙКО

Науковий керівник: Назаренко Микола Миколайович, доктор
сільськогосподарських наук, професор

Дніпро – 2025

АНОТАЦІЯ

Бейко В. С. Еколого-генетична мінливість пшениці озимої при дії епімутагену з поліфункціональною групою. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 201 – Агрономія. – Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, 2025.

У дисертаційному дослідженні показано можливості створення продуктивних та якісних агроценозів пшениці озимої за умови застосування епімутагену з поліфункціональною групою Тритон 305Х. Висвітлено проблематику пошуку нових джерел індукції штучного біорізноманіття для сучасних сортів пшениці озимої, створення нового цінного вихідного матеріалу.

Метою роботи було виявити особливості дії епімутагенних чинників з поліфункціональною групою для створення стабільних продуктивних та якісних агроценозів пшениці озимої з необхідним рівнем якості зерна.

Озима пшениця залишається пріоритетною культурою для регіонів з нестабільними агрокліматичними умовами. Застосування епімутагенів на різноманітному екологічному та географічному матеріалі відкриває перспективи для отримання цінних малих мутацій у певних генотипах. Епімутації можуть забезпечити приховані комплексні зміни, які здатні підвищити біохімічну цінність злаків без негативних кореляцій. Одним з перспективних підходів є дослідження впливу індукторів, таких як Тритон 305Х, який змінює стан ядерних мембран і викликає спадкові морфологічні зміни.

У своїй дії як екогенетичний чинник ТХ-305 показав наявність вагомого ефекту значної віддаленої загибелі для всіх сортів, але доведено, що деякі генотипи за його дії демонструють повністю летальні наслідки. Вживання після зимового періоду є диференціувальним фактором для класифікації сортів за придатністю до застосування цього епімутагену.

Надійним новим показником для моніторингу депресивних ефектів у першому поколінні можна вважати концентрацію цукрів у вузлі кущення

протягом зимового періоду. Динаміка зміни цього показника відтворює не лише зимостійкість, але й негативний фізіологічний ефект дії епімутагену. Дослідження показника фотосинтетичної активності у критичній фазі колосіння для популяції першого покоління показало, що цей показник надійно ідентифікує вплив повної концентрації епімутагену, але залежить від вихідного матеріалу у своїй мінливості.

Загалом застосовані в ході дослідження концентрації можна класифікувати таким чином: ТХ-305 0,01 % та 0,05 % – як помірні; ТХ-305 0,1 % та 0,5 % – як високі з переходом до напівлетальних у кожному випадку, у деяких варіантах залежно від генотипу вихідного матеріалу можливі також повністю летальні наслідки застосування через численні негативні фізіологічні ефекти.

Найбільш надійними моніторинговими параметрами, що відбивають негативні ефекти мутагенної дії в мутантній популяції першого покоління, є онтогенетичні показники схожості та загибелі рослин внаслідок зимового періоду, показники перезимівлі (концентрація цукрів у вузлі кущення), також надійно можна застосовувати масу тисячі зерен. Менш надійними можуть бути показники фотосинтетичної активності, які визначають у стадії колосіння. Інші досліджені параметри недоцільно використовувати через низьку інформативність та варіативність. В окремих випадках за показниками виживання та МТЗ фіксували можливість виникнення ефекту стимуляції, який не властивий для епігенетичної дії.

Підвищення концентрації мутагену є найбільш вагомим фактором, що впливає на прояви мутагенної депресії. Вплив генотипу сорту також значущий, але в меншій кількості випадків порівняно з іншими чинниками, особливо за дії менш активних концентрацій епімутагену. Взаємодія між генотипом сорту та дією епімутагену проявляється сильно, навіть для менш толерантних зразків. Ця взаємодія найбільш виражена за дії високих концентрацій епімутагену. В окремих випадках генотипепімутагенна взаємодія має позитивний ефект, що виражається у зниженні рівня депресії або прояві стимуляційного ефекту. Це свідчить про наявність індивідуальних особливостей генотипів, які можуть

використовуватися для подальшого вивчення та добору їх як вихідного матеріалу.

Зниження життєздатності та зростання стерильності за дії ТХ-305 може мати переривчастий характер, з піковими спадами по досягненню критичних значень залежно від особливостей побудови геному вихідного матеріалу. Деякі сорти (Courtot, Lyrik, частково Flamenko) здатні проявляти дуже високий рівень чутливості до дії відповідного чинника, у результаті чого їхня плодючість та можливість отримання відповідної кількості рослинного матеріалу суттєво знижується, а перспектива використання цього вихідного матеріалу з позиції епігенетичної мінливості стає сумнівною.

Загальна частота цитогенетичної активності для будь-якого вихідного матеріалу суттєво збільшувалася зі збільшенням концентрації епігенетичного чинника, але ця залежність могла порушуватись для деяких сортів (Altigo, частково Подолянка) та не мала абсолютного характеру. Цитогенетична активність є надійним моніторингом факту дії, але не відтворює різницю за впливом щодо життєздатності, тому не можна лише за цим методом аналізу ідентифікувати однозначно неперспективний матеріал.

Параметри фертильності пилку, загальної частота хромосомних перебудов, наявність фрагментів і подвійних фрагментів були ключовими моментами для аналізу впливу концентрації, у той час як наявність інших типів перебудов та клітин з множинними абераціями, частково частота мостів були модельними для вихідного матеріалу та суттєво залежали від генотипу суб'єкта дії епігенетичного чинника.

Сила генотипмутагенної взаємодії з підвищенням кількості епігенетичного чинника загалом знижувалася, на клітинному рівні відзначалася різкими змінами цитогенетичної мінливості за переходу між концентраціями, що свідчить про вторинність пошкодження ДНК як наслідку первинного процесу впливу на гістонну частину хромосомного апарата клітини та непрямий характер дії чинника як індуктора спадкової мінливості. Водночас сам факт впливу на

цитогенетичну мінливість завжди була достовірним, тобто дія ТХ-305 завжди опосередковано, але достовірно призводила до змін у хромосомному апараті.

Переважно дія епімутагенного чинника ТХ-305 виявляється у виникненні менш різких змін та індукції невеликої, але регулярної кількості форм. До спадкових змін регулярного характеру з високою відносною частотою належать високо- та низькостеблові форми, зміни із слабкою та відсутністю воскової поволоки, довгим колосом, великим колосом (лише у сортів Співанка та Altigo), за строками стиглості, особливо за вищих концентрацій 0,1 та 0,5 %, але дія погіршується через вагому кількість стерильних форм. Ймовірність виникнення продуктивних форм низька, але регулярна.

Рекомендується використовувати епімутаген у концентраціях 0,1 % та 0,5 %, оскільки саме ці варіанти виявляють максимальну ефективність у створенні цінних селекційних форм. Більш помірні концентрації (менше 0,1 %) показали меншу ефективність, що робить їх менш доцільними для цілей селекції. Агент може бути успішним в індукції ранньостиглих низькорослих форм з довгим колосом, поліпшеними порівняно з вихідною формою врожайними якостями, показниками вмісту білка та цінних компонентів запасних білків пшениці. Як вихідний матеріал варто використовувати сорти Співанка, Altigo, Flamenko.

Виділено шість продуктивних форм, з яких особливу увагу привертають лінія 30 (сорт Співанка, ТХ-305 0,5%), яка є високопродуктивною, лінія 211 (сорт Altigo, ТХ-305 0,5%) та лінія 212 (сорт Flamenko, ТХ-305 0,1%), які є джерелами білка високої якості й мають задовільну врожайність. Ці лінії можуть стати основою для селекційних програм, що орієнтовані на поліпшення якості зерна та врожайності в умовах екологічної нестабільності.

Ключові слова: пшениця м'яка озима, екогенетичний чинник, агроценоз, Тритон Х305, спадкова мінливість, епімутаген.

ABSTRACT

Beiko V.S. Ecological and genetic variability of winter wheat under the influence of an epimutagen with a polyfunctional group. – Qualification science work on manuscript rules.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy by specialty 210 – Agronomy. – Dnipro State Agrarian and Economic university, Dnipro, 2025.

The dissertation research shows the possibilities of creating productive and high-quality agrocenoses of winter wheat using the epimutagen with the polyfunctional group Triton-305X. The problem of finding new sources of induction of artificial biodiversity for modern varieties of winter wheat, the creation of a new valuable starting material is highlighted.

The aim of the work was to identify the features of the action of epimutagenic factors with a polyfunctional group in order to create stable productive and high-quality agrocenoses of winter wheat with the required level of grain quality.

Winter wheat remains a priority crop for regions with unstable agroclimatic conditions. The use of epimutagens on various ecological and geographical material opens up prospects for obtaining valuable small mutations in certain genotypes. Epimutations can provide hidden complex changes that, without negative correlations, can increase the biochemical value of cereals. One promising approach is to study the effect of inducers, such as Triton-305X, which changes the state of nuclear membranes and causes heritable morphological changes.

In its action as an ecogenetic factor, TX-305 showed a significant effect of significant long-term death for all varieties, but it has been proven that some genotypes under the action of this factor demonstrate completely lethal consequences. Survival after the winter period is a differentiating factor for the classification of varieties according to their suitability for the use of this epimutagen.

A reliable new indicator for monitoring depressive effects in the first generation can be considered the concentration of sugars in the tillering node during the winter period. The dynamics of changes in this indicator reproduces not only winter hardiness, but also the negative physiological effect of the epimutagen action. Studies on the

photosynthetic activity indicator in the critical earing phase for the first generation population showed that this indicator reliably identifies the effect of the post-harvest concentration of the epimutagen, but depends on the source material in its variability.

In general, the concentrations used in the study can be classified as follows: TX-305 0.01% and 0.05% as moderate, TX-305 0.1% and 0.5% - as high, with a transition to semi-lethal in each case, in some variants, depending on the genotype of the source material, completely lethal consequences of use are also possible due to numerous negative physiological effects.

The most reliable monitoring parameters that reflect the negative effects of mutagenic action in the mutant population of the first generation are ontogenetic indicators of germination and plant death due to the winter period, indicators of overwintering (concentration of sugars in the tillering node), and the mass of a thousand grains can also be reliably used. The indicators of photosynthetic activity may be less reliable when determined at the earing stage. Other studied parameters are inappropriate to use due to low informativeness and variability. In some cases, the possibility of a stimulation effect that is not characteristic of epigenetic action was recorded by survival and MTZ indicators. An increase in the concentration of the mutagen is the most significant factor affecting the manifestations of mutagenic depression. The influence of the genotype of the variety is also significant, but in fewer cases compared to other factors, especially under the action of less active concentrations of the epimutagen. The interaction between the genotype of the variety and the action of the epimutagen is strongly manifested, even for less tolerant samples. This interaction is most pronounced under the action of high concentrations of epimutagen. In some cases, the genotype-epimutagen interaction has a positive effect, which is expressed in a decrease in the level of depression or the manifestation of a stimulating effect. This indicates the presence of individual characteristics of genotypes that can be used for further study and selection as a starting material.

The decrease in viability and increase in sterility under the action of TX-305 may be intermittent, with peak declines upon reaching critical values, depending on the features of the genome structure of the starting material. A number of varieties

(Courtot, Lyrik, partly Flamenko) are able to show a very high level of sensitivity to the action of the corresponding factor, as a result of which their fertility and the possibility of obtaining the appropriate amount of plant material are significantly reduced, and the prospect of using this starting material from the point of view of epigenetic variability becomes doubtful.

The total frequency of cytogenetic activity for any source material significantly increased with increasing concentration of the epigenetic factor, but this dependence could be violated for some varieties (Altigo, partly Podolyanka) and was not absolute. Cytogenetic activity is a reliable monitoring of the fact of action, but does not reproduce the difference in the impact on viability, therefore, it is not possible to identify unambiguously unpromising material using this analysis method alone.

Pollen fertility parameters, the total frequency of chromosomal rearrangements, the presence of fragments and double fragments were key points for analyzing the effect of concentration, while the presence of other types of rearrangements and cells with multiple aberrations, partly the frequency of bridges were model for the source material and significantly depended on the genotype of the subject of the action of the epigenetic factor.

The strength of the genotype-mutagenic interaction generally decreased depending on the increase in the amount of epigenetic factor, at the cellular level it was marked by sharp changes in cytogenetic variability when switching between concentrations, which indicates the secondary nature of DNA damage as a consequence of the primary process of influence on the histone part of the chromosomal apparatus of the cell and the indirect nature of the factor's action as an inducer of hereditary variability. At the same time, the very fact of influence on cytogenetic variability was always reliable, that is, the action of TX-305 always indirectly, but reliably led to changes in the chromosomal apparatus. Mainly, the action of the epimutagenic factor TX-305 is manifested in the occurrence of less sharp changes and the induction of a small but regular number of forms. Hereditary changes of a regular nature with a high relative frequency include high- and low-stem forms, changes with weak and absent wax coating, long spike, large spike (only in Spivanka and Altigo varieties), in terms

of maturity, especially at higher concentrations of 0.1 and 0.5%, but the effect is impaired due to the significant number of sterile forms. The probability of the occurrence of productive forms is low, but regular. It is recommended to use the epimutagen in concentrations of 0.1% and 0.5%, since these are the options that show maximum efficiency in creating valuable breeding forms. More moderate concentrations (less than 0.1%) showed lower efficiency, which makes them less appropriate for breeding purposes. The agent can be successful in inducing early-ripening low-growing forms with a long spike, improved yield qualities, protein content and valuable components of wheat reserve proteins compared to the original form. As a starting material, it is worth using the varieties Spivanka, Altigo, Flamenko.

Six productive forms have been identified, of which line 30 (variety Spivanka, TX-305 0.5%), which is highly productive, line 211 (variety Altigo, TX-305 0.5%) and line 212 (variety Flamenko, TX-305 0.1%), which are sources of high-quality protein with satisfactory yield, attract special attention. These lines can become the basis for breeding programs aimed at improving grain quality and yield in conditions of environmental instability.

Keywords: bread winter wheat, ecogenetic factor, agrocenosis, Triton-X-305, hereditary variability, epimutagen.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті в наукових фахових виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз даних Scopus та Web of Science:

1. Beiko V., Nazarenko M. Occurrence of cytogenetic effects under the action of epimutagen in winter wheat. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022. Vol. 13 (3). P. 294–300. Режим доступу: <https://doi.org/10.15421/022238> (Scopus) (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

Статті в наукових фахових виданнях України:

2. Beiko V., Nazarenko M. Early depressive effects of epimutagen in the first generation of winter wheat varieties. *Agrology*. 2022. Вип. 5. С. 43–48. Режим доступу: <https://doi.org/10.32819/021106> (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті)

3. Бейко В. С., Назаренко М. М. Мутаційна мінливість при дії Тритон-305Х у пшениці озимої. *Таврійський науковий вісник*. 2024. Вип. 135. С. 26–33. Режим доступу до статті: <https://doi.org/10.32782/2226-0099.2024.135.1.4> (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті)

Тези наукових доповідей:

4. Beiko V., Nazarenko M. Influence of epimutagen (Triton x-305) on first stage of winter wheat plant vegetation. *Матеріали Всеукр. науково-практ. конф. здобувачів, молодих учених та спеціалістів* (Харків, 3 грудня 2021). Харків, 2021. С. 7–8. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, аналіз результатів, підготовка та написання статті).

5. Beiko V., Nazarenko M., Izhboldin O. SPAD activity as index of winter wheat plant mutagen depression. *Зб. матеріалів Міжнар. науково-практ. конф. «Селекція агрокультур в умовах змін клімату: напрями та пріоритети»*. Одеса : ІКОСГ НААН, 2022. С. 169–170. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

6. Beiko V., Nazarenko M., Izhboldin O. Cytogenetic effects under the epimutagen (Triton-X-305) action on winter wheat. *Захист і карантин рослин у XXI столітті: проблеми і перспективи* : матеріали Міжнар. науково-практ. конф., присвяченої ювілейним датам від дня народження видатних вчених-фітопатологів д-рів біол. наук, проф. В. К. Пантелеєва та М. М. Родігіна (м. Харків, 20–21 жовтня 2022 р.). Харків, 2022. С. 230–231. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

7. Nazarenko M., Beiko V. Rate of chromosomal aberrations induced by epimutagen Triton-X-305. *Матеріали VI Міжнар. науково-практ. конф. «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур»* (м. Дніпро, 16–17 листоп. 2022 р.). Дніпро : ДДАЕУ, 2022. С. 71–72. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

8. Бейко В. С., Назаренко М. М. Негативна дія епімутагену на сорти пшениці озимої у першому поколінні як фактор мінливості ініціального матеріалу. *Матеріали VII Міжнар. науково-практ. конф. «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур»* (м. Дніпро, 21–22 листоп. 2023 р.). Дніпро : ДДАЕУ, 2023. С. 35–36. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

9. Beiko V., Nazarenko M. Mutation changeability under the action of Triton-305X for winter wheat varieties. *Наукові основи адаптивного землеробства* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. з нагоди 100-річчя від дня народження д-ра с.-г. наук, проф., акад. Федора Трохимовича Моргуна, 90-річчя Агрономічного ф-ту Дніпровського держ. аграр.-екон. ун-ту та Міжнар. дня здоров'я рослин (м. Дніпро, 16-17 трав. 2024 р.) / МОН України ; ДДАЕУ. Дніпро : ДДАЕУ, 2024. С. 255–257. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

10. Бейко В. С., Назаренко М. М. Спадкова мінливість у пшениці озимої за дії Тритон-305X. *Хімія, біотехнологія, екологія та освіта* : зб. матеріалів VIII

Міжнар. науково-практ. інтернет-конф. (м. Полтава, 15-16 травня 2024 року).
Полтава, 2024. С. 191–195. *(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ.....	15
ВСТУП.....	16
РОЗДІЛ 1. ЕКОЛОГО-ГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ ВИКОРИСТАННЯ МУТАГЕННИХ РЕЧОВИН ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ МІНЛИВОСТІ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ.....	23
1.1. Розвиток уявлень про екогенетичну мінливість	23
1.2. Використання екологічної генетики для створення високопродуктивних та якісних агроценозів	30
1.3. Перспективи використання методів екологічної генетики для сільськогосподарських рослин	38
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ	46
2.1. Характеристика об'єкта досліджень	46
2.2. Тритон Х-305: особливості застосування та функціональні відмінності	47
2.3. Умови виконання досліджень	51
2.4. Методика цитогенетичного аналізу.....	58
2.5. Методики виявлення та обліків змін	60
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ ЕПІМУТАГЕНУ (ТРИТОН Х-305) НА РІСТ ТА РОЗВИТОК РОСЛИН ПЕРШОГО ПОКОЛІННЯ	68
РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ ДІЇ НА КЛІТИННОМУ РІВНІ	98
РОЗДІЛ 5. ЧАСТОТА ТА СПЕКТР ЗМІН ПІСЛЯ ДІЇ В НАСТУПНИХ ПОКОЛІННЯХ.....	128
5.1. Рівень мінливості сімей у поколіннях M_2 — M_3	128
5.2. Спектр спадкових змін у поколіннях M_2 — M_3	138
5.3. Оцінка продуктивності та якості агроценозів на основі створеного матеріалу.....	146
ВИСНОВКИ.....	158
РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	160
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	161

ДОДАТКИ..... 184

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ

ГТК – гідротермічний коефіцієнт

ДДАЕУ – Дніпровський державний аграрно-економічний університет

ДУ ІЗК НААН України – Державна Установа «Інститут зернових культур»

НААН України

ІНРА (INRA) – Національний інститут досліджень в агрономії (Франція)

ННЦ – навчально-науковий центр

ТХ-305 – Тритон Х-305

МТЗ – маса тисячі зерен

ВСТУП

Актуальність теми. Зміни агрокліматичних умов і вимог ринку скорочують термін життя нових сортів пшениці, що зумовлює необхідність використання різноманітного вихідного матеріалу з цінними господарськими ознаками. Основна увага селекціонерів спрямована на підвищення маси зерна в колосі. Потенційна врожайність м'якої пшениці досягає 10-12 т/га, а подальший прогрес залежить від створення високоінтенсивних сортів, здатних ефективно використовувати агротехнічні ресурси.

Продуктивність сорту визначається такими ознаками, як продуктивна кустистість, кількість і маса зерен у колосі. Успішна селекція можлива за наявності різноманітного генетично вивченого вихідного матеріалу й нових підходів для розширення мінливості. Хоча основним джерелом є світова колекція, також важливу роль відіграють методи індукції стабільних змін, зокрема використання хімічних епімутагенів, наприклад 5-азацитидину, що викликає спадкові зміни морфологічних ознак.

Індукція спадкової мінливості рослин може відбуватися під впливом різних факторів, таких як зміни температури, вологості або співвідношення компонентів живлення. Це свідчить про наявність механізмів, які дозволяють організмам реагувати на стреси зовнішнього середовища. Індуковані морфологічні зміни зазвичай супроводжуються трансформаціями геному, такими як метилування ДНК, ацетилювання гістонів, зміни в структурній організації локусів і характері повторів у геномі.

Одним з перспективних підходів є дослідження впливу індукторів, зокрема Тритона X-100, який змінює стан ядерних мембран і викликає спадкові морфологічні зміни. У м'якої пшениці такі зміни в колоску зберігалися протягом п'яти поколінь, що робить отримані лінії цінними для теоретичних і практичних досліджень. Це підкреслює важливість подальшого вдосконалення методів аналізу ДНК окремих генів і вивчення молекулярних основ такої мінливості.

Озима пшениця залишається пріоритетною культурою для регіонів із нестабільними агрокліматичними умовами. Проблеми своєчасного зволоження

та нестабільності температурного режиму спричиняють значні коливання врожайності, що підкреслює необхідність створення нової зародкової плазми для генетичного вдосконалення культур.

Застосування епімутагенів на різноманітному екологічному та географічному матеріалі відкриває перспективи для отримання цінних малих мутацій у певних генотипах. Епімутації можуть забезпечити приховані комплексні зміни, які здатні підвищити біохімічну цінність злаків без негативних кореляцій. Це особливо важливо для поліпшення харчової якості пшениці, яка часто не відповідає потребам населення.

Епімутагенна дія зі спадкуванням змін привертає увагу завдяки своїй високій специфічності до вихідного матеріалу та здатності викликати полігенні малі мутації, переважно біохімічного характеру. Ця особливість відкриває нові перспективи для генетичного поліпшення пшениці, які менш характерні для інших методів селекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на кафедрі селекції і насінництва Дніпровського державного аграрно-економічного університету в рамках наукових тем: «Використання індукованого біорізноманіття та формотворчого процесу» (номер державної реєстрації 0120U104321), грантової тематики «Winter wheat variability by grain productivity and quality under local conditions of Ukrainian North Steppe», «Evaluation and improvement of cereal grain quality by nutrient value» AgriSciences Platform (Czech University of Life Sciences Prague – CZU).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є виявити особливості дії епімутагенних чинників з поліфункціональною групою.

Для досягнення цієї мети вирішували такі завдання:

- виявити особливості прояву епімутагенної депресії залежно від генотипу, природи та кількості мутагенного чинника;
- визначити специфічність дії епімутагенних чинників на клітинному рівні та встановити її зв'язок із проявами на рівні рослинного організму;

- встановити частоту і спектр змін, а також особливості їх виникнення залежно від об'єкта епімутагенної дії, природи епімутагенного чинника та його дози або концентрації;
- виявити закономірності прояву позитивних змін за продуктивністю та іншими селекційно-цінними ознаками;
- встановити ефективність епімутагенного чинника та його концентрацій в індукції змін залежно від генотипу вихідної форми;
- розробити методи оцінки мутантного матеріалу за окремими цінними ознаками, такими як якість та стійкість до абіотичних стресів.

Об'єкт дослідження – взаємодія рослини та епімутагенного чинника.

Предмет дослідження – показники депресії та частоти хромосомних аберацій у першому поколінні після епімутагенної дії, які є важливими для оцінки ефективності та стабільності змін, що викликаються епімутагенним впливом; частота та спектри спадкових змін у другому та наступних поколіннях, які є ключовими для розуміння стабільності й спадковості індукованих змін; виникнення нових контактних селекційно- та генетично цінних мутантних ліній є важливою метою дослідження, мінливість окремих сортів та ознак залежно від природи, дози чи концентрації епімутагенного чинника дає можливість вивчити, як різні рівні впливу мутагенів змінюють фенотипові та генотипові характеристики.

Методи дослідження – польовий дослід, математико-статистичний аналіз, біохімічні аналізи, фенологічні дослідження та біометричні обстеження протягом сезону вегетації, облік врожайності, аналіз її структури, аналіз вмісту цінних речовин, оцінка суттєвої різниці середніх значень вибірок за попарного порівняння тестом Тьюкі, факторний, кластерний та дискримінантний аналіз.

Наукова новизна одержаних результатів. За результатами наукових досліджень на аутоекологічному та ценотичному рівнях *вперше*:

- доведено ефективність використання Тритона-305Х як епімутагенного чинника, який здатний викликати суттєву спадкову мінливість

на рівні хімічних супермутагенів;

- показано суттєво вищі ліміти екогенетичної та фізіологічної токсичності епігенетичного чинника в програмах з генетичного поліпшення пшениці з урахуванням рівня мінливості;

- встановлено ширшу варіацію на відповідному рівні екогенетичної мінливості, ніж зіставних за дією традиційних мутагенів;

- визначено частоти виникнення нових спадкових змін залежно від системи генотип – концентрація – природа чинника;

- визначено прогностичні елементи в характері ефектів епігенетичної дії, які дозволяють прогнозувати її ефекти з позиції спадкової мінливості;

удосконалено:

- методи оцінки цитогенетичної активності за епігенетичної дії та її надійність;

- модельність ефектів депресії за дії епігенетичного чинника з поширенням на нові ознаки онтогенезу;

- способи поліпшення формотворчого процесу через речовини з підвищенням функціональності діючої групи;

набули подальшого розвитку:

- способи оптимізації концентрацій екогенетичних чинників для стабільно високого формотворчого процесу в генетичному поліпшенні пшениці м'якої;

- методики оцінки ефективності епігенетичних чинників у парадигмі експериментального мутагенезу за стандартними протоколами відповідних досліджень для отримання високої прогностичності та модельності окремих типів змін залежно від особливостей системи чинник-сорт.

Практичне значення здобутих результатів. Встановлено закономірності дії Тритона-305X як екогенетичного чинника в популяції рослин пшениці озимої першого покоління, вплив його на параметри онтогенезу, особливості прояву депресійних та стимуляційних ефектів. Встановлено параметри цитогенетичної

активності, які були ключовими моментами для аналізу впливу концентрації, їх відносна вагомість та модельність для вихідного матеріалу, залежність від генотипу суб'єкта дії епігенетичного чинника. Показано більш низьку активність у індукції видимих мутацій, ніж для дії слабих класичних хімічних супермутагенів як алкілувальних агентів, причому дія його спрямована на користь менш масштабних змін, але спектр дії більш широкий. Характеристикою дії є виникнення менш різких змін та індукція невеликої, але регулярної кількості форм, які мають потенційну господарську цінність. Доведено доцільність використання епімутагену в концентраціях 0,1 % та 0,5 %, успішність в індукції ранньостиглих низькорослих форм з довгим колосом, поліпшеними порівняно з вихідною формою врожайними якостями, показниками вмісту білка та цінних компонентів запасних білків пшениці. Як вихідний матеріал варто використовувати сорти Співанка, Altigo, Flamenko.

На основі лінії 30 (сорт Співанка, ТХ-305 0,5 %), яка є високопродуктивною, ліній 211 (сорт Altigo, ТХ-305 0,5 %) та 212 (сорт Flamenko, ТХ-305 0,1 %), які є джерелами білка високої якості й мають задовільну врожайність, можливе створення стабільних продуктивних агроценозів пшениці озимої з високою зерновою якістю.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційне дослідження є самостійною науковою роботою здобувача. У процесі його виконання автором особисто визначено генеральну послідовність виконання досліджень, сформульовано нульову гіпотезу, сплановано основні етапи дослідної роботи, розроблено схему польового експерименту та обрано методи виконання експериментальних завдань. Польові та лабораторні дослідження, математико-статистичний аналіз отриманих даних, а також узагальнення та інтерпретацію результатів польових і лабораторних дослідів виконано здобувачем самостійно або за його безпосередньої участі у співпраці зі співробітниками Дніпровського державного аграрно-економічного університету (ДДАЕУ).

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дисертаційного дослідження обговорювалися на Всеукраїнській науково-

практичній конференції здобувачів, молодих учених та спеціалістів (Харків, 3 грудня 2021 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Селекція агрокультур в умовах змін клімату: напрями та пріоритети» (Одеса, 2022 р.); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій ювілейним датам від дня народження видатних вчених-фітопатологів докторів біологічних наук, професорів В. К. Пантелєєва та М. М. Родігіна «Захист і карантин рослин у XXI столітті: проблеми і перспективи» (Харків, 20–21 жовтня 2022 р.); VI Міжнародній науково-практичній конференції «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур» (Дніпро, 16–17 листопада 2022 р.); VII Міжнародній науково-практичній конференції «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур» (Дніпро, 21–22 листопада 2023 р.); Міжнародній науково-практичній конференції з нагоди 100-річчя від дня народження доктора сільськогосподарських наук, професора, академіка Федора Трохимовича Моргуна, 90-річчя агрономічного факультету Дніпровського державного аграрно-економічного університету та Міжнародного дня здоров'я рослин (Дніпро, 16-17 травня 2024 року); Міжнародній науково-практичній конференції «хімія, біотехнологія, екологія та освіта» (Полтава, 15-16 травня 2024 року).

Матеріали дисертаційного дослідження обговорювали на щорічних конференціях професорсько-викладацького складу кафедри селекції і насінництва ДДАЕУ, агрономічного факультету ДДАЕУ, під час регулярних звітів за кожне півріччя та рік згідно з індивідуальним планом на засіданнях кафедри селекції і насінництва ДДАЕУ.

Публікації. Результати дисертаційного дослідження опубліковано у 8 наукових працях, зокрема 2 статті в наукових фахових виданнях України, 1 стаття в наукових періодичних виданнях, внесених до міжнародних наукометричних баз даних Scopus та Web of Science (Q4), 7 тез доповідей конференцій.

Структура дисертації. Загальний обсяг дисертаційної роботи – 194 сторінок, зокрема основного тексту – 144 с. Робота ілюстрована 29 таблицями, 18 рисунками і складається зі вступу, 5 розділів, висновків, рекомендацій виробництву, списку використаних джерел, який налічує 187 найменувань, з них 132 – латиницею, та 2 додатків.

РОЗДІЛ 1

ЕКОЛОГО-ГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ ВИКОРИСТАННЯ МУТАГЕННИХ РЕЧОВИН ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ МІНЛИВОСТІ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ

1.1. Розвиток уявлень про екогенетичну мінливість

Перші наукові дослідження мутаційних процесів у рослин виконав Уго де Фріз, засновник теорії мутагенезу. Він увів термін «мутація», описуючи її як спадкові зміни, що не є результатом рекомбіногенезу. Мутації характеризувалися значними змінами, які перевищували поступові мікроеволюційні процеси. У той час їх ідентифікували лише візуально, на рівні фенотипу, вважаючи явище нерегулярним [1, 6].

Сучасне розуміння мутацій пов'язує їх із порушеннями структури ДНК. Основними причинами спонтанного мутагенезу вважаються помилки під час репарації ДНК та геномна мобільність у культурних рослин, тоді як інші фактори мають рідкісний характер [7].

Наукове обґрунтування мутаційного процесу як методу регулярного поліпшення рослин викладено в праці «Mutationszichtung» (1944). У ній висвітлено можливість підвищення продуктивності сортів і гібридів шляхом використання штучних мутагенних чинників, зокрема фізичного характеру, поряд із традиційними методами гібридизації. У праці також наголошено на важливості спеціальних селекційних досліджень, базованих на радіобіологічних проєктах [14].

Отриманий мутантний матеріал класифікується за міжнародною системою на три групи:

1. Мутантно-рекомбінантні сорти – гібридний матеріал, що під час гібридизації зазнав мутагенної дії, яка підсилила рекомбінантний процес і відіграла синергетичну роль.

2. Гібридо-мутантні популяції – генотипи, отримані від схрещування мутантних форм або за умови, що один із компонентів має мутантне походження. Ці популяції мали значний вплив під час «зеленої революції».

3. Лінійні популяції з мутагенною дією – матеріал, що зазнав мутацій незалежно від природи та суб'єкта мутагенного чинника [44, 45].

Еколого-генетичний підхід у мутагенезі передбачає комплексні дослідження, починаючи з реєстрації радіобіологічних ефектів мутагенного чинника, ідентифікації ДНК-порушень на молекулярному рівні, і до визначення зв'язку фенологічної варіативності з ДНК-змiнами, пошуку варіацій і меж їхньої проявленості в ознаках або групах ознак. Сучасна екологічна генетика орієнтована переважно на такі дослідження [9].

Пік активності класичної мутаційної селекції припадає на 60-90-ті роки ХХ століття, коли було створено найбільшу кількість мутантних сортів для сільського господарства. Однак із впровадженням генетичної трансформації та методів маніпуляції геномом інтерес до мутаційного процесу знизився, а обсяги відповідних досліджень суттєво скоротилися. Підходи із доббором матеріалу лише на фенотипічному рівні або виключно за біохімічними методами почали вважатися застарілими й недостатньо науково обґрунтованими [12, 13].

На початку ХХІ століття розвиток рослинництва ознаменувався інтеграцією мутаційного процесу з методами зворотної генетики. Цей підхід потребує створення великих популяцій з високою генетичною мінливістю для аналізу значної кількості молекулярних варіантів у ДНК та їхніх асоціаціях. Завдяки глибшому розумінню механізмів виникнення мутацій (через трансформацію та спадкові зміни в ДНК) індукція біорізноманіття трансформувалася з випадкового процесу у високоточну методику [47].

Ключовим досягненням «зеленої революції» стала короткостебловість, що мала мутаційну природу (сорт Норін 10, Краснодарський карлик). Ця ознака сформувала новий сортотип з модифікованою архітектурою пагона, який сприяв зменшенню вегетативної маси на користь генеративної частини – зерна. У

результаті вдалося створити агроценози з урожайністю на 40–60 % вищою порівняно з попередніми сортами.

Короткостебловість виявилася високоймовірною ознакою в програмах мутаційної селекції, займаючи третє місце серед найбільш частих візуально ідентифікованих змін. Це полегшує створення нових короткостеблових форм для різних сільськогосподарських культур з метою підвищення виробництва зерна [170, 171].

Інші високоймовірні зміни, такі як хлорофільні мутації (зміни кольору листя) та чоловіча стерильність, набули застосування в гібридному насінництві широкого спектра зернових культур. Ці зміни значно сприяли розвитку сільськогосподарських технологій і підвищенню продуктивності культур [46].

Для параметрів із низькою потенційною мінливістю більш ефективними є підходи, що передбачають:

- безпосередню маніпуляцію на молекулярно-генетичному рівні, зокрема генетичну трансформацію або редагування геному за допомогою CRISPR/Cas-систем. Ці методи дозволяють точно й цілеспрямовано змінювати послідовності ДНК, зокрема у випадках, коли традиційні методи мутагенезу не дають очікуваних результатів;

- інсерційний мутагенез – особливо ефективний для організмів із невеликими розмірами геному. Цей метод дозволяє вносити специфічні вставки в ДНК для порушення функції певних генів, що може виявити їхній вплив на фенотип [48, 49];

Такі технології значно розширюють можливості дослідження та поліпшення генетичних характеристик організмів, особливо в аспекті точного регулювання генетичних ознак із низьким рівнем природної мінливості.

Можливість ідентифікації локусів кількісних ознак та відповідних біохімічних продуктів або їхніх груп відкриває шлях до точного генотипування матеріалу з природного чи штучного біорізноманіття злакових культур. Використання екофізіологічного підходу, рекомендованого європейською

класифікацією, дозволяє аналізувати біорізноманіття на молекулярно-генетичному рівні [174].

ДНК-картування та встановлення генетичного контролю на молекулярному рівні дають можливість прогнозувати фенотипову мінливість рослинних популяцій, спираючись на зміни на елементарному рівні. Однак широке впровадження геномної селекції гальмує брак даних про всі можливі варіації зародкової плазми навіть у межах окремих генетичних баз, а також недостатня кількість фенологічних спостережень, необхідних для точного аналізу фенотипового прояву ознак [173, 177].

Для екологічної генетики в контексті штучного мутаційного процесу важливими є полігенні комплекси цінних ознак із стабільними характеристиками, які забезпечують: зернову продуктивність, технологічні якості зерна, стійкість до біо- та абіотичних стресів, ефективне використання ресурсних і енергетичних дотацій [50].

Особливо актуальні ці дослідження в умовах глобальних змін клімату, що потребують нових підходів до адаптації злакових культур. Основною проблемою залишається встановлення зв'язків між генетичним контролем ознаки та її фенотиповим проявом, що є ключовим завданням сучасних еколого-генетичних експериментів [51, 167].

Дослідження в галузі мутагенезу спрямовані на створення та аналіз мутацій у геномі для розуміння фенотипової різноманітності та її генетичних основ. Процес виявлення та підтвердження мутацій містить дві ключові стадії:

1. Скринінг мутацій – безпосереднє спостереження за великою мутаційною популяцією з метою ідентифікації організмів із мутантним фенотипом. На цій стадії важливо виділити потенційні мутації шляхом порівняння з контрольними зразками.

2. Підтвердження мутаційної природи змін – глибше дослідження, яке передбачає:

Аналіз успадкування ознак у наступних поколіннях для підтвердження стабільності змін. Дослідження структури ДНК методом секвенування для виявлення специфічних змін у геномі.

Другий етап, що базується на методах зворотної генетики, дає змогу підтверджувати мутаційний характер змін, встановлювати зв'язок між змінами в ДНК та фенотиповими проявами, а також вивчати механізми успадкування ознак.

Сучасні дослідження в мутагенезі фокусуються переважно на другій стадії. Використовуючи передові молекулярно-генетичні методи, вони спрямовані: на глибше розуміння впливу генетичних змін на фенотип, практичне використання здобутих знань для створення нових генотипів із цінними характеристиками [56, 181].

Ці дослідження мають важливе значення як для вирішення прикладних завдань у селекції, так і для розвитку теоретичних засад генетики та геноміки.

Відомо, що зміни агрокліматичних умов і стрімкі зміни вимог ринку призводять до постійного скорочення терміну життя нових сортів. У таких умовах селекція пшениці, як і будь-якої іншої сільськогосподарської культури, гостро потребує різноманітного вихідного матеріалу, що має комплекс цінних господарсько-біологічних ознак. Основна увага селекціонерів у процесі створення нових сортів пшениці звернена на підвищення маси зерна в колосі. Згідно з літературними даними, потенційна врожайність м'якої пшениці досягла досить високого рівня – 10-12 т/га [108, 179, 180].

Подальше підвищення врожайності пов'язують зі створенням високоінтенсивних сортів, здатних відповідати великими надбавками врожаю на додаткові вкладення в агротехніку. Продуктивність сорту загалом визначається низкою ознак: продуктивною кущистістю, кількістю колосків у колосі, кількістю зерен у колосі, масою 1000 зерен, продуктивністю головного колоса та рослини в цілому. Кожна ознака робить певний внесок у формування продуктивності рослини. Успіх селекції забезпечується наявністю різноманітного вихідного матеріалу, його генетичною вивченістю та використанням нових підходів, що

дають змогу розширювати мінливість обраної культури та виявляти перспективні селекційні форми [178, 182].

Хоча основним джерелом вихідного матеріалу найчастіше є світова колекція, існує гостра необхідність розробки різноманітних методів індукції стабільних змін важливих ознак, що визначають врожайність [175].

Відомо, що стабільні успадковані зміни рослин можуть бути отримані завдяки впливу різних хімічних речовин, зокрема епімутагенів. Наприклад, 5-азацитидин, що викликає деметилювання залишків цитозину в молекулі ДНК і активування раніше неактивних генів, призводить до успадкованої зміни багатьох морфологічних ознак [169, 172].

Обробка рослин ярої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Казахстанська-126 розчинами нікотинової кислоти привела до виникнення форми пшениці Генотроф-1 із зміненими морфологічними ознаками, з підвищеною життєздатністю, більшою стійкістю до екстремальних впливів навколишнього середовища порівняно з вихідним сортом. Показано, що ці зміни зберігалися протягом 57 поколінь, на цей час отримано 65-те покоління.

Спадкові зміни можуть бути викликані також зміною співвідношення компонентів живлення рослин. Різка зміна мінерального харчування проростків різних ліній льону викликає появу потужних високорослих рослин, у яких були збільшені маса й розмір насіння, характер опушення листя; зміни виявилися успадкованими. Різноманітність факторів, що дають змогу отримувати спадкові зміни, свідчить про безліч шляхів впливу навколишнього середовища на рослини та безліч механізмів відповіді рослин на ці впливи [105, 106].

Ці дані стали основою пошуку нових способів на геном пшениці. Теоретичним обґрунтуванням для представленого нового підходу стали результати досліджень, що свідчать про значну роль ядерної мембрани в структурно-функціональній організації геному еукаріотів.

У зв'язку з цим як речовина, що викликає зміни в структурі геному, був обраний Тритон Х-305 (далі ТХ-305, Merck KGaA, Дармштадт, Німеччина), здатний відокремлювати білки та нуклеопротейди від мембран [104, 109].

Дослідження, виконані на пшениці, показали ефективність як епімутагену. Так, було продемонстровано, що обробка рослин пшениці на стадії проростання насіння й на стадії початку колосіння призводить до різноманітних змін структури колоса, і ці зміни передаються в наступні покоління.

Вплив TX-100 на цукрові буряки призводив з високою частотою до зміни морфології кореня та листя, ознаки «стерильність-фертильність» пилку, динаміки проростання. У потомстві, отриманому від саморепродукції оброблених за допомогою TX-100 рослин цукрових буряків, виявлено порушення експресії ферментного локусу, що контролює глюкозофосфатизомеразу (OP12): у спектрі OP12 спостерігалася поява ізоферментів з епігенетично зміненою електрофоретичною рухливістю. Ці дані свідчать про те, що в основі цих морфологічних змін цілком імовірно лежать зміни в організації рослинного геному [101, 102].

Наявність в тих самих лініях пшениці змін як морфологічних ознак, так і ПЛР-профілів ферментних локусів дає змогу припустити, що основою всіх цих змін є одні й самі процеси лише на рівні організації хромосом. Наслідування викликаних епімутагеном морфологічних та морфофізіологічних змін протягом шести поколінь підтверджує, що ядерна мембрана бере участь у передачі спадкової інформації та несе на собі ділянки, стан яких відтворюється за клітинних поділів, що є основою для передачі індукованих змін як у клітинних, так і в статевих поколіннях. З практичної позиції висока частота епігенетичних змін, що індукуються, є важливою. Якщо звичайні мутаційні події відбуваються із частотою порядку 10^{-6} - 10^{-5} , то для епігенетичних змін характерна частота в кілька відсотків. Висока частота змін та їх стабільність у ряді наступних поколінь є основою отримання спадкових змін у рослин, які можуть бути вихідним матеріалом як для фундаментальних досліджень, так і для селекції [52, 53, 55].

1.2. Використання екологічної генетики для створення високопродуктивних та якісних агроценозів

Важливим моментом у вивченні спадкової мінливості є індукція змін за допомогою різних впливів. Відомо, що спадкові зміни в рослинах можуть бути викликані, наприклад, зміною температури або вологості, а також зміною співвідношення компонентів живлення. Це дозволяє припустити наявність великої кількості механізмів, за допомогою яких організм реагує на стреси зовнішнього середовища. Відомо, що індуковані морфологічні зміни пов'язані з тією чи іншою трансформацією в геномі рослин, наприклад з метилюванням ДНК або ацетилюванням гістонів. Дуже часто ці зміни викликані появою ітерацій у різних ділянках геному, їхнім розміром і відсотковим вмістом у геномі, а також з характером розподілу сайтів високого та малого копіювання в межах геному. Проте внесок у трансформацію геному можуть зробити навіть зміни в структурній організації солітарних локусів. Тому для кращого розуміння загальних закономірностей, що покладені в основу реакцій рослинних організмів на стреси зовнішнього середовища, необхідно розширити пошук індукторів мінливості та вдосконалити методи аналізу ДНК окремих генів [176, 183].

Відомо, що хромосоми пов'язані з ядерною мембраною й цей зв'язок відіграє велику роль у функціонуванні генів. Раніше повідомляли, що Тритон Х-100, впливаючи на стан мембран і пов'язаних з ними білків, викликав спадкові зміни морфологічних ознак у рослин м'якої пшениці та цукрових буряків. У рослин м'якої пшениці індуковані зміни морфології колоска успадковуються протягом п'яти поколінь. Така стабільність змінених ознак викликає інтерес до отриманих ліній м'якої пшениці з практичної та теоретичної позиції та зумовлює необхідність дослідження молекулярних основ такої мінливості [103, 107].

Для дослідження структури ДНК зручний модифікований метод ISSR-ампліфікації, де в парі з праймером гена специфічного ізоферменту використовується мікросателіт. За допомогою цього методу було показано відмінності між рослинами, що несуть однаковий алель ізоферментного локусу,

а також виявлено відмінності в структурі маркерного ізоферментного локусу, що проявляється в різних тканинах однієї рослини [19].

Показано відмінності ПЛР-профілів ізоферментних локусів генотрофів м'якої пшениці, отриманих за допомогою різних епімутагенів, зокрема нікотинової кислоти. Природні епімутагени діють більш специфічно, викликаючи появу певних смуг у ПЛР-профілях досліджуваних генів. Водночас у разі застосування штучних епімутагенів такої чіткої залежності не виявлено. Цей підхід також ефективний для вивчення механізму мінливості м'якої пшениці при обробці Triton X-100. Саме цей підхід ліг в основу експресії ізоферментних локусів та особливостей структур ДНК у вихідній формі та отриманих з неї ліній м'якої пшениці за обробки поверхнево-активної речовини Triton X-100 [185, 187].

Ферменти-маркери, використані в дослідженні, відрізнялися за своїми функціями. Так, алкогольдегідрогеназа є ферментом, який бере участь в анаеробному гліколізі й міститься в розчинній фракції цитоплазми. Водночас яблучний фермент бере участь у взаємоперетворенні яблучної та піровиноградної кислот і пов'язаний з органелами клітини. Здобуті дані підтверджують висновок про те, що різні за своєю функцією локуси, які контролюють ферменти, реагують на вплив однаково. У ПЛР-профілях цих локусів з'являються або зникають окремі смуги [112, 113].

Наведені дані демонструють суттєві зміни ПЛР-профілів локусів ферментів у ліній м'якої пшениці внаслідок обробки детергентом Тритон Х-100. Можна припустити, що подібні процеси можуть відбуватися і в локусах, що контролюють морфологічні ознаки. Це припущення підтверджується виявленням спадкових змін морфологічних ознак у лінії 99-19, отриманих після обробки сорту Алем 0,1 % розчином Тритона Х-100. Наявність в одній і тій самій лінії змін як морфологічних ознак, так і ПЛР-профілів локусів ферментів дає змогу припустити, що в їх основі лежать подібні процеси, де значну роль відіграє ДНК. ДНК-взаємодія з ядерною мембраною [54, 63].

Зміни ПЛР-профілів локусів ферментів у разі обробки Тритоном Х-100 вказують на зміни в організації ДНК. Це може свідчити про значну роль зв'язку між хроматином і ядерною мембраною в структурно-функціональній організації геному.

Вплив Тритон Х-100 (ТХ-100), неіоногенної поверхнево-активної речовини, на рослини викликає молекулярні зміни, зокрема на рівні ферментних локусів. Дослідження виявили значні відмінності в ПЛР-профілях ферментних локусів у рослин пшениці та цукрових буряків, оброблених ТХ-100, порівняно з контрольними групами. Для аналізу використовувалася модифікована методика ISSR-ампліфікації (Inter-Simple Sequence Repeat), що базується на ампліфікації ділянок ДНК між мікросателітними послідовностями. Така комбінація спрощує ПЛР-профілі, зосереджуючи аналіз на змінах цільового локусу [115, 186].

Виявлення внутрішньоалельного поліморфізму локусу *Adh1* в агамоспермних потомствах цукрових буряків. Виявлення відмінностей між ПЛР-профілями локусу *Adh1* у контрольних та оброблених рослин цукрових буряків. Біологічний вплив ТХ-100: уповільнення проростання насіння, зміна білкових профілів проростків. Вплив на динаміку ПЛР-профілів, отриманих із сумарної ДНК проростків. Аналіз ПЛР-профілів ферментних генів у процесі проростання насіння цукрових буряків [140, 184].

Особливу увагу приділено дослідженню експресії цих генів у непророслому насінні. Виконання таких досліджень дозволяє глибше зрозуміти механізм дії ТХ-100 на молекулярному рівні, виявити генетичні зміни, викликані обробкою, та їхній вплив на фізіологічні процеси, зокрема проростання та розвиток рослин.

Для культур, які були новими для сільськогосподарського використання або мали обмежений досвід генетичного поліпшення через селекцію, було досягнуто значного прогресу за короткий період часу. Одним із важливих досягнень стало створення напівкарликових сортів для злакових та інших культур [60, 136, 137].

Напівкарликові сорти характеризуються скороченою довжиною стебла, що дозволяє рослинам ефективніше використовувати енергію для формування господарсько-важливих частин, таких як зерно чи плоди. Таке скорочення вегетативного росту знижує ризик вилягання рослин і сприяє збільшенню врожайності [59, 110].

Крім того, така зміна сприяла підвищенню коефіцієнта господарського використання ресурсів, що забезпечило не лише поліпшення врожайності, але й підвищення ефективності вирощування культур у різних агрокліматичних умовах. Зокрема, ця технологія стала ключовою у впровадженні «зеленої революції», особливо для таких культур, як рис і пшениця [118, 134].

Створення нових напівкарликових мутантів для культур, які впроваджуються в сільськогосподарське виробництво, виявилось відносно простим завданням завдяки їхній високій частоті виникнення та можливості швидкої індукції. Такі мутації сприяли вдосконаленню архітектури рослин, зменшенню витрат енергії на вегетативний ріст і збільшенню врожайності. Це робило напівкарликові мутанти особливо цінними для розвитку нових високопродуктивних сільськогосподарських сортів [119, 122, 123].

Окрім цього, висока частота мутацій за такими ознаками, як колір листя та чоловіча стерильність, також забезпечує можливість їх штучної індукції. Ці мутації широко використовуються в селекції для поліпшення властивостей рослин і підвищення ефективності виробництва. Таким чином, мутаційна селекція, що базується на таких мутаціях, стала ключовим інструментом у поліпшенні характеристик багатьох сільськогосподарських культур [117, 141].

Для ознак із низькою частотою виникнення мутацій застосовують більш ефективні методи скринінгу, які часто поєднують із молекулярною ідентифікацією мутацій. Це дозволяє виконувати точний і швидкий аналіз змін у геномі, включаючи навіть дрібні варіації. Такий підхід забезпечує виявлення рідкісних мутацій, які можуть мати велике значення для селекції та розробки нових сортів [121, 135].

Використання мутантів, викликаних T-ДНК інсерціями та транспозонами, стало одним із ключових підходів у встановленні зв'язку між генотипом і фенотипом. Трансгенні інсерції, такі як T-ДНК і транспозони, можуть змінювати функції генів і їхню експресію, що призводить до фенотипічних змін. Дослідження таких мутантів дозволяє безпосередньо пов'язати генетичні порушення зі зміненими ознаками або фенотипами. Це відкриває можливості для глибшого розуміння молекулярних механізмів, які лежать в основі фізіологічних і біологічних процесів у рослин і тварин [51].

Цей підхід є основою зворотної генетики ("reverse genetics"), яка протилежна традиційній класичній генетиці ("forward genetics"). У зворотній генетиці дослідження починається зі змін у конкретному гені чи його функції, після чого аналізується вплив цих змін на певні фенотипи.

Однак метод має свої обмеження. Багато мутантів, отриманих за допомогою T-ДНК інсерцій, можуть проявляти плейотропний ефект (впливати на кілька ознак одночасно) або демонструвати надекспресію гена, коли T-ДНК посилює його активність, вбудовуючись у фланкуючі послідовності [62]. Це значно ускладнює аналіз конкретного впливу зміненої послідовності на фенотип.

Додатковою перешкодою є те, що багато культурних рослин складно піддаються генетичній трансформації, що обмежує використання цього методу для таких видів. Через ці фактори застосування T-ДНК-інсерційного та транспозонного мутагенезу у функціональній геноміці має обмеження, які необхідно враховувати під час планування й виконання експериментів [111].

Пряма генетика, або класичний підхід, передбачає рух від вивчення ознаки (фенотипу) до ідентифікації відповідального за неї гена. Цей метод широко використовується в селекції, генетиці та геноміці й містить кілька ключових етапів [64, 66]:

Виявлення мутантного фенотипу. На першому етапі ідентифікують ознаку або властивість, яка є об'єктом дослідження. Фенотип може бути будь-якою характеристикою, яка проявляється у досліджуваних організмів, наприклад морфологічною, фізіологічною чи біохімічною.

Картування гена. Після визначення фенотипу здійснюють картування, щоб знайти місце розташування гена, відповідального за цю ознаку. Застосовують різні методи, такі як:

- генетичне картування, яке базується на аналізі рекомбінаційних подій між генами;
- фізичне картування, що використовує фізичні карти геному для точного визначення локусу гена;
- інші методи, такі як аналіз зв'язку або геномне секвенування, які можуть додатково уточнювати місце розташування гена.

Після встановлення локусу виконують повне секвенування гена для визначення послідовності нуклеотидів, структури та функціональних елементів гена [162, 163].

Цей підхід забезпечує детальне розуміння зв'язку між генотипом і фенотипом, що є основою для подальших досліджень і розробок у галузі біотехнологій, медицини та сільського господарства.

Мутанти, отримані під впливом мутагенних чинників, з моменту становлення генетики як науки стали важливими моделями для досліджень. У функціональній геноміці мутантні організми слугують потужним інструментом для вивчення функцій генів та їхньої взаємодії [160]. Завдяки їм учені можуть встановлювати зв'язки між генотипом (структурою генів) і фенотипом (зовнішніми проявами організму), а також з'ясовувати, як окремі гени впливають на специфічні ознаки.

У контексті зворотної генетики мутанти дозволяють розкривати функції окремих генів шляхом цілеспрямованого порушення їхньої структури та подальшого аналізу фенотипічних змін [161]. Це дає можливість дослідити генетичні взаємодії та молекулярні механізми, що лежать в основі життєдіяльності організмів [131, 142, 148].

Метод TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) є високоефективним підходом для систематичного виявлення мутацій у специфічних генах або геномних областях. Основні етапи цього методу такі:

- індукція мутацій. Мутації індукують у популяціях рослин за допомогою хімічних агентів (наприклад, EMS) або іонізуючого випромінювання;
- молекулярний аналіз. Застосовують полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) та секвенування ДНК для виявлення мутацій у цільових генах.
- фенотипічний аналіз. Вплив виявлених мутацій на фенотип рослини аналізується для визначення функції та ролі цих генів у рості, розвитку та адаптації до стресу [114, 116, 135].

Цей метод дозволяє встановлювати зв'язок між генотипом і фенотипом, що є ключовим для створення нових сортів рослин з поліпшеними властивостями. TILLING став важливим інструментом як у фундаментальних дослідженнях, так і в практичній селекції рослин [90, 157, 159].

Прогрес у генотипуванні та секвенуванні ДНК значно розширив можливості дослідження генетичних особливостей організмів. Сучасні платформи для швидкого секвенування, такі як Illumina Genome Analyzer та Applied Biosystem SOLiD system, спрощують і прискорюють отримання геномної інформації [65, 67].

Завдяки цим технологіям можна підвищити швидкість і точність виявлення мутацій, викликаних мутагенними чинниками, оптимізувати індукцію мутацій для вивчення генетичних механізмів, вдосконалювати селекцію рослин і створювати нові культури з поліпшеними властивостями.

Застосування новітніх технологій секвенування в генетиці й функціональній геноміці відкриває нові перспективи для сільськогосподарської науки та практики, забезпечуючи ефективність і точність досліджень [141].

У генетичному поліпшенні рослин важливо враховувати весь комплекс ознак, оскільки це дає змогу точно оцінити кращі сорти чи гібриди, що мають бажані характеристики. Оцінка таких ознак, як врожайність, якість продукції, стійкість до стресових умов і екологічні аспекти, дозволяє створювати більш стійкі та продуктивні сорти рослин. Однак взаємозв'язок між генотипом і фенотипом є складною проблемою в генетиці. Це зумовлено тим, що фенотип

формується під впливом багатьох генетичних і екологічних чинників, а також їх взаємодії [138, 139].

Сучасні методи аналізу геномних і фенотипових даних, а також новітні технології, такі як машинне навчання та штучний інтелект, сприяють вдосконаленню прогнозування фенотипу на основі генотипу та розвитку більш ефективних сортів рослин [21, 23].

Програми для оцінки та ідентифікації фенотипу й фенів стали широко вживаними інструментами для дослідження впливу різноманітних чинників середовища на рослини. Зазвичай такі програми створюють контрольовані умови для вирощування рослин і систематично вимірюють їхні фенотипові ознаки під впливом стресових чинників. У цих програмах використовуються методи вимірювання реакцій рослин на стрес, що не порушують звичайну життєдіяльність організму. Наприклад, вимірюють ріст, розмір листя, вміст хлорофілу, фізіологічні параметри та інші важливі показники [4, 5, 16].

1.3. Перспективи використання методів екологічної генетики для сільськогосподарських рослин

У сучасній науці експериментальний мутагенез набуває все більшого значення, зосереджуючись не лише на дослідженні генетичних ефектів, але й на вивченні епігенетичних змін та їхнього впливу на фенотип організму. Епігенетичні зміни відбуваються без модифікації послідовності нуклеотидів у геномі й охоплюють такі механізми, як метилювання ДНК, модифікація гістонів і взаємодія з некодуючими РНК. Ці процеси здатні суттєво впливати на експресію генів і визначати фенотип організму [129, 132].

Епігенетичні зміни можуть бути спричинені різними чинниками навколишнього середовища, такими як вплив хімічних речовин, радіація, стрес, харчування тощо [83, 155]. Їхнє вивчення відкриває нові перспективи для розуміння механізмів спадковості, а також розвитку і прогресування різноманітних захворювань [130].

Завдяки активному дослідженню епігенетичних ефектів зростає інтерес до їхнього використання як інструмента для модифікації фенотипу. У цьому контексті експериментальний мутагенез стає важливим засобом для вивчення епігенетичних механізмів і їхнього застосування в біології, медицині та аграрних науках [79, 80].

Індукція штучного біорізноманіття є потужним інструментом у зміні рослинного організму, що дозволяє як вдосконалювати окремі ознаки, так і створювати принципово нові форми з комплексними змінами, які не мають аналогів або позбавлені негативних кореляційних зв'язків з іншими ознаками [71]. Хоча багато змінених ознак мають аналоги серед диких або споріднених форм, їх використання часто ускладнюється через недосконалість методів інтрогресії генів за допомогою класичної селекції [120, 124].

Ключові господарсько важливі ознаки, такі як стійкість до стресових чинників чи висока продуктивність, часто є рецесивними або полігенними за своєю природою [133]. Основні напрями використання мутаційного процесу

передбачають підготовку вихідного матеріалу для класичної селекції, де важливими поліпшеними ознаками є:

короткостебловість,
строки стиглості,
виповненість насіння,
стійкість до шкідливих біологічних та абіотичних чинників,
висока зернова продуктивність,
відмінні технологічні якості зерна (зокрема, вміст білка, клейковини та цінні субодиниці запасних білків) [156].

Іноді вдається досягти комплексних чи синергічних поліпшень, які не лише підвищують цінність окремих характеристик, але й системно посилюють гібридну силу отриманого матеріалу [164].

Другий напрямок досліджень спрямований на усунення негативних кореляцій між позитивними господарськими ознаками та небажаними характеристиками, зберігаючи переваги перших [123]. Ці підходи дозволяють вивести нові сорти, що поєднують високу продуктивність зі стійкістю до несприятливих умов і забезпечують значний прогрес у сучасній селекції рослин.

Індуковане біорізноманіття злаків широко застосовується для створення нових комерційних сортів та гібридів. Одним із найбільш ефективних методів є використання гамма-променів, які впливають на геном рослин, спричиняючи мутації. Завдяки цьому методу в сільськогосподарську практику було впроваджено новий інтенсивний сортотип [157].

Застосування мутагенів сприяло отриманню значної кількості мутантів, які виявляли стійкість до хвороб і абіотичних стресових чинників, таких як посуха, засолення чи екстремальні температури [128, 165].

Ці досягнення мали значний вплив на світову сільськогосподарську практику. Завдяки використанню методів індукції мутацій було створено понад 3500 мутантних, мутантно-рекомбінантних і гібридо-мутантних сортів культурних рослин, які демонструють високу продуктивність, стійкість до

несприятливих умов та інші господарсько важливі характеристики, що сприяють підвищенню ефективності сучасного землеробства [158].

На додаток до природних генетичних мутацій, у рослинах успішно індукують нові алелі за допомогою хімічного епімутагенезу. Метою такого підходу є створення генетичної варіації в клітинах, які формують рослину, з одночасною мінімізацією таких небажаних наслідків, як химерність, стерильність або летальність. У багатьох культурах хімічно індукований епімутагенез дозволив створити тисячі варіантів із бажаним фенотипом [166].

Сучасні технології, зокрема високопродуктивне фенотипування та секвенування наступного покоління (NGS), значно пришвидшили процес виявлення мутантів, що мають цінні гени. Додатково використання сконструйованих нуклеаз, таких як CRISPR/Cas-системи, значно підвищило точність створення мутацій завдяки генноспецифічному підходу [153].

Алеломорфне різноманіття, отримане як спонтанним, так і експериментальним шляхом, є важливим джерелом для селекційних програм, спрямованих на впровадження нових сільськогосподарських ознак [159]. Хімічний мутагенез, зокрема, виявився одним із найбільш ефективних і доцільних методів для роботи з великою кількістю видів рослин, даючи змогу створювати генетичні варіанти з унікальними та корисними характеристиками.

Відбір мутантних ознак зазвичай здійснюється в поколінні M2 для самоzapильних рослин, оскільки більшість мутантів є рецесивними, і їхній фенотип стає видимим лише після сегрегації в цьому поколінні. У перехресноzapильних рослин мутантні гени залишаються гетерозиготними до покоління M3. У таких випадках для отримання гомозиготних особин із мутантними генами необхідне подальше самоzapилення, після чого можна застосовувати відбір. Стратегія ауткросингу у видів із перехресним запиленням також включає виведення домінантного алеля в гетерозиготних локусах для прояву рецесивного фенотипу [127].

Тести нащадків є важливими для перевірки всіх мутантних ліній, корисних для селекції, та повторного відбору у поколінні M3. Це необхідно для

підтвердження спадковості ознаки. Для стабілізації потенційно корисного варіанта можуть знадобитися додаткові покоління тестів. Мутантні лінії, навіть якщо вони сегрегують для небажаних ознак, можуть бути відібрані за умови, що вони корисні для вдосконалення генетичного фону бажаного мутанта.

У деяких випадках мутантний фенотип може бути результатом епістатичних взаємодій між кількома локусами. У таких ситуаціях фенотип, що спостерігався в поколінні M2, може не проявлятися в M3. Це може відбуватися, якщо фенотип залежить від гетерозиготності або взаємодій між незалежними локусами, які втрачаються через незалежний асортимент гамет. У таких випадках повернення до покоління M2 і вибір більшої вибірки в M3 може сприяти виявленню мутантного фенотипу та його фіксації [76, 125].

Цей підхід є ключовим для виявлення і стабілізації корисних мутантів, які можуть стати основою для подальшого генетичного поліпшення сільськогосподарських рослин [86, 154].

Сорти та гібриди культурних рослин демонструють більшу чутливість до мутагенних чинників порівняно з їхніми дикими родичами. Це зумовлено вузьким генетичним базисом, який формується в процесі селекції, зосередженої на поліпшенні окремих ознак, таких як врожайність, розмір плодів чи швидкість росту [74]. Така спрямована селекція може знижувати загальну стійкість до стресових умов або впливу мутагенних чинників [126].

Поліплоїдія забезпечує низку переваг, таких як підвищена стійкість до біотичних та абіотичних стресів, адаптація до нових середовищ і розширення ареалів поширення. Поліплоїдні рослини мають більші за розміром та масою плоди й насіння, що сприяє їхньому успішному поширенню і конкурентоспроможності. Згідно з дослідженнями, серед 28 406 видів судинних рослин 9 795 (34,5 %) є поліплоїдними [73]. Поліплоїдія поділяється на алополіплоїдію, автополіплоїдію, анеуплоїдію та гаплоїдію, хоча класифікація цих явищ є предметом дискусій.

Позаядерні геноми, розташовані в хлоропластах і мітохондріях, також мають велике значення для генетичного поліпшення. Мутації в цих геномах

можуть відбуватися спонтанно або бути індукованими за допомогою мутагенів чи трансформації пластид. Успадкування пластидних мутацій здійснюється через цитоплазму материнської форми, тому вони не підпорядковуються менделівським законам спадковості. Такі мутації використовуються для виведення садових культур із новими характеристиками листя або плодів, а також для створення стійкості до грибкових захворювань, толерантності до гербіцидів і цитоплазматичної чоловічої стерильності. Ці ознаки часто успадковуються через цитоплазматичні гени, але їхня експресія може залежати від складної взаємодії ядерної та цитоплазматичної спадковості [72, 152].

Таким чином, як геномні, так і позаядерні мутації відіграють важливу роль у розширенні генетичного різноманіття та поліпшенні характеристик культурних рослин [85, 146].

Загальне виживання обробленої екологічними чинниками популяції є важливим критерієм для оцінки успішності вирощування культурних рослин. Проте цей показник може значно відрізнятись залежно від умов, у яких виконується дослідження. У контрольованих умовах, таких як теплиці або експериментальні поля, середовище зазвичай оптимізується для зниження стресу, що дозволяє максимізувати виживаність рослин після обробки мутагенами [87].

Натомість у реальних польових умовах рослини стикаються з низкою стресових чинників, таких як: дефіцит води, атаки шкідників, хвороби, несприятливі температури, варіабельність ґрунтових характеристик. Вони можуть суттєво впливати на виживання та продуктивність популяції [77, 145].

Порівняння результатів у контрольованих і польових умовах дозволяє краще зрозуміти реальну стійкість культурних рослин до різноманітних стресів. Важливим аспектом такого аналізу є визначення середовищної дисперсії, яка відображає мінливість виживаності рослин у різних умовах. Це сприяє ідентифікації генотипів з підвищеною стійкістю, які можуть стати основою для розробки нових сортів [90].

Комбіноване тестування - поєднання досліджень у контрольованих і польових умовах для об'єктивної оцінки. Стресове моделювання - створення умов, наближених до польових, у теплицях. Генетичний аналіз - визначення генотипів із високою пластичністю та адаптивним потенціалом[144, 151]

Таким чином, врахування екологічної варіативності та реальних умов середовища є ключовим для підвищення ефективності програм селекції та вирощування культурних рослин [88, 149].

Варіабельність у відповіді рослин на обробку епімутагенами є суттєвим аспектом дослідження мутагенезу. Навіть за умови застосування однакових концентрацій мутагенів результати можуть значно відрізнятися через низку факторів, таких як:

- чутливість рослин: різні генотипи та види рослин мають різний рівень чутливості до мутагенних чинників, що впливає на ступінь епігенетичних змін;

- ефективність мутагенезу: процес мутагенезу може варіюватися залежно від типу клітин і тканин, оскільки вони мають різну сприйнятливості до впливу мутагенів [143];

- стадія органогенезу: чутливість до мутагенезу змінюється на різних стадіях розвитку рослин. Наприклад, меристематичні клітини (ті, що активно діляться) можуть демонструвати вищу чутливість порівняно зі зрілими клітинами [89, 150];

- стерильність, викликана мутагенами: ступінь стерильності, яка виникає після обробки, також є варіабельною та може проявлятися нерівномірно як серед рослин однієї популяції, так і всередині однієї рослини. Це ускладнює точну оцінку ефекту обробки та вимагає комплексного підходу [78];

- використання великої кількості репродуктивних частин. Такий підхід забезпечує більш точну й репрезентативну оцінку ефектів епімутагенезу;

- порівняльний аналіз: аналіз відповідей різних генотипів та популяцій дозволяє ідентифікувати більш стійкі чи чутливі форми[147];

- епігенетичні маркери: використання молекулярних методів для оцінки змін у метилюванні ДНК чи інших епігенетичних модифікацій дає змогу уточнити механізми мутагенезу [69, 75].

Варіабельність відповіді на мутагенез є природним наслідком генетичної та клітинної гетерогенності рослин. Для отримання достовірних результатів важливо враховувати ці фактори та застосовувати мультидисциплінарні методи аналізу. Це дає змогу краще зрозуміти механізми впливу мутагенів і сприяти створенню стійких до стресів сортів культурних рослин [68, 70].

Висновки до розділу 1

1. Аналіз літературних джерел, виконаний у цьому розділі, підтверджує актуальність досліджень у галузі епігенетичного впливу та його наслідків для генетичного поліпшення культурних рослин. Виявлені ефекти, які проявляються в першому поколінні, свідчать про здатність епігенетичних змін ініціювати тривалі процеси спадкових модифікацій. Це відкриває перспективи для вивчення генотипмутагенної взаємодії, яка відіграє ключову роль у формуванні нових, стійких до стресових факторів форм.

2. Особливо важливо, що такі епігенетичні ефекти можуть бути як очікуваними, у межах класичного екогенетичного підходу, так і принципово новими. Останні мають велике значення, оскільки раніше не були враховані в дослідженнях, спрямованих на генетичне вдосконалення пшениці озимої та інших культур. Це підкреслює необхідність розширення теоретичних і прикладних підходів у цій сфері, включно з використанням сучасних методів секвенування, епігеноміки та геномного редагування.

3. Результати аналізу літературних джерел підтверджують потенціал епігенетичних досліджень у створенні інноваційних рішень для генетичного поліпшення рослин із підвищеною продуктивністю, стійкістю до абіотичних і біотичних факторів та іншими цінними характеристиками.

4. Аналіз даних показує, що існує певний дефіцит уваги до потенційно шкідливого впливу епігенетичних чинників, що може впливати на ефективність отримання цінних змін у рослинному матеріалі. Необґрунтоване або недостатньо чітке визначення концентрацій чинників, що використовуються для вивчення механізмів епігенетичного контролю ознак, може стати причиною недооцінки їх впливу. Це, зі свого боку, може призвести до ігнорування взаємодії епігенетичних чинників із генотипами вихідного матеріалу, що обмежує можливості створення більш точних і різноманітних протоколів їх застосування.

Основні положення змісту цього розділу викладені в наукових працях:

1. Beiko V., Nazarenko M. Mutation changeability under the action of Triton-305X for winter wheat varieties. *Наукові основи адаптивного землеробства* : матеріали Міжнар. науково-практ. конф. з нагоди 100-річчя від дня народження д-ра с.-г. наук, проф., акад. Федора Трохимовича Моргуна, 90-річчя Агрономічного ф-ту Дніпровського держ. аграр.-екон. ун-ту та Міжнар. дня здоров'я рослин (м. Дніпро, 16-17 трав. 2024 р.) / МОН України ; ДДАЕУ. Дніпро: ДДАЕУ, 2024. С. 255–257.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Характеристика об'єкта досліджень

Об'єктами дослідження були мутантні рослини першого покоління (M_1) – для ідентифікації можливих депресивних ефектів епімутагену, а також рослини другого – п'ятого поколінь ($M_2 - M_5$) – для вивчення частоти та спектра можливих спадкових змін у сортах Flamenko, Lyrik, Courtot, Altigo, Подолянка, Співанка. Також використовували проростки першого покоління для визначення потенційної цитогенетичної мінливості.

Першим принципом використання як об'єктів для екогенетичної дії у дослідженнях щодо ініціального матеріалу була можливість максимально охопити еколого-географічне різноманіття форм, потенційно можливих до застосування у дослідному процесі. Це зумовило необхідність використання вибірок обсягом кількох сот членів для кожного варіанта у традиційній схемі дослідження мінливості під дією чинника. Так, сорти Flamenko, Lyrik, Courtot належать до європейського еко типу, Altigo – до європейського, але створений він згідно з програмою впровадження сортів французької селекції на теренах Східної Європи, а сорти Подолянка, Співанка репрезентовані оригінаторами як придатні до вирощування в будь-якому регіоні, мають універсальні характеристики щодо особливостей онтогенезу, проявляють високу екологічну стабільність та достатню пластичність залежно від умов середовища.

Більш детальна характеристика сортів наведена нижче.

Подолянка. Сорт селекції Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесло НААН України та Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. У Держреєстрі з 2001 року.

Врожайність та зимостійкість високі, морозостійкість висока, стійкий до посухи, має високу стійкість до вилягання, обсіпання, проростання зерна, стікання. Сорт використовується як стандарт екологічної пластичності для всіх зон України, стандарт для переважної більшості науково-дослідних інститутів з селекції пшениці. Середньостиглий, середньорослий, висока стійкість до

ураження борошнистою росою, високостійкий до бурої іржі та фузаріозу. Борошномельні та хлібопекарські показники середні, сильна пшениця.

Різновид лютесценс, колос циліндричний, за щільністю середній, зернівка червона, середня. Форма куща пряма.

Співанка. Сорт селекції Дніпропетровського державного аграрного університету. У Держреєстрі з 2007 року.

Врожайність та зимостійкість вищі середніх, морозостійкість висока, стійкий до посухи, має високу стійкість до вилягання, обсіпання, проростання зерна, стікання. Середньоранній, середньорослий, висока стійкість до ураження борошнистою росою, високостійкий до бурої іржі та фузаріозу, до летючої та твердої сажки. Борошномельні та хлібопекарські показники середні – вищі за середні, сильна пшениця.

Різновид еритроспермум, колос циліндричної форми, середня щільність, зернівка червона, вища середня. Кущ сланкої форми.

Altigo. Сорт селекції фірми Лімагрейн. У Держреєстрі з 2018 року.

Врожайність та зимостійкість високі, морозостійкість висока, стійкий до посухи, має високу стійкість до вилягання, обсіпання, проростання зерна, стікання. Середньоранній, середньорослий, висока стійкість до ураження борошнистою росою, високостійкий до бурої іржі та фузаріозу, до летючої та твердої сажки. Борошномельні та хлібопекарські показники вищі за середні, сильна пшениця.

Різновид еритроспермум, колос циліндричної форми, середня щільність, зернівка червона, вища середня. Кущ напівсланкої форми.

Flamenko. Сорт селекції Національного інституту наукових досліджень в агрономії (Франція). У випробуванні з 2017 року.

Врожайність та зимостійкість середні, морозостійкість середня, стійкий до посухи, має високу стійкість до вилягання, обсіпання, проростання зерна, стікання. Пізньостиглий, низькорослий, висока стійкість до ураження борошнистою росою, високостійкий до бурої іржі та фузаріозу, до летючої та

твердої сажки. Борошномельні та хлібопекарські показники середні – нижчі за середні, цінна пшениця.

Різновид еритроспермум, колос напівциліндричної форми, середня щільність, зернівка червона, вища середня. Кущ прямої форми.

Lyrík. Сорт селекції Національного інституту наукових досліджень в агрономії (Франція). У випробуванні з 2017 року.

Врожайність та зимостійкість середні, морозостійкість середня, стійкий до посухи, має високу стійкість до вилягання, обсіпання, проростання зерна, стікання. Пізньостиглий, низькорослий, висока стійкість до ураження борошнистою росою, високостійкий до бурої іржі та фузаріозу, до летючої та твердої сажки. Борошномельні та хлібопекарські показники середні, сильна пшениця.

Різновид лютесценс, колос циліндричної форми, висока щільність, зернівка червона, вища середня. Кущ прямої форми.

Courtot. Сорт селекції Національного інституту наукових досліджень в агрономії (Франція). У випробуванні з 2017 року.

Врожайність та зимостійкість середні, морозостійкість середня, стійкий до посухи, має високу стійкість до вилягання, обсіпання, проростання зерна, стікання. Ранньостиглий, низькорослий, висока стійкість до ураження борошнистою росою, високостійкий до бурої іржі та фузаріозу, до летючої та твердої сажки. Борошномельні та хлібопекарські показники вищі за середні, сильна пшениця.

Різновид еритроспермум, колос циліндричної форми, середня щільність, зернівка біла, вища середня. Кущ прямої форми.

2.2. Тритон X-305: особливості застосування та функціональні відмінності

Вихідний матеріал (сухе насіння пшениці сортів Flamenko, Lyrik, Courtot, Altigo, Подолянка, Співанка) обробляли водним розчином TX-305 (Тритон X-305) концентраціями 0,001 %, 0,005 %, 0,1 %, 0,5 %. Експозиція 24 години. Концентрації були тривіальними для цього типу епімутагену. Контрольну партію замочували у воді.

Першим принципом використання як об'єктів для екогенетичної дії у дослідження щодо аспекту ініціального матеріалу була можливість максимально охопити теоретично-можливе через необхідність використання вибірок на рівні кількох сотень членів для кожного варіанту у традиційній схемі дослідження за мінливості дії чинника, еколого-географічне різноманіття потенційно можливих до застосування у дослідному процесі форм. Так, сорти Flamenko, Lyrik, Courtot належать до європейського еко типу, Altigo – до європейського, але створений він згідно з програмою впровадження сортів французької селекції на теренах Східної Європи, а сорти Подолянка, Співанка репрезентовані оригінаторами як придатні до вирощування в будь-якому регіоні, мають універсальні характеристики щодо особливостей онтогенезу, проявляють високу екологічну стабільність та достатню пластичність залежно від умов середовища [82].

Епімутаген відбирали як більш вживаний для практики генетичного поліпшення близьких культур з доведеним фактом спадкового впливу. Фактично застосовували так званий білковий детергент – речовину, яка здатна приводити до суттєвих змін хімічної структури гістонів та відповідним чином зміни експресії генів.

Для дослідження сухе насіння озимої пшениці обробляли водними розчинами епімутагенних агентів. Їх готували безпосередньо перед обробкою, розчиняючи речовини в дистильованій воді за температури 20 °С, щоб уникнути тривалого зберігання. Об'єм розчину в 10 разів перевищував масу насінневого

матеріалу, а тривалість експозиції становила 24 години, що є стандартним для таких процедур [81].

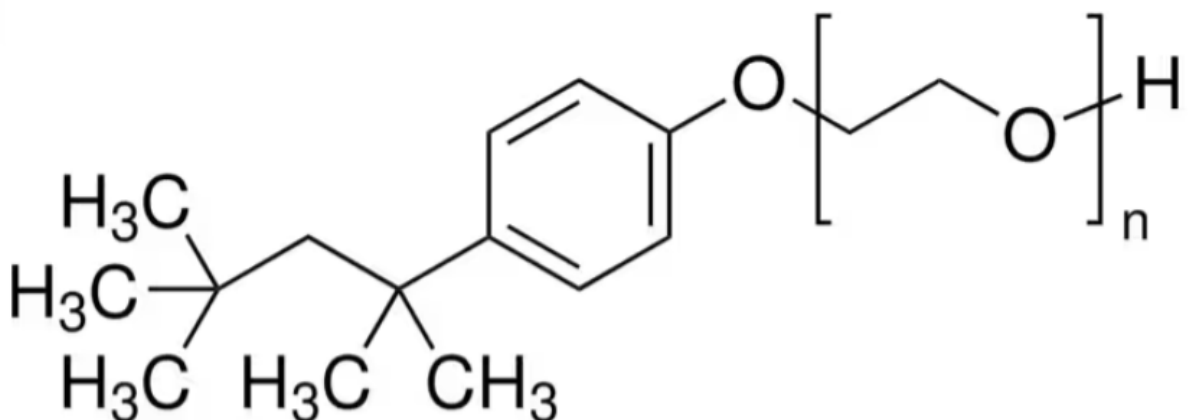
Насінневий матеріал розміщували в марлевих мішечках, наповнених на 2/3, щоб врахувати набубнявіння. Замочування здійснювали у скляному лабораторному посуді. Після обробки насіння промивали у проточній воді протягом щонайменше 30 хвилин для видалення залишків хімічних речовин.

Оброблене насіння висівали у вологий ґрунт дослідних ділянок не пізніше ніж через 2 години після промивання. Частину насіння, обробленого агентом Тритон Х-305, зберігали для подальшого аналізу цитогенетичної активності.

Тритон Х-305 – неіоногенна поверхнево-активна речовина. Цей етоксилат октилфенолу має більшу кількість ланок етиленоксиду, підвищену КМЦ (критичну концентрацію міцелоутворення) та гідрофільно-ліпофільний баланс. Використовується під час обробки клітин імуноцитохімії, має високий активний вплив на гістонний комплекс у хромосомах, що може спричиняти високу кількість епігенетичних змін.

Концентрації підібрані відповідно до раніше виконаних досліджень щодо ефективності епігенетичних чинників на різних сільськогосподарських та декоративних культурах [111].

Молекулярна формула $C_{18}H_{28}O_5$. Загальна формула така:



2.3. Умови виконання досліджень

Дослідження мутантної популяції та виділення стабільних ліній із перевіркою успадкування ознак здійснювали на дослідному полі Навчально-наукового центру Дніпровського державного аграрно-економічного університету, кафедри селекції і насінництва (с. Олександрівка, Дніпропетровська обл.) у 2021–2023 роках (покоління M_1 – M_2). Контрольне випробування ліній починалося з третього покоління (M_3) у 2023 році, а з четвертого покоління (2023–2024 роки) дослідження виконували з урахуванням якості та забезпеченості корисними елементами живлення. Агротехнічні заходи відповідали загальноприйнятим протоколам для цієї зони, враховували специфіку вирощування розсадників експериментального мутагенезу та були адаптовані до умов агроєкологічного району.

Дослідні ділянки на науково-дослідному полі Навчально-наукового центру ДДАЕУ характеризувалися однорідним покривом, представленим чорноземами звичайними малогумусними вилугуваними середньосуглинковими на суглинковому лесі.

Грунтові характеристики: глибина гумусового горизонту – 40–45 см, перехідний горизонт – 45–80 см, уміст гумусу в орному шарі – 2,4–3,4 % (за Тюріним), гідролітична кислотність – 0,80–1,41 мг-екв./100 г ґрунту (за Капенем), кількість увібраних основ – 21,0–29,0 мг-екв./100 г ґрунту (за Гедройцем), глибина залягання ґрунтових вод – 8–11 м.

Забезпеченість мінеральними елементами: вміст азоту (за Тюріним) – 4–5 мг/100 г ґрунту, рухомий фосфор (за Чиріковим) – 22–32 мг/100 г ґрунту, рухомий калій (за Чиріковим) – 22–33 мг/100 г ґрунту. Загальна забезпеченість рухомими формами мінеральних елементів оцінювалася як задовільна або хороша.

Для орного шару ґрунту (0–30 см) гранична вологість становила 22,5 %, для шару 0–60 см — 21,5 %. Зі збільшенням глибини вологість поступово знижувалася, досягаючи 19,0 % на глибших рівнях.

Схил дослідного поля має експозицію з півночі на південь. Поле розташоване в селі Олександрівка Дніпровського району Дніпропетровської області, що належить до північного нестабільно-вологого теплого агроекологічного району. Ці умови сприяли виконанню експериментів у середовищі, що характеризується типовими для регіону кліматичними та ґрунтовими особливостями.

Загальні кліматичні умови для регіону дослідження характеризуються такими багаторічними показниками, визначеними за результатами тривалих метеорологічних спостережень: гідротермічний коефіцієнт – понад 0,8, сума опадів за вегетаційний період ярих культур – 260–270 мм, загальна кількість опадів за рік – 460–500 мм, сума активних температур за період – 2950 °С, тривалість періоду активних температур – 170 днів, що сприятливо для розвитку більшості сільськогосподарських культур, період без морозів – у середньому 150–170 днів на рік. Період заморозків закінчується у третій декаді березня, починається – друга декада жовтня.

Глибина снігового покриву не перевищує 12 см на декаду (за багаторічними даними).

Ці кліматичні умови створюють стабільне середовище для виконання аграрних досліджень і вирощування сільськогосподарських культур у регіоні. ГТК (гідротермічний коефіцієнт) обчислювали за формулою Г. Т. Селянинова:

$$\text{ГТК} = \Sigma r / 0,1 \Sigma t^{\circ\text{C}},$$

де Σr – кількість опадів за період онтогенезу, мм;

$\Sigma t^{\circ\text{C}}$ – сума активних температур під час вегетації пшениці озимої;

0,1 – коефіцієнт обрахунку.

Відповідно до умов за режимом вологості та температури в комплексі визначали періоди таким чином: 0,4–0,7 – сильна посуха; 0,8–1,0 – помірна посуха; 1,1–1,5 – задовільні для онтогенезу; понад 1,6 – надмірна вологість (не фіксувалося протягом періоду дослідження) [84].

У період вирощування пшениці озимої 2021–2022 рр. середня температура повітря становила 10,4 °С за середньої багаторічної 8,5 °С (у період

спостережень за сорок років), з межами мінливості від -1,9 °С до 23,5 °С (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

**Подекадні параметри кліматичних умов у період дослідження
2021–2022 рр. (за даними метеостанції)**

Місяць	Показник						
	Температура повітря, °С			Опади, мм			ГТК
	Фактична	Багаторічна	±	Фактичні	Багаторічні	±	
VIII	22,2	20,3	1,7	51,2	36	15,2	1,39
IX	18,4	15,2	3,0	34,7	35	-0,3	0,78
X	6,6	8,4	-2,0	38,5	31	7,5	-
XI	5,2	2,5	2,5	67,8	39	28,8	-
XII	2,2	-2,1	4,1	50,0	51	-1,0	-
I	-4,2	-5,3	1,1	34,4	44	-9,6	-
II	-3,8	-4,2	0,4	75,3	35	40,3	-
III	2,8	0,8	1,8	57,2	33	24,2	-
IV	11,8	9,5	2,1	53,8	37	16,8	1,71
V	16,0	16,1	-0,1	39,4	45	-5,8	0,82
VI	23,2	19,5	3,5	29,6	58	-28,4	0,70
VII	23,6	21,2	2,2	45,9	55	-9,1	0,87
Середнє	10,4	8,5	1,7	48,2	42,6	5,6	1,04
Сума				577,8	511,0	66,8	

Протягом періоду дослідження максимальна температура спостерігалася в липні (23,6 °С). Загальна кількість опадів у вегетаційний період становила 577,8 мм, що на 66,8 мм перевищувало середній багаторічний показник (511 мм). Найвища вологість була зафіксована в лютому (75,3 мм). Середньомісячна

кількість опадів у вегетаційний період становила 49,1 мм, що на 6,5 мм більше за середню багаторічну норму (42,6 мм). Надходження опадів повністю забезпечило потреби озимої пшениці в період 2021–2022 рр.

За показником гідротермічного коефіцієнта (ГТК) кліматичні умови протягом року розподілилися таким чином: задовільні умови – травень, липень; надмірна вологість – серпень, квітень; недостатнє зволоження – вересень, червень. Загалом умови для вегетації пшениці озимої в період досліджень були задовільними або умовно задовільними. Епізоди надмірного або недостатнього зволоження не мали суттєвого негативного впливу на результати виконаних досліджень.

У період вирощування пшениці озимої 2022–2023 рр. середня температура повітря становила 11,0 °С за середньої багаторічної 8,4 °С (у період спостережень за сорок років), з межами мінливості від -0,6 °С до 23,4 °С (табл. 2.2).

Максимальна температура в досліджуваній період була зафіксована в липні й становила 23,4 °С. Загальна кількість опадів протягом вегетаційного періоду дорівнювала 510,2 мм, що лише на 0,8 мм менше за середній багаторічний показник (511 мм). Найбільша кількість опадів спостерігалася в червні (59,1 мм). Середньомісячна кількість опадів становила 42,5 мм, що лише на 0,1 мм менше за багаторічний середній рівень (42,6 мм).

Загальний рівень опадів задовольняв потреби озимої пшениці у волозі протягом вегетаційного періоду 2022–2023 років. Задовільні значення ГТК були відзначені в серпні, квітні, травні та червні. У липні спостерігалася надмірна вологість, а в серпні – її нестача. Однак ці відхилення не мали негативного впливу на результати дослідження, оскільки умови для вегетації озимої пшениці загалом залишалися задовільними та оптимальними.

**Подекадні параметри кліматичних умов у період дослідження
2022–2023 рр. (за даними метеостанції)**

Місяць	Показник						
	Температура повітря, °С			Опади, мм			ГТК
	Фактична	Багаторічна	±	Фактичні	Багаторічні	±	
VIII	23,2	20,3	2,9	31,2	36	-4,8	0,77
IX	19,0	15,2	3,8	15,0	35	-20,0	0,62
X	6,2	8,4	-2,2	31,8	31	0,8	-
XI	6,0	2,5	3,3	43,3	39	4,3	-
XII	3,9	-2,1	5,8	69,9	51	18,9	-
I	-0,6	-5,4	4,8	46,2	45,0	1,2	-
II	1,0	-4,1	4,9	34,3	36,0	-1,7	-
III	5,9	0,7	5,0	41,1	34,0	7,1	-
IV	8,6	9,4	-0,8	37,5	38,0	-0,5	0,83
V	13,0	16,0	-3,0	48,1	46,0	2,1	0,92
VI	22,0	19,6	2,2	59,5	59,0	0,5	1,11
VII	23,4	21,3	1,9	52,3	56,0	-3,7	1,26
Середнє	11,0	8,5	2,3	42,5	42,6	-0,1	0,91
				510,2	511,0	-0,8	

У 2023/24 р. середньорічна температура повітря була 9,3 °С при середній багаторічній 8,5 °С (за останні 40 років), з коливаннями від -2,8 °С до 22,1 °С (табл. 2.3).

Максимальна температура весняно-літнього періоду зафіксована в липні й становила 24,6 °С. Річна сума опадів становила 554,2 мм, що перевищує середній багаторічний показник (511 мм) на 43,2 мм. Найбільша кількість опадів випала в червні – 124,2 мм. У середньому кількість опадів становила 46,1 мм, що на 3,5 мм більше за багаторічний середній показник (42,6 мм).

**Середньомісячні показники основних метеорологічних факторів за
2023-2024 рр. (за даними Дніпровської метеостанції)**

Місяць	Показник						
	Температура повітря, °С			Опади, мм			ГТК
	Фактична	Багаторічна	±	Фактичні	Багаторічні	±	
VIII	22,1	20,4	-1,5	44,7	37	7,7	1,21
IX	19,8	15,4	-4,2	43,8	36	7,8	1,50
X	7,3	8,5	1,4	21,6	32	-10,4	0,21
XI	4,2	2,6	-1,4	48,9	40	8,9	-
XII	-2,6	-2	0,6	11,5	52	-40,5	-
I	-4,8	-5,4	-0,6	66,8	45	21,8	-
II	-1,4	-4,1	-2,5	28,2	36	-7,8	-
III	1,6	0,7	-0,9	22,6	34	-11,4	-
IV	11,2	9,4	-1,6	34,0	38	-4,0	1,01
V	13,5	16	2,5	46,7	46	0,7	4,30
VI	19,0	19,6	0,6	124,3	59	65,3	4,63
VII	21,4	21,3	0,1	61,1	56	5,1	1,71
Середнє	9,3	8,5	0,7	46,1	42,6	3,5	2,69
<i>E</i>				554,2	511	43,2	

Опади були достатніми, зокрема й у критичні періоди вегетації. Оптимальні умови за ГТК спостерігалися в серпні, вересні та травні, хоча більшість періодів були надмірно зволженими. Загалом погодні умови року були сприятливими для онтогенезу озимої пшениці.

Отже, ґрунтово-кліматичні умови протягом дослідного періоду (2021–2024 роки) були задовільними або сприятливими для вегетації епімутантних популяцій та лінійного матеріалу озимої пшениці. Кліматичні фактори забезпечували оптимальні умови, а рівень ґрунтових поживних речовин

відповідав вимогам. Суттєвих абіотичних стресів, які могли б негативно вплинути на результати, не виявлено.

2.4. Методика цитогенетичного аналізу

Виявлення епімутаційних змін здійснюється на рівні хромосомного апарату (цитогенетичний аналіз) і організму (візуальні та біохімічні методи). Основним показником епімутагенної дії екогенетичного чинника є наявність численних хромосомних аберацій. Аналіз цитогенетичної активності в початкових мітозах забезпечує цінну інформацію про ранні етапи впливу чинників різного механізму дії та допомагає визначити їхні особливості [42].

Першим етапом експериментального мутагенезу є дослідження цитогенетичної мінливості хромосомного апарату первинних клітинних систем. У пшениці це здійснюється під час перших регулярних поділів клітин кореневої системи, зокрема на стадіях пізньої метафази та ранньої анафази. Основні типи досліджуваних хромосомних перебудов містять фрагменти та мости, що аналізуються в контрольованих лабораторних умовах.

Для вивчення епігенетичних змін застосовували цитогенетичний аналіз хромосомного апарату та дослідження організму в цілому. Основний параметр епімутагенної дії екогенетичних чинників – виявлення хромосомних аберацій. Аналіз цитогенетичної активності здійснювали в перших мітозах первинних клітинних систем пшениці, досліджуючи хромосомні перебудови (фрагменти, мости) на стадіях пізньої метафази та ранньої анафази.

Хоча безпосередній вплив препарату на ДНК виключений, але особливістю залишається можливість індукції аберацій через вплив на рівень ушкоджень гістонів у білковому комплексі хромосом клітин первинної кореневої системи.

Дослідження здійснювали за таким протоколом:

- пророщування насіння: сухе та замочене протягом доби насіння пророщували в чашках Петрі на зволоженому фільтрувальному папері в термостаті за температури +25 °С;

- фіксація матеріалу: відрізані кінчики корінців (0,9–1,1 см) фіксували в розчині Карнуа (96 % етанол : оцтова кислота = 3:1) протягом доби. Зберігали матеріал у 70 % етанолі за температури $\leq +2$ °С;

- підготовка зразків: зразки фарбували ацетокарміном. У разі недостатньої якості матеріалу виконували мацерацію тканин 45 % оцтовою кислотою. Аналіз здійснювали на тимчасових препаратах відповідно до стандартних протоколів;

- облік результатів: аберації хромосом вивчали у 2-й і 3-й фазах поділу, визначаючи частоту спадкових змін. Досліджували поодинокі та парні фрагменти, хромосомні й хроматидні мости, мікроядра, відстаючі хромосоми.

Препарати вивчали за збільшення у 600× на мікроскопі Micromed XS-3330, фотографували камерою 5М. Виконували дослідження не менше ніж 500 клітин (за можливості – 1000) для кожного варіанта впливу та контролю.

2.5. Методики виявлення та обліків змін

У першому поколінні була створена мутантна популяція шляхом впливу екогенетичної активності сайтспецифічних хімічних чинників. На експериментальних ділянках (10 рядків по 1,5 м завдовжки) вручну висівали по 1000 замочених зернин кожного зразка, використовуючи замочені у воді вихідні форми як контроль.

У другому поколінні отриманий матеріал висівали вручну, розміщуючи кожен сім'ю окремо на ділянках з аналогічними параметрами (довжина рядка 1,5 м, ширина міжрядь – 0,15 м). Сім'єю вважали рослини, отримані з одного колоса. Змінені форми, ідентифіковані у другому поколінні, висівали у третьому поколінні на дворядкових ділянках із такими самими параметрами.

Протягом онтогенезу першого покоління (2021–2022 роки) аналізували схожість і виживаність рослин, а також враховували домінантні мутації (рідкісні в першому поколінні) у відповідні фази прояву. Досліджували ефекти мутагенної депресії, викликані хімічними чинниками, та їхній вплив на структуру, що визначає продуктивність рослин (досліджували 50 типових рослин кожного варіанта з урахуванням крайового ефекту).

Для кожного варіанта екогенетичного чинника відбирали не менше 500 колосків першого покоління для подальшого висівання за сім'ями в наступному поколінні (рис. 2.1).

У першому поколінні мутантної популяції оцінювали схожість та виживання рослин у польових умовах після зими. Схожість визначали через три тижні після посіву, щоб усунути вплив гальмування проростання через мутаген або фізіологічні особливості. Використовували метод підрахунку рослин на кожній ділянці.

Виживання оцінювали у відсотках як співвідношення кількості рослин, що дали продуктивний колос, до загальної кількості висіяних рослин. Стерильність пилку визначали за допомогою ацетокармінового фарбування під світловим мікроскопом на вибірці з 20–25 зразків.

Ключові ознаки продуктивності, що досліджували: висота рослини,

загальна та продуктивна кущистість, довжина головного колоса, кількість колосків у головному колосі, кількість зерен, маса зерна та маса тисячі зерен.

Візуальні зміни аналізували в поколіннях M1–M3 відповідно до стандартного протоколу. У другому поколінні ідентифікували більшість змін, які перевіряли на успадковуваність у третьому поколінні.

На фазі повних сходів реєстрували хлорофільні та інші зміни, а у фазі колосіння – структурні зміни стебла, колоса, листя та ступінь інтенсивності воскового нальоту. Фіксували дати проходження фенофаз, можливі ефекти мутагенної депресії та зміни строків стиглості. Як стандарт ранньостиглості використовували сорт Корисна. Додатково спостерігали потенційно ранні та пізні форми в період цвітіння.

Під час цих фаз виявляли системні мутації та структурні зміни колоса, що підтверджувалися реєстрацією фенофаз та порівнянням із контрольними формами.

Протягом усього онтогенезу озимої пшениці виконували ідентифікацію форм, стійких до хвороб та вилягання, продуктивних ліній, а також змін у кущистості та висоті рослин. Рослини й сім'ї зі зміненими ознаками маркували етикетками, на яких зазначали змінену ознаку, польовий номер, варіант мутагенного впливу, концентрацію речовини та сорт. Усі спостереження ретельно фіксували в журналах польових досліджень [14].

Під час збирання врожаю в другому поколінні сім'ї зі змінами відбирали індивідуально за кожним варіантом дії мутагену. Кожен сніп або рослину (залежно від поширення зміненої ознаки) обмолочували окремо. У третьому поколінні процес повторювали, але з акцентом на визначенні матеріалів як потенційних продуктивних ліній для подальшої селекції [15].

Зміни в рослин і ліній ідентифікували шляхом ретельного аналізу фенотипічних ознак після підтвердження їх успадкування в наступному поколінні, зазвичай у третьому. Частоту мутантних випадків визначали як відношення кількості сімей або рослин зі змінами до загальної кількості сімей, вивчених у другому поколінні.

У третьому поколінні здійснювали повний комплекс фенологічних спостережень, включаючи опис усіх змін, зокрема новоутворених. Рецесивні ознаки в третьому поколінні успадковувалися без розщеплень, тоді як у сім'ях із домінантними змінами можливе вищеплення вихідного фенотипу. Також у третьому поколінні виявляли нові спадкові зміни.

Третє покоління висівали за принципом потенційних ліній зі змінами. Кожну лінію висівали окремо на дворядкових ділянках (довжина рядка – 1,5 м, міжряддя – 0,15 м). Контролем була вихідна форма, яку висівали через кожні 20 ділянок за схемою, аналогічною до порівняльних випробувань.

У третьому поколінні були відібрані епімутанти з практично цінними поліпшеними ознаками для подальших досліджень, контрольного випробування на продуктивність і якість, а також перспективного практичного використання. Окрім того, було виділено генетично цінні форми з рідкісними або потенційно корисними змінами, які можна використовувати як компоненти в майбутніх схрещуваннях.

Обмеження аналізу тільки підрахунком частоти епімутацій виявилось недостатнім для повного розуміння генетичної активності чинника, особливо через сайтспецифічний механізм дії. Важливим стало врахування кількості ознак, за якими відбуваються зміни, для кожного варіанта дії чинника.

Цей підхід має дві ключові переваги: аналіз динаміки мутаційного процесу – дозволяє оцінити вплив концентрації діючої речовини на характер і частоту змін. Комплексний показник якості й кількості мутацій – враховує рівень мінливості, зменшуючи вплив стохастичних флуктуацій і забезпечуючи більш точні результати під час математико-статистичного аналізу.

Це робить оцінку мутаційного процесу більш надійною та інформативною для розуміння механізмів дії чинників і їхньої ефективності у створенні генетично цінних форм.

Мінливість отриманих форм обчислювали таким чином:

$$P_v = \alpha \cdot \gamma,$$

де P_v – рівень мінливості за кожним варіантом;

α – кількість мутантних випадків до загальної кількості сімей у варіанті;
 γ – кількість ознак, за якими знаходили бодай одну зміну, що успадковувалася за кожним варіантом.



Рис. 2.1. Схема виконання наукового дослідження

Для аналізу змін у продуктивності вивчали структуру врожайності відповідних зразків, беручи по 25 рослин із кожного повторення. Площа облікової ділянки варіювалася від 2 м² до 10 м² залежно від етапу дослідження. Повторність дослідів була одно- або дворазовою. Контрольні зразки (стандарт і вихідна форма) включалися через кожні десять досліджуваних зразків. Як стандарт для оцінки продуктивних форм використовували найкращу вихідну форму.

Дослідження технологічних якостей зерна – визначався вміст білка та клейковини (у відсотках). Вміст гліадинів і високо- та низькомолекулярних форм глютенінів у перспективних господарсько-цінних формах і системних мутаціях.

Вміст білка визначали аналогом методу К'едаля за допомогою протоколу CNS Model Flash EA 1112 (серія Thermo Logiciel Eager 300). Гліадини та глютеніни аналізували методом рідинної хроматографії RP-HPLS відповідно до протоколів: MO-BIG-001 та MO-BIG-003 – для екстракції, MO-BIG-006 – для безпосереднього аналізу.

Розчини для екстракції білкових компонентів:

Розчин I: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (50 mM), NaCl (0,1 M), pH 7,8 – для екстракції альбумінів і глобулінів.

Розчин II: 70 % етанол – для екстракції гліадинів.

Розчин III: $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, pH 9,8; пропанол (30 %), DTT (0,1 %) – для екстракції гліадинів згідно зі стандартними внутрішніми протоколами GDES INRA.

Цей підхід дозволяв якісно оцінити біохімічні та структурні зміни зерна внаслідок мутагенезу та добору перспективних форм.

Фотосинтетичну активність листкового апарату пшениці озимої у фазу колосіння визначали за допомогою приладу SPAD-502 з подальшим перерахунком значень на концентрацію хлорофілу (a+b). Розрахунок виконували за формулою:

$$\text{Chl} = 10^{M^{0.265}},$$

де M – показник у SPAD-одинацях, згідно із загальноновизнаною методикою для зернових культур [23, 29, 390].

Додатково виконували аналіз на вміст органогенних елементів у зразках. Вимірювали концентрації таких макро- та мікроелементів: кальцій, фосфор, сірка, магній, калій (г/кг), цинк, мідь, молібден, кобальт, марганець (мг/кг).

Усі дослідження здійснювали в лабораторії Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ.

Перед початком дослідження зразки зерна піддавали мінералізації за допомогою системи мікрохвильової обробки Multiwave GO Plus (Anton Paar, Австрія). Згідно зі стандартним протоколом, до наважки кожного зразка масою 0,5 г додавали 10 мл 65 % азотної кислоти та 1 мл концентрованої соляної кислоти (виробник Sigma-Aldrich). Процес мінералізації, включно з охолодженням, тривав не менш ніж 45 хвилин за температури 185 °С.

Аналіз мінерального складу виконували із застосуванням атомно-емісійного спектрометра з індуктивно-зв'язаною плазмою Agilent 5110. Визначення вмісту елементів здійснювали шляхом вимірювання інтенсивності емісії світла на фіксованих довжинах хвиль. Як стандарт під час аналізу використовували мультиелементний розчин виробництва Agilent.

Для математико-статистичного аналізу даних використовували модуль факторного аналізу з попарним порівнянням за тестом Тьюкі. Достовірність відмінностей між варіантами дослідження та контролем оцінювали за критерієм Фішера. Post hoc методи застосовували для визначення однорідності варіацій у групах. Нормальність розподілу даних оцінювали за критерієм Краскела–Воллеса, а асиметрію (As) та ексцес (Ex) обчислювали за базовими статистиками. Дискримінантний та кластерний аналіз здійснювали за загальноприйнятими методиками.

Аналіз кластерів виконувався за допомогою евклідових відстаней із припущенням нормальності розподілу даних. Обчислювали первинну кореляційну матрицю для параметрів продуктивності, цитогенетичної мінливості та спектра мутацій залежно від генотипмутагенної взаємодії. Для аналізу використовували пакет багатовимірного статистичного аналізу Statistica 10.0. Виконані дослідження передбачали: обчислення кореляційних та коваріаційних матриць, визначення модельних та немодельних параметрів, побудову дискримінантних функцій та класифікаційне групування, обчислення коефіцієнтів кореляції канонічних функцій, оцінку статистичних особливостей

функцій, аналіз центроїдів ідентифікованих груп, класифікацію об'єктів за відстанями в межах кластерів, побудову двокоординатних графіків для візуалізації результатів.

Висновки до розділу 2

1. Ґрунтово-кліматичні умови досліджень відповідають характеристикам польового дослідження та відображають загальні умови регіону. Це дає змогу здійснити адекватну агроекологічну оцінку придатності та мінливості сортів пшениці озимої для їхнього подальшого впровадження у виробничі посіви. Одночасно ці умови достатньо контрастні для виявлення генотип-середовищної взаємодії у сортів та меж мінливості за господарсько-цінними ознаками.

2. Протоколи дослідження відповідають загальноприйнятим стандартам експериментального мутагенезу та визначення активності екогенетичних чинників. З їхньою допомогою можна оцінити вплив різних чинників на активність пшениці озимої з урахуванням сайтспецифічності чинників на всіх рівнях агроекологічної організації. Це охоплює дослідження депресії під час створення популяції та ідентифікацію змін і їх успадкування в наступних поколіннях.

3. Методи математико-статистичної обробки забезпечують об'єктивну оцінку варіативності досліджених даних, дозволяють виявити статистично достовірні відмінності між варіантами, виділити основні ознаки та класифікувати матеріал. Ці методи використовуються для аналізу польових та лабораторних досліджень.

4. Загальна схема польових і лабораторних досліджень повністю відповідає протоколам провідних міжнародних організацій та вітчизняним практикам у сфері експериментального мутагенезу та екологічної генетики злакових культур. Вона враховує всі необхідні етапи та методи для досягнення науково обґрунтованих результатів, починаючи від мікрохвильової мінералізації зразків до комплексного фенологічного аналізу та визначення мутаційних змін. Така методологія дає можливість точно оцінити генетичні, біохімічні та

фізіологічні зміни в популяціях рослин, а також сприяє визначенню перспективних форм для подальших досліджень і практичного використання.

РОЗДІЛ 3

ВПЛИВ ЕПІМУТАГЕНУ (ТРИТОН X-305) НА РІСТ ТА РОЗВИТОК РОСЛИН ПЕРШОГО ПОКОЛІННЯ

Виконано дослідження можливої депресійної дії епімутагенного агента Тритон X-305 у водних розчинах із концентраціями 0,01 %, 0,05 %, 0,1 % та 0,5%. Обробка здійснювалася одноразово, а оцінка здійснювалася для першого покоління сортів пшениці озимої. У дослідженні використано сорти місцевої селекції – Подолянка, Співанка, а також іноземні сорти Altigo, Courtot, Lyrik та Flamenko.

Сорти підібрані для максимально широкого охоплення біорізноманіття пшениці озимої та порівняння особливостей прояву мутагенної депресії залежно від: загальної адаптивної здатності до природно-кліматичних умов; індивідуальної генотипмутагенної взаємодії сорту [2, 3].

Мета досліджень – виявити можливі депресійні наслідки застосування епімутагенного агента Тритон X-305. Визначити ключові моменти для отримання необхідної кількості дослідницького матеріалу для подальшого вивчення та виявлення форм із потенційно цінними мутаційними змінами.

Дослідження виконувалося за такими ключовими показниками: схожість та виживання насіння після обробки.

Фізіологічні параметри активності: у критичні періоди перезимівлі (включаючи фенологічну оцінку та вимірювання концентрації цукрів у вузлі кущіння в різні періоди проходження несприятливих умов), у період колосіння (оцінка фотосинтетичної активності) [20].

Оцінка цих показників дозволила визначити: особливості генотипмутагенної взаємодії; загальний депресійний ефект дії Тритона X-305.

Параметри, використані для аналізу, виявилися репрезентативними для відображення впливу мутагенної дії агента, а також його специфічних взаємодій із генотипами досліджуваних сортів. Це створює основу для подальшого

вивчення виділених форм, які можуть мати цінні агрономічні або фізіологічні зміни [17, 18].

Застосування агентів, що характеризуються біорізноманіттям культурних рослин і, зокрема, зернових культур, дає змогу в досить короткі терміни отримати форми, які або мають нові господарсько-цінні ознаки, або не мають зв'язку з негативними ознаками, або мають принципово нові ознаки. не зустрічаються або практично незвичайних природних і диких родичів. Існують також альтернативні способи отримання цього матеріалу, але вони, як правило, набагато довші та потребують більше часу та ресурсів або значно менш ефективні в отриманні достатнього матеріалу для використання його генетичної чистоти. Дослідження, що базується на виявленні нових факторів спадкової мінливості, є особливо актуальним у зв'язку з необхідністю зменшення депресивних ефектів застосування класичних мутаційних агентів, підвищення можливості ігнорування специфічного генотипомутагенного впливу. Все більшого значення набувають речовини, які не можуть безпосередньо привести до зміни ДНК, але опосередковано викликають необхідні спадкові зміни, особливо через вплив на структуру білкової хромосоми, так звані епімутагенні речовини [36].

Використання таких речовин показало, що вони, як правило, менш імовірно призводять до різкого зниження колосіння, виживання, більше сприяють родючості рослин, але вони також достатньою мірою перетворюють вихідний матеріал і спричиняють поліпшення з високою частотою. Крім того, ці агенти викликають певні якісно нові спадкові зміни, які спостерігаються неповністю або можуть частково й нерегулярно спостерігатися в разі застосування більш класичних хімічних супермутагенів або іонізуючого опромінення [33, 35].

Проте використання таких засобів потребує зміни розроблених методичних підходів, уточнення меж варіювання властивостей під дією таких чинників, можливостей отримання специфічних ознак, діапазону практично значущих генетичних і селекційно-цінних концентрацій, особливостей взаємодії

зі специфічними. культури та межі генотип-мутагенної взаємодії. Метою нашого дослідження було показати можливі депресивні ефекти епімутаційного чинника Тритон Х-305 та визначити ключові моменти з позиції отримання точної кількості рослинного матеріалу для подальшого аналізу та ідентифікації форм з можливими цінними змінами. При цьому досліджувалися показники схожості, виживання та пов'язані з ними фізіологічні параметри активності в критичні періоди зимівлі та колосіння (фотосинтетична активність), які, по-перше, визначають розмір вибірки для подальшої роботи, а по-друге, характеризують можливість отримання повноцінного рослинного матеріалу для подальшого вивчення [57].

Дослід виконувався в умовах дослідного приміщення кафедри селекції та насінництва Дніпровського державного аграрно-економічного університету протягом 2021–2022 років.

Зерна пшениці м'якої озимої однорічної (по 1000 зерен у кожній обробці та контролі) обробляли розчином Тритон Х-305 аква в концентраціях 0,01 %, 0,05 %, 0,1 % та 0,5 %. Зерно замочували з експозицією протягом 36 годин за загальноприйнятою методикою обробки хімічними мутагенами. Ці концентрації були визначені згідно з попередніми дослідженнями речовин-аналогів на зернових культурах. Контроль змочували у воді.

Усього висіяно 32 варіанти (ділянка 10 рядків у кожному варіанті, ширина міжрядь 0,15 м, довжина 1,5 м) сортів Подолянка, Співанка (домашня селекція), Altigo (Лемагрин, Франція), Courtot, Lyrik та Flamenko (INRA, Франція). Сорти відібрано з метою максимізації можливого біорізноманіття озимої пшениці.

Виконано фленологічні дослідження, оцінено перезимівлю як візуально, так і за визначенням концентрації цукрів у вузлі кушіння в значущий період, визначено схожість та приживлюваність рослин на ділянках, здійснено оцінку фотосинтетичної активності протягом періоду колосіння апаратом СПАД-502 та розрахунок концентрації хлорофілу (а+б) за загальноприйнятою методологією за формулою $Chl = 10M^{0,265}$, де М – значення одиниць SPAD. Порівняння

середніх значень здійснювали за допомогою факторного аналізу, групування та оцінку даних – за допомогою дискримінантного аналізу (Statistica 10.0) [168].

Насамперед дія мутагенних факторів позначилася на проростанні та виживанні рослин пшениці озимої в першому поколінні (у наступних поколіннях ця дія майже не проявляється, а генетична дія знаходить свій прояв у наявності та частоті змінених форм).

Дані щодо проростання, виживання на початку зими та виходу наприкінці зими рослин пшениці озимої наведено для більш вдалих генотипів, що характеризуються значним стимулюючим ефектом при 0,01 % Тритона X-305 (ТХ-305) (табл. 3.1), і менш успішні генотипи, вищий рівень депресії (табл. 3.2).

Сорти Співанка, Altigo та Подолянка загалом демонструють подібну динаміку епімутагену за одним винятком (для Співанки та Подолянки), що характеризується статистично значущим стимулюючим ефектом для першої концентрації ТХ-305 ($F = 146,22$; $F_{0.05} = 7,70$; $P < 0,01$; $F = 84,76$; $F_{0.05} = 7,70$; $P < 0,01$), та не є характерною ознакою для сорту Altigo. Він, як видно з табличних даних, показує статистично вагоме пригнічення проростання ($F = 18,33$; $F_{0.05} = 7,70$; $P < 0,01$), у той час коли для групи загалом характерний стимулюючий ефект порівняно з контролем до виходу із зимівлі та після виходу із зимівлі ($F = 91,34$; $F_{0.05} = 5,56$; $P < 0,01$). Контроль цього сорту також характеризується високою загибеллю рослин перед відходом у зимівлю, що, ймовірно, зумовлено багатьма ознаками ($F = 32,06$; $F_{0.05} = 3,88$; $P < 0,01$). У контролі всі сорти демонстрували відмінні якості, тому цей ефект не може бути пов'язаний з низькою якістю посівного матеріалу.

Було виявлено незначну загибель рослин для всіх сортів за дії ТХ-305 0,05 % між сходами та перед входом у зимовий період ($F = 1,97$; $F_{0.05} = 3,88$; $P < 0,01$), для вищих концентрацій (0,1 % та 0,5 %) він був значно суттєвішим, а статистичні відмінності більш надійні ($F = 27,11$; $F_{0.05} = 3,88$; $P < 0,01$).

В усіх випадках спостерігали статистично достовірні відмінності між контролем та всіма концентраціями та між діями кожної з концентрацій. Дія двох перших концентрацій не тільки була помірною, але й реєструвався стимулюючий

ефект, який проявлявся у підвищеному виживанні порівняно з контролем. Таким чином, дія характеризувалася помірністю та загальною високою специфічністю реакції окремого сорту на активність застосованого чинника.

Проте загибель рослин під час несприятливого зимового періоду дуже суттєва для досліджених концентрацій у всіх випадках, що є критичним для ефектів депресії у першому поколінні для озимих культур загалом ($F = 179,82$; $F_{0.05} = 3,88$; $P < 0,01$).

Таблиця 3.1

Мутагенна депресія в першому поколінні при проростанні та виживаності більш витривалих сортів ($x \pm SD$, $n = 10$)

Варіант	Схожість	Перед зимою	Виживання
Співанка	98,0 ± 1,0 ^a	91,3 ± 0,6 ^a	90,7 ± 0,6 ^a
Співанка, ТХ-305 0,01%	96,3 ± 0,6 ^b	95,3 ± 0,6 ^b	94,7 ± 0,6 ^b
Співанка, ТХ-305 0,05%	89,7 ± 0,6 ^c	88,7 ± 0,6 ^c	83,0 ± 1,0 ^c
Співанка, ТХ-305 0,1%	81,3 ± 1,5 ^d	75,0 ± 2,7 ^d	62,7 ± 2,1 ^d
Співанка, ТХ-305 0,5%	57,3 ± 5,7 ^e	56,0 ± 1,0 ^e	40,7 ± 1,2 ^e
Altigo	97,7 ± 0,5 ^a	88,3 ± 0,5 ^a	87,6 ± 0,5 ^a
Altigo, ТХ-305 0,01%	93,7 ± 0,5 ^b	92,0 ± 0,4 ^b	91,0 ± 1,0 ^b
Altigo, ТХ-305 0,05%	87,3 ± 0,5 ^c	86,3 ± 0,5 ^c	81,3 ± 1,5 ^c
Altigo, ТХ-305 0,1%	70,7 ± 2,0 ^d	69,3 ± 1,5 ^d	60,3 ± 7,5 ^d
Altigo, ТХ-305 0,5%	62,0 ± 2,6 ^e	61,0 ± 2,0 ^e	48,0 ± 3,6 ^e
Подольанка	99,0 ± 1,0 ^a	92,3 ± 0,5 ^a	91,3 ± 0,5 ^a
Подольанка, ТХ-305 0.01%	99,0 ± 1,1 ^a	95,3 ± 1,1 ^b	95,0 ± 1,0 ^b
Подольанка, ТХ-305 0.05%	91,7 ± 1,1 ^b	90,3 ± 0,5 ^c	88,6 ± 0,5 ^c
Подольанка, ТХ-305 0.1%	80,7 ± 2,5 ^c	75,0 ± 1,0 ^d	64,0 ± 1,0 ^d
Подольанка, ТХ-305 0.5%	62,7 ± 1,5 ^d	59,0 ± 2,0 ^e	44,0 ± 4,0 ^e

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

Слід зауважити, що екстремальна концентрація була напівлетальною для всіх сортів першої групи. Подальші дослідження появи спадкових змін дали б змогу більш правильно класифікувати ефективність дози, а за показниками росту та розвитку ми припускаємо, що ефект може відповідати дії гамма-променів 200 Гр (на основі вже виконаних досліджень для сорту Співанка) та визначається

через депресивний ефект у першому поколінні рослин, що отримали відповідну дію.

У табл. 3.2 наведено дані щодо впливу епімутагену на сорти другої групи, дія ТХ-305 є набагато більш депресивною для Courtot, Lyrik, Flamenko, особливо для перших двох. Зимовий період був особливо критичним, тоді як загибель після появи сходів і перед зимою досить часто не була статистично значущою, за винятком концентрації ТХ-305 0,5 % ($F = 39,44$; $F_{0,05} = 3,88$; $P < 0,01$). Усі досліджені варіанти статистично достовірно відрізнялися один від одного та від контролю, але матеріал характеризувався дуже значною загибеллю внаслідок зимового періоду, що раніше не реєструвалося для цих сортів у екологічному випробуванні.

Таблиця 3.2

Мутагенна депресія в першому поколінні під час проростання та виживаності чутливих сортів ($x \pm SD$, $n = 20$)

Варіант	Схожість	Перед зимою	Виживання
Courtot	92,0 ± 2,0 ^a	85,0 ± 1,0 ^a	76,6 ± 1,5 ^a
Courtot, ТХ-305 0,01%	91,6 ± 1,5 ^a	88,6 ± 0,5 ^a	25,3 ± 1,4 ^b
Courtot, ТХ-305 0,05%	83,0 ± 1,0 ^b	79,3 ± 0,5 ^b	20,6 ± 1,4 ^c
Courtot, ТХ-305 0,1%	62,6 ± 1,5 ^c	59,0 ± 1,0 ^c	12,0 ± 2,6 ^d
Courtot, ТХ-305 0,5%	49,0 ± 3,6 ^d	40,6 ± 1,5 ^d	3,3 ± 0,5 ^e
Lyrik	91,3 ± 1,5 ^a	89,3 ± 0,5 ^a	69,3 ± 3,0 ^a
Lyrik, ТХ-305 0,01%	81,0 ± 1,0 ^b	77,6 ± 1,5 ^b	69,3 ± 3,1 ^a
Lyrik, ТХ-305 0,05%	69,0 ± 4,3 ^c	62,6 ± 6,1 ^c	42,0 ± 3,6 ^b
Lyrik, ТХ-305 0,1%	30,0 ± 6,0 ^d	28,00 ± 1,0 ^d	11,0 ± 1,0 ^c
Lyrik, ТХ-305 0,5%	8,0 ± 6,2 ^e	4,67 ± 1,5 ^e	0,0 ± 0,0 ^d
Flamenko	95,3 ± 0,5 ^a	89,33 ± 0,5 ^a	81,3 ± 1,1 ^a
Flamenko, ТХ-305 0,01%	97,0 ± 1,0 ^b	94,00 ± 1,0 ^b	86,6 ± 1,5 ^b
Flamenko, ТХ-305 0,05%	83,3 ± 3,2 ^c	79,00 ± 1,0 ^c	72,3 ± 2,5 ^c
Flamenko, ТХ-305 0,1%	65,6 ± 3,2 ^d	59,67 ± 0,5 ^d	50,0 ± 1,0 ^d
Flamenko, ТХ-305 0,5%	53,6 ± 3,0 ^e	41,00 ± 1,0 ^e	37,3 ± 2,0 ^e

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

Для всіх трьох сортів зимовий несприятливий період статистично достовірно вкрай негативно вплинув на виживання рослин, значну загибель

навіть у контролі, що вказує на низьку адаптивність цих генотипів до екстремальних континентальних умов вирощування (рис. 3.1), яка на наступному етапі буде досліджена через вміст цукрів.



Рис. 3.1. Результат впливу на нестійкі сорти

На відміну від попередніх сортів TX-305 0,1% був напівлетальним для Flamenko, а для Courtot після зими напівлетальною зі статистичною достовірністю була навіть помірна концентрація 0,01 %, для Lyrik напівлетальною зі статистичною достовірністю була вже дія концентрації 0,05 %.

Найвища концентрація для останніх двох сортів вже була критичною, і якщо в осінній період для сорту Courtot вдалося отримати достатню кількість матеріалу (всі рослини загинули під час зимового періоду), то для сорту Lyrik проблеми були вже через низьку схожість.

Таким чином, цей сорт вже на генетичному рівні демонструє надзвичайну

чутливість (афінність) до дії агента. Щоб з'ясувати, наскільки критичною була зимостійкість сортів у подальшому для стійкості для ефектів депресії у першому поколінні, проаналізовано у нього наявність цукрів у вузлі кушення у динаміці протягом зимового періоду (табл. 3.3 та 3.4).

Таблиця 3.3

Параметри сортів озимої пшениці в зимовий період (2021/2022 періоди вегетації) ($\bar{x} \pm SD$, $n = 5$). Перша група

Варіант	Концентрація цукрів у вузлі кушення, %		
	11	02	03
Співанка	33,40 ± 0,40 ^a	29,70 ± 0,30 ^a	22,40 ± 0,40 ^a
Співанка, ТХ-305 0,01 %	34,90 ± 0,30 ^b	31,30 ± 0,40 ^b	26,10 ± 0,30 ^b
Співанка, ТХ-305 0,05 %	30,00 ± 0,40 ^c	27,60 ± 0,50 ^c	21,00 ± 0,30 ^c
Співанка, ТХ-305 0,1 %	28,70 ± 0,60 ^d	25,90 ± 0,40 ^d	20,50 ± 0,50 ^d
Співанка, ТХ-305 0,5 %	26,00 ± 0,50 ^e	23,10 ± 0,40 ^e	19,10 ± 0,50 ^e
Altigo	24,80 ± 0,30 ^a	22,70 ± 0,50 ^a	19,30 ± 0,40 ^a
Altigo, ТХ-305 0,01 %	28,40 ± 0,30 ^b	24,00 ± 0,40 ^b	20,20 ± 0,60 ^a
Altigo, ТХ-305 0,05 %	23,70 ± 0,40 ^c	21,50 ± 0,50 ^c	20,00 ± 0,50 ^a
Altigo, ТХ-305 0,1 %	22,20 ± 0,40 ^d	20,00 ± 0,30 ^d	19,30 ± 0,50 ^a
Altigo, ТХ-305 0,5 %	21,60 ± 0,50 ^d	19,20 ± 0,30 ^e	16,60 ± 0,40 ^b
Подольянка	33,10 ± 0,40 ^a	27,40 ± 0,40 ^a	22,90 ± 0,40 ^a
Подольянка, ТХ-305 0,01 %	34,70 ± 0,50 ^b	29,10 ± 0,50 ^b	24,50 ± 0,40 ^b
Подольянка, ТХ-305 0,05 %	30,90 ± 0,30 ^c	26,10 ± 0,60 ^c	20,80 ± 0,30 ^c
Подольянка, ТХ-305 0,1 %	28,10 ± 0,40 ^d	24,40 ± 0,30 ^d	19,20 ± 0,50 ^d
Подольянка, ТХ-305 0,5 %	26,40 ± 0,50 ^e	22,00 ± 0,50 ^e	17,30 ± 0,50 ^e

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

По-перше, менш чутлива група (табл. 3.3) характеризується вищим вмістом цукрів у вузлі кушення протягом усіх аналізованих періодів. Загалом у всіх випадках спостерігається динаміка поступового зменшення від час зимового періоду та досить значне зменшення залежно від використовуваної концентрації ($F = 4,10$; $F_{0,05} = 2,44$; $P < 0,05$). Більш повну картину дає перший і другий період вимірювань. У березні, після проходження основної стадії несприятливих умов за зимовий період, концентрація цукрів знижується статистично достовірно

менше. Характерний стимулюючий ефект виявляється за найменшої концентрації епімутагену.

Для першої групи всі варіанти відрізняються один від одного та від контролю. Для другої групи тенденція менш виражена та загальний негативний вплив занадто вагомий. Вочевидь, проблема не лише в депресивних ефектах, але й у низькій зимостійкості вихідного матеріалу.

У таблиці 3.4 показано значно нижчу концентрацію цукрів для більш чутливих до агента сортів, через це іноді різниця в достовірності між концентраціями згладжена й не така чітко помітна, але вона статистично достовірно теж залежить від вихідного матеріалу ($F = 3,07$; $F_{0,05} = 2,44$; $P < 0,05$). Стимулюючий ефект TX-305 0,01% помітний лише для Flamenko, для інших двох генотипів вже проявилися вагомні депресійні ефекти за цієї концентрації (рис. 3.2).

Таблиця 3.4

Параметри сортів озимої пшениці в зимовий період (2021/2022 періоди вегетації) ($x \pm SD$, $n = 5$). Друга група

Варіант	Концентрація цукрів у вузлі кушення, %		
	11	02	03
Courtot	22,10± 0,40 ^a	17,90± 0,40 ^a	16,90± 0,50 ^a
Courtot, TX-305 0.01%	20,90± 0,50 ^b	16,70± 0,40 ^a	15,10± 0,80 ^b
Courtot, TX-305 0.05%	14,20± 0,40 ^c	11,90± 0,60 ^b	9,90± 0,40 ^c
Courtot, TX-305 0.1%	11,30± 0,40 ^d	8,70± 0,70 ^c	8,60± 0,60 ^d
Courtot, TX-305 0.5%	10,30± 0,30 ^e	-	-
Lyrik	18,60 ± 0,50 ^a	12,60 ± 0,50 ^a	11,10 ± 0,30 ^a
Lyrik, TX-305 0.01%	16,50 ± 0,40 ^b	11,20 ± 0,50 ^b	10,00 ± 0,50 ^b
Lyrik, TX-305 0.05%	13,40 ± 0,40 ^c	10,90 ± 0,60 ^b	9,10 ± 0,50 ^b
Lyrik, TX-305 0.1%	11,30 ± 0,30 ^d	10,20 ± 0,50 ^b	7,60 ± 0,70 ^c
Lyrik, TX-305 0.5%	8,70 ± 0,50 ^e	-	-
Flamenko	22,20 ± 0,60 ^a	19,50 ± 0,50 ^a	16,20 ± 0,40 ^a
Flamenko, TX-305 0.01%	24,30 ± 0,40 ^b	20,80 ± 0,70 ^b	20,60 ± 0,70 ^b
Flamenko, TX-305 0.05%	21,50 ± 0,30 ^c	19,10 ± 0,50 ^a	16,00 ± 0,30 ^a
Flamenko, TX-305 0.1%	20,40 ± 0,50 ^d	18,60 ± 0,50 ^{ac}	14,90 ± 0,40 ^c
Flamenko, TX-305 0.5%	18,20 ± 0,60 ^e	16,10 ± 0,70 ^d	14,60 ± 0,50 ^c

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

Таким чином, надійним новим показником для моніторингу депресивних ефектів у першому поколінні можна вважати концентрацію цукрів у вузлі кушення протягом зимового періоду. Динаміка зміни цього показника відтворює не лише зимостійкість, але й негативний фізіологічний ефект дії епімутагену. Завдяки цьому показнику можна ідентифікувати генотипи, оптимальні для використання як вихідний матеріал для застосування епігенетичної мінливості.



Рис. 3.2. Масова загибель західно-європейських сортів. Післядія ТХ-305

Для характеристики депресивного ефекту досліджено показник фотосинтетичної активності в більш пізній критичний період колосіння (табл. 3.5

і табл. 3.6). Загалом можна зауважити, що мінливість за цим показником вітчизняних сортів вища, ніж для іноземної селекції, що інколи призводить до неможливості статистично вірогідно побачити зниження (чи стимулювання) цього показника залежно від концентрації застосованого епімутагену. Це також ускладнює загальну проблему значно нижчої мінливості цієї ознаки для усіх сортів. Загалом показник можливо застосовувати для генотипів другої групи, у той час як для сортів першої групи вплив був відносно незначним.

Таблиця 3.5

Параметри фотосинтетичної активності. Перша група ($x \pm SD$, $n = 5$)

Сорт	Soil Plant Analysis Development (SPAD)	Хлорофіл, $\mu\text{mol}/\text{m}^2$
Співанка	$50,1 \pm 2,6^a$	$664,1 \pm 19,4$
Співанка, TX-305 0.01%	$50,4 \pm 2,4^a$	$669,6 \pm 18,5$
Співанка, TX-305 0.05%	$47,5 \pm 2,6^b$	$605,4 \pm 19,5$
Співанка, TX-305 0.1%	$47,5 \pm 2,3^b$	$605,0 \pm 18,0$
Співанка, TX-305 0.5%	$44,2 \pm 1,5^b$	$537,2 \pm 13,0$
Altigo	$52,1 \pm 0,6^a$	$711,1 \pm 7,6$
Altigo, TX-305 0.01%	$55,9 \pm 0,6^b$	$804,5 \pm 7,9$
Altigo, TX-305 0.05%	$50,4 \pm 0,6^c$	$670,0 \pm 7,7$
Altigo, TX-305 0.1%	$48,0 \pm 0,4^d$	$617,2 \pm 6,2$
Altigo, TX-305 0.5%	$46,8 \pm 0,3^e$	$591,7 \pm 5,4$
Подольянка	$47,3 \pm 1,5^a$	$601,1 \pm 12,9$
Подольянка, TX-305 0.01%	$50,9 \pm 1,4^b$	$682,0 \pm 12,6$
Подольянка, TX-305 0.05%	$45,4 \pm 0,9^a$	$561,4 \pm 9,9$
Подольянка, TX-305 0.1%	$43,9 \pm 0,9^{ac}$	$530,0 \pm 9,8$
Подольянка, TX-305 0.5%	$41,7 \pm 1,4^{cd}$	$487,6 \pm 12,6$

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

Проте ефект депресії і загалом досить значний, хоча й не такий екстремальний, як у ситуації з показниками зимостійкості. Ознака менш мінлива, стимулюючий ефект можливий для TX-305 0,01 %, але не завжди фіксується. Ця ознака особливо вдала в плані класифікації окремих концентрацій, у сортів Altigo і Flamenko. Сорт Лугік характеризується екстремальним зниженням внесення перших концентрацій. Для сортів Altigo та Подольянка характерна наявність стимуляційного ефекту за дії TX-305 0,05 %.

Таким чином, ця ознака показала суттєву різницю між генотипами в реактивності епімутагену та загалом залежала від генотипу вихідного сорту ($F = 6,02$; $F_{0,05} = 2,45$; $P < 0,05$). Вона важлива для характеристики ефекту в критичній фазі колосіння рослин пшениці озимої в першому поколінні, коли діяльність фотосинтетичного апарату є вирішальною у формуванні зерна і, відповідно, для наявності матеріалу для подальших досліджень спадкової мінливості в наступних поколіннях.

Таблиця 3.6

Параметри фотосинтетичної активності. Друга група ($x \pm SD$, $n=5$)

Сорт	Soil Plant Analysis Development (SPAD)	Хлорофіл, $\mu\text{mol}/\text{m}^2$
Courtot	$49,4 \pm 0,4^a$	$647,8 \pm 6,5$
Courtot, TX-305 0,01%	$49,1 \pm 0,2^a$	$640,6 \pm 5,0$
Courtot, TX-305 0,05%	$44,2 \pm 0,4^b$	$536,0 \pm 6,4$
Courtot, TX-305 0,1%	$43,5 \pm 0,5^b$	$523,6 \pm 6,9$
Courtot, TX-305 0,5%	$43,6 \pm 0,4^b$	$524,0 \pm 6,2$
Lyrik	$50,7 \pm 0,4^a$	$676,9 \pm 6,1$
Lyrik, TX-305 0,01%	$44,2 \pm 0,3^b$	$536,4 \pm 5,6$
Lyrik, TX-305 0,05%	$43,4 \pm 0,3^b$	$521,6 \pm 5,8$
Lyrik, TX-305 0,1%	$42,0 \pm 0,5^c$	$494,1 \pm 7,3$
Flamenko	$55,7 \pm 0,3^a$	$798,4 \pm 6,0$
Flamenko, TX-305 0,01%	$56,7 \pm 0,4^b$	$825,0 \pm 6,7$
Flamenko, TX-305 0,05%	$51,3 \pm 0,7^c$	$690,4 \pm 8,5$
Flamenko, TX-305 0,1%	$46,7 \pm 0,2^d$	$588,3 \pm 5,2$
Flamenko, TX-305 0,5%	$44,9 \pm 0,3^e$	$550,3 \pm 5,6$

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

У результаті факторного аналізу (табл. 3.7) ми встановили, що концентрація епімутагену впливала на такі досліджувані параметри, як схожість, виживаність, концентрація цукрів у вузлі кушення до та відразу після зимового періоду (як інтегральний показник зимостійкості), фотосинтетична активність.

Зі свого боку, генотипи досить різнилися за виживаністю, концентрацією цукрів у вузлі кушення перед зимою, фотосинтетичною активністю. Інші

параметри в цьому випадку не дають додаткової необхідної інформації. Це підтверджується значеннями змінних дискримінантного аналізу (табл. 3.7).

Але навіть незважаючи на те що значно менша кількість параметрів у нашому дослідженні залежить від генотипу вихідного сорту, показано вищу класифікаційну здатність об'єктів для ідентифікації мутагенної депресії (від 80 % до 100 %, залежно від генотипу) .

Таблиця 3.7

Навантаження факторів (Unrotated) та дискримінантні функції

Ознака	Концентрація	Генотип	Коефіцієнт Вілкса λ	F-remove (5,2)	p-level
Схожість	-0,86*	-0,44	0,018	14,0	< 0,01
Перед зимою	-0,69	0,04	0,010	4,9	< 0,01
Вживання	-0,91*	-0,85*	0,014	8,0	< 0,01
CS 11	-0,85*	0,87*	0,016	9,6	< 0,01
CS 02	-0,89*	0,40	0,002	2,2	0,08
CS 03	0,64	0,36	0,008	2,6	0,06
SPAD	-0,85*	-0,89*	0,016	9,3	< 0,01
Пояснена	4,75	1,97			
Непояснена	0,67	0,19			

У таблиці 3.8 наведено дані про прояв ефектів мутагенної депресії у структурних елементах врожайності рослин пшениці озимої у першому поколінні після епімутагенної дії TX-305. Варто наголосити, що стимулюючого ефекту на жодній із досліджуваних ознак не виявлено, крім показника МТЗ для сортів Співанка та Altigo, що є підтвердження таких унікальних можливостей для нижчої концентрації TX-305.

До таблиці внесено лише ті параметри, які виявляли належну мінливість під впливом хімічного агента та можуть бути використані як моніторингові показники для подальшого вивчення мутагенної депресії в першому поколінні. Не вказувалися параметри, які не проявили достатньої варіативності, такі як загальне та продуктивне кущення, довжина та кількість колосків для головного

колоса. Результати таблиці дають змогу ідентифікувати ключові структурні ознаки врожайності, чутливі до дії ТХ-305, що є основою для подальшого аналізу в наступних поколіннях.

Кількість зерна з головного колоса дуже змінювалася відповідно до зростання концентрації ТХ-305. Факторний аналіз за даними показав, що зростання концентрації ТХ-305 в цілому статистично достовірно не підвищувало депересійні ефекти за цією ознакою ($F=1,17$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,12$), а сам прояв ознаки статистично значуще не залежить від вихідного матеріалу ($F=1,08$; $F_{0,05}=3,07$; $P=0,11$).

Між контролем з обробкою водою та першою концентрацією (ТХ-305 0,01 %) для більшості сортів (Подільська, Співанка, Altigo, Flamenko) не було показано жодного значущого зниження даних або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,01$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,08$) без усяких винятків. Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,01$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$).

Між контролем та другою концентрацією (ТХ-305 0,05 %) для всіх досліджуваних генотипів не фіксували вагомого зниження ознаки. Ефекту стимуляції від дії епімутагену також немає ($F=2,01$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=1,05$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,13$). Між першим (ТХ-305 0,01 %) та другим (ТХ-305 0,05 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження ознаки або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=1,12$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,14$), навіть для сорту Flamenko ($F=2,06$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,08$).

Між контролем та третьою концентрацією (ТХ-305 0,1 %) для всіх досліджуваних генотипів не фіксували вагомого зниження ознаки. Ефекту стимуляції від дії епімутагену також немає ($F=2,04$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=1,07$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,13$). Між другим (ТХ-305 0,05 %) та третім (ТХ-305 0,1 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження ознаки або

ефекту епімутагенної стимуляції ($F=1,11$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,14$), навіть для сорту Flamenko ($F=2,00$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,09$).

Між контролем та четвертою концентрацією (ТХ-305 0,1 %) для досліджуваних генотипів фіксували вагоме зниження ознаки для сортів Подолянка, Співанка, Altigo. Ефекту стимуляції від дії епімутагену немає ($F=2,56$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,05$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,27$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,07$). Між третім (ТХ-305 0,1 %) та четвертим (ТХ-305 0,5 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження ознаки або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=1,15$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,13$), навіть для сорту Flamenko ($F=2,11$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,07$).

Висота рослини варіювала більш сильно та частково за дії вищих концентрацій статистично залежно залежала від збільшення кількості ТХ-305. Факторний аналіз показав, що підвищення концентрації ТХ-305 загалом статистично достовірно впливало на спостережувані ефекти за цією ознакою ($F=3,14$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,03$), але прояв таких ефектів статистично достовірно не залежить від вихідного матеріалу для обробки ($F=2,19$; $F_{0,05}=3,07$; $P=0,02$). Проте, за попарного порівняння варто дослідити динаміку змін за цим показником залежно від конкретного сорту та концентрації.

Між контролем з обробкою водою та першою концентрацією (ТХ-305 0,01 %) для більшості сортів (Подолянка, Співанка, Altigo, крім Flamenko) не було показано жодного значущого зниження даних або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,28$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,06$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,02$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$).

Між контролем та першою концентрацією (ТХ-305 0,01 %) для усіх досліджуваних генотипів не фіксували вагомого зниження ознаки, крім Flamenko. Ефекту стимуляції від дії епімутагену також немає ($F=2,02$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=1,06$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,13$). Між першим (ТХ-305 0,01 %) та другим (ТХ-305 0,05 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження

ознаки або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=1,99$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,09$), крім сорту Flamenko ($F=2,76$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,04$).

Між контролем з обробкою водою та другою концентрацією (ТХ-305 0,05 %) для більшості сортів (Подільянка, Співанка, Altigo, крім Flamenko) не було показано жодного значущого зниження даних або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,28$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,06$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,02$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$).

Таблиця 3.8

Параметри структури врожайності за дії ТХ-305

Варіант	Висота, см	Кількість зерен, шт.	Маса зерна, г		МТЗ, г
			з колоса	з рослини	
1	2	3	4	5	6
Подільянка, кт.	103,2 ^a	36,0 ^a	1,4 ^a	3,1 ^a	49,5 ^a
Подільянка, ТХ-305 0,01%	103,1 ^a	35,0 ^a	1,4 ^a	3,1 ^a	49,9 ^a
Подільянка ТХ-305 0,05%	98,9 ^a	34,0 ^a	1,3 ^a	2,9 ^a	49,6 ^a
Подільянка, ТХ-305 0,1%	97,9 ^{ab}	34,0 ^a	1,0 ^b	2,8 ^a	47,2 ^b
Подільянка, ТХ-305 0,5%	92,3 ^c	33,0 ^{ab}	1,0 ^b	2,4 ^b	45,7 ^c
Співанка, кт.	98,1 ^a	38,0 ^a	1,7 ^a	3,6 ^a	52,6 ^a
Співанка, ТХ-305 0,01%	98,5 ^a	37,0 ^a	1,8 ^a	3,5 ^a	54,9 ^b
Співанка, ТХ-305 0,05%	97,1 ^a	37,0 ^a	1,6 ^a	3,5 ^a	53,2 ^{ab}
Співанка, ТХ-305 0,1%	97,4 ^a	36,0 ^a	1,4 ^{ab}	3,0 ^b	50,0 ^c
Співанка, ТХ-305 0,5%	94,5 ^b	34,0 ^{ab}	1,4 ^{ab}	2,9 ^b	48,2 ^d
Altigo, кт.	74,2 ^a	37,0 ^a	1,9 ^a	3,9 ^a	54,0 ^a
Altigo, ТХ-305 0,01%	74,1 ^a	36,0 ^a	1,9 ^a	3,8 ^a	55,4 ^b
Altigo, ТХ-305 0,05%	72,9 ^a	36,0 ^a	1,8 ^a	3,6 ^a	54,2 ^a
Altigo, ТХ-305 0,1%	72,2 ^{ab}	34,0 ^{ab}	1,5 ^{ab}	3,1 ^b	51,1 ^c
Altigo, ТХ-305 0,5%	70,1 ^b	33,0 ^{ab}	1,4 ^b	2,7 ^c	45,2 ^d
Flamenko, кт.	77,9 ^a	32,0 ^a	1,1 ^a	2,7 ^a	45,5 ^a
Flamenko ТХ-305 0,01%	65,5 ^b	25,0 ^a	0,5 ^b	1,3 ^b	31,2 ^b
Flamenko, ТХ-305 0,05%	56,0 ^c	20,0 ^a	0,2 ^c	1,0 ^c	26,5 ^c

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

Між першою та другою концентрацією (ТХ-305 0,05 %) для всіх досліджуваних генотипів не фіксували вагомого зниження ознаки, крім

Flamenko. Ефекту стимуляції від дії епімутагену також немає ($F=2,02$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=1,06$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,13$). Між першим (ТХ-305 0,01 %) та другим (ТХ-305 0,05 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження ознаки або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=1,99$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,09$), крім сорту Flamenko ($F=2,76$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,04$).



Рис. 3.3. Досліди в стадії колосіння. Сорт Flamenko

Між контролем з обробкою водою та третьою концентрацією (ТХ-305 0,1 %) для більшості сортів (Подільянка, Flamenko, Altigo, крім Співанка) не було показано жодного значущого зниження даних або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,27$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,06$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,04$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$).

Між другою та третьою концентрацією (ТХ-305 0,1 %) для всіх досліджуваних генотипів не фіксували вагомого зниження ознаки, крім Flamenko. Ефекту стимуляції від дії епімутагену також немає ($F=2,07$; $F_{0,05}=2,49$;

$P=0,11$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=1,08$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,13$).

Між контролем з обробкою водою та четвертою концентрацією (ТХ-305 0,5 %) для всіх сортів (Подільянка, Altigo, Співанка) було показано значуще зниження даних або ефект епімутагенної депресії ($F=2,98$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,04$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,24$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,06$).

Між третьою та четвертою концентрацією (ТХ-305 0,5 %) для всіх досліджуваних генотипів фіксували вагоме зниження ознаки, крім Flamenko, який повністю загинув (рис. 3.4). Ефекту стимуляції від дії епімутагену також немає ($F=2,05$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=1,45$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$).

Параметр маси зерна з головного колоса варіював більш сильно та більш статистично достовірно залежав від зростання концентрації ТХ-305. Факторний аналіз за отриманими даними показав, що зростання концентрації ТХ-305 загалом статистично вірогідно мало вплив на прояв мутагенної депресії за цією ознакою ($F=5,10$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,01$), а сам прояв ефектів депресії статистично достовірно залежить від сорту ($F=3,09$; $F_{0,05}=3,07$; $P=0,05$).

Між контролем з обробкою водою та першою концентрацією (ТХ-305 0,01 %) для більшості сортів (Подільянка, Співанка, Altigo, крім Flamenko) не було показано жодного значущого зниження даних або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,18$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,07$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,03$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,10$).

Між контролем та першою концентрацією (ТХ-305 0,01 %) для всіх досліджуваних генотипів не фіксували вагшого зниження ознаки, крім Flamenko. Ефекту стимуляції від дії епімутагену також немає ($F=2,07$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,11$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=1,16$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,12$).

Між контролем з обробкою водою та другою концентрацією (ТХ-305 0,05 %) для більшості сортів (Подільянка, Співанка, Altigo, крім Flamenko) не

було показано жодного значущого зниження даних або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,13$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,07$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,01$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,10$).

Між першим (ТХ-305 0,01 %) та другим (ТХ-305 0,05 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження ознаки або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=1,99$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,09$), крім сорту Flamenko ($F=2,76$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,04$).



Рис. 3.4. Загибель сортів другої групи

Між контролем з обробкою водою та третьою концентрацією (ТХ-305 0,1 %) для більшості сортів (Подольнка, Співанка, Altigo, крім Flamenko) було показано значуще зниження даних або ефект епімутагенної депресії ($F=2,52$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,04$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену була значущою ($F=2,50$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,05$).

Між другим (ТХ-305 0,05 %) та третім (ТХ-305 0,1 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження ознаки або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,11$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,07$).

Між контролем з обробкою водою та четвертою концентрацією (ТХ-305 0,1 %) для сортів Подолянка, Співанка, Altigo було зафіксовано значуще зниження даних, але не ефект епімутагенної стимуляції ($F=2,90$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,02$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену була значущою ($F=2,67$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,04$).

Між третім (ТХ-305 0,1 %) та четвертим (ТХ-305 0,5 %) варіантами показано статистично достовірне зниження ознаки або ефекту епімутагенної депресії ($F=2,74$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,04$).

Параметр маси зерна з рослини варіював більш сильно та більш статистично достовірно залежно від зростання концентрації ТХ-305. Факторний аналіз за отриманими даними показав, що зростання концентрації ТХ-305 загалом статистично вірогідно мало вплив на прояв мутагенної депресії за цією ознакою ($F=5,10$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,01$), а сам прояв ефектів депресії статистично достовірно залежить від сорту ($F=3,09$; $F_{0,05}=3,07$; $P=0,05$).

Між контролем з обробкою водою та першою концентрацією (ТХ-305 0,01 %) для більшості сортів (Подолянка, Співанка, Altigo, крім Flamenko) не було показано жодного значущого зниження даних або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,00$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,08$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,01$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,08$).

Між контролем та першою концентрацією (ТХ-305 0,01 %) для усіх досліджуваних генотипів не фіксували вагомого зниження ознаки, крім Flamenko. Ефекту стимуляції від дії епімутагену також немає ($F=2,05$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,09$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=1,45$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,10$).

Між контролем з обробкою водою та другою концентрацією (ТХ-305 0,05 %) для більшості сортів (Подолянка, Співанка, Altigo) не було показано жодного значущого зниження даних або ефекту епімутагенної стимуляції

($F=2,23$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,06$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену не була значущою ($F=2,09$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,09$).

Між першим (ТХ-305 0,01 %) та другим (ТХ-305 0,05 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження ознаки або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,11$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,08$).

Між контролем з обробкою водою та третьою концентрацією (ТХ-305 0,1 %) для більшості сортів (Подільянка, Співанка, Altigo, крім Flamenko) було зафіксовано значуще зниження даних або ефект епімутагенної депресії ($F=2,50$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,05$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену була значущою ($F=2,50$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,05$).

Між другим (ТХ-305 0,05 %) та третім (ТХ-305 0,1 %) варіантами не показано якогось статистично достовірного зниження ознаки або ефекту епімутагенної стимуляції ($F=2,06$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,08$).

Між контролем з обробкою водою та четвертою концентрацією (ТХ-305 0,1 %) для сортів Подільянка, Співанка, Altigo було показано значуще зниження даних, але не ефект епімутагенної стимуляції ($F=2,80$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,03$). Мінливість за сортовою реакцією на дії епімутагену була значущою ($F=2,60$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,05$).

Між третім (ТХ-305 0,1 %) та четвертим (ТХ-305 0,5 %) варіантами показано статистично достовірне зниження ознаки або ефекту епімутагенної депресії ($F=2,56$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,05$).

Маса тисячі зерен (МТЗ) демонструвала значну варіативність, яка достовірно залежала від зростання концентрації ТХ-305. Підвищення концентрації хімічного агента (ТХ-305) статистично достовірно впливало на мінливість МТЗ ($F=6,14$; $F_{0,05}=2,49$; $P=0,02$), прояв ознаки значною мірою залежав від генотипу сорту ($F=6,19$; $F_{0,05}=3,07$; $P=0,01$). Для концентрації ТХ-305 0,01 % зафіксовано ефект стимуляції, що виділяється серед інших концентрацій, які переважно спричиняли депресію ознаки. Отже, МТЗ є чутливим показником до дії ТХ-305, зокрема до зміни його концентрації. Вплив

хімічного агента взаємодіє з генотипом сорту, що вказує на важливість врахування вихідного матеріалу в ході оцінки мутагенної дії.

Для визначення ваги та впливовості окремих параметрів на рівень прояву ефектів мутагенної депресії в популяції першого покоління сортів після дії ТХ-305 виконано дискримінантний аналіз (рис. 3.5, табл. 3.9). Аналіз враховував загальну мінливість матеріалу за всіма досліджуваними параметрами. Контроль та дія різних концентрацій ТХ-305 статистично достовірно вирізняються між собою.

Виявлено тенденцію до відсутності різниці між дією ТХ-305 у концентраціях 0,01 % та 0,05 %, а також між 0,1 % та 0,5 %. Водночас аналіз окремих параметрів демонструє, що для більшості об'єктів класифікації різниця між концентраціями все ж повинна бути, що підтверджується відстанями між центроїдами для більшості параметрів.

Дискримінантний аналіз дозволив виділити контрольні варіанти та варіанти під дією ТХ-305 та встановити параметри, які мають найбільшу вагу у впливі на рівень мутагенної депресії.

Результати аналізу вказують на те, що дія ТХ-305, особливо у концентраціях 0,1 % і 0,5 %, значно змінює досліджувані параметри. Однак спостережувані тенденції до відсутності різниці між окремими концентраціями потребують додаткових досліджень для точнішої інтерпретації. На основі аналізу достовірності факторного навантаження за канонічними функціями здійснено класифікацію досліджуваних ознак.

У ході дослідження підтверджено значущість таких параметрів, як висота рослин та маса тисячі зерен (МТЗ), які виявилися найбільш впливовими для оцінки ефективності досліджуваних умов. Водночас параметри, що стосуються маси зерна з головного колоса та маси зерна з рослини, виявилися статистично незначущими, що свідчить про їхню обмежену інформативність у цьому експерименті. Аналіз також показав, що реакція на дію речовини ТХ-305 значною мірою залежить від вихідного матеріалу, зокрема від сорту, що впливає на більшість оцінюваних параметрів.

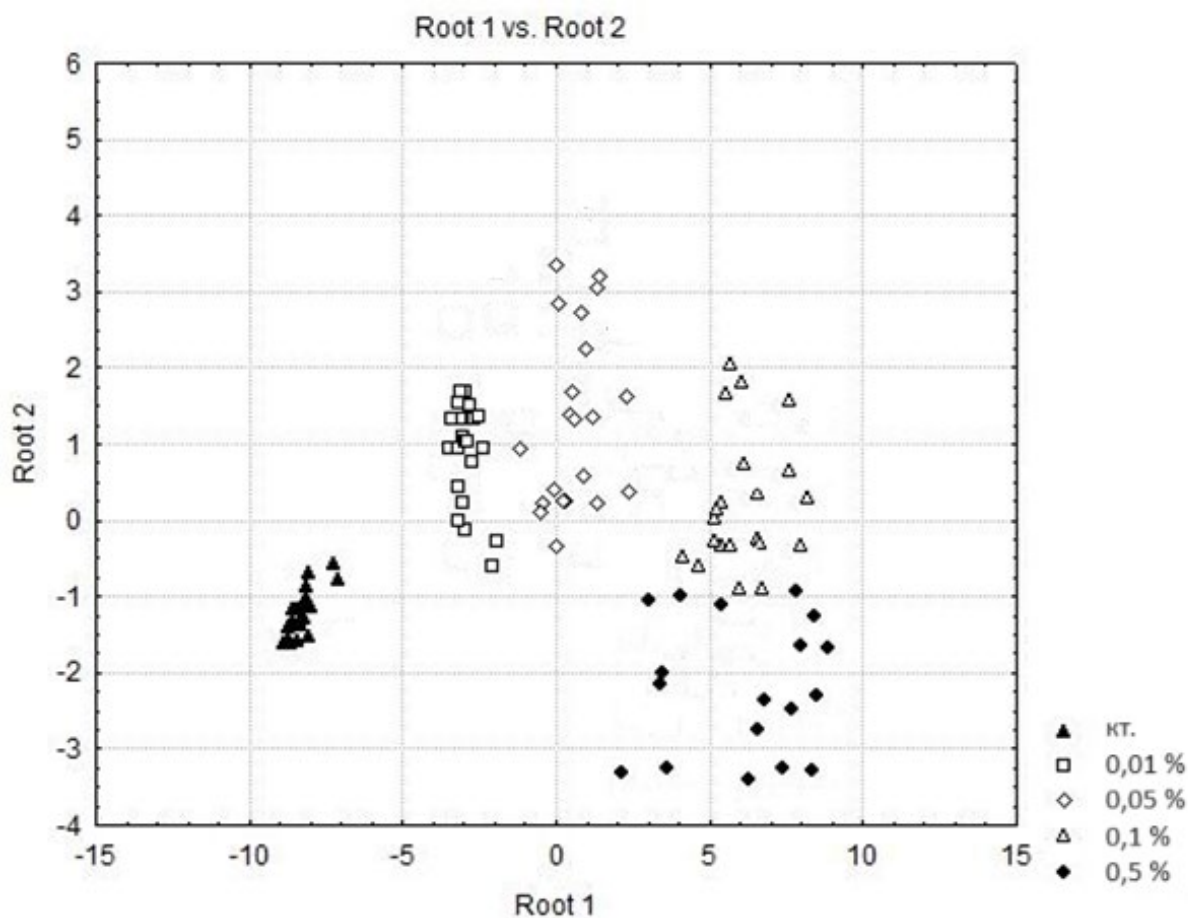


Рис 3.5. Результати класифікаційного аналізу канонічних функцій

Дослідження показало, що за проявом депресії за схожістю найбільш значно відрізнялися сорти Courtot та Lyrik. Водночас показники виживання суттєво відрізнялися від схожості для всіх досліджуваних варіантів, за винятком контролю (зокрема, у сорту Подолянка).

Комбінована дія мутагену ТХ-305 та несприятливих зимових умов виявилася значущою для більшості варіантів ($F = 21,05$; $F_{0,05} = 2,02$; $P < 0,01$). Менш толерантними до цих умов були сорти Courtot та Lyrik, що вказує на їхню підвищену чутливість до дії мутагену.

На окрему увагу заслуговує концентрація ТХ-305 0,05 %, яка демонструвала суттєві відмінності у впливі на різницю між схожістю та

виживанням ($F = 19,17$; $F_{0,05} = 2,87$; $P < 0,01$). Це вказує на її специфічний характер дії порівняно з іншими концентраціями.

Достовірними показниками мутагенної депресії в мутантній популяції є схожість та виживання. Ці параметри чутливо реагують на дію мутагену для всіх досліджуваних концентрацій. Вони поступово знижуються, починаючи з концентрації TX-305 0,05 %. Це свідчить про посилення негативного впливу епімутагену із зростанням концентрації.

Таблиця 3.9

Дискримінантний аналіз впливу зростання концентрації на дію TX-305 у першому поколінні рослин сортів пшениці озимої

Змінні в моделі	Коефіцієнт Вілкса λ	F-remove (4,11)	p-level
Висота, см	0,14	4,97	0,04
Загальна кущистість	0,01	1,03	0,20
Продуктивна кущистість	0,01	1,04	0,20
Довжина головного колоса	0,01	0,77	0,23
Кількість колосків	0,01	0,67	0,23
Кількість зерна з головного колоса	0,05	1,65	0,09
Маса зерна з головного колоса, г	0,14	4,14	0,05
Маса зерна з рослини, г	0,12	4,09	0,06
МТЗ, г	0,21	7,17	0,02

Щодо затримки під час проходження ключових фаз онтогенезу рослин пшениці озимої епімутантної популяції, то за низьких концентрацій TX-305 затримки не відбувалося, крім чутливих сортів, де спостерігалася значна віддалена загибель. За дії TX-305 0,05 % фази запізнювалися порівняно із контролем на 3-4 дні (сорта Подолянка, Співанка, Altigo), для сорту Flamenko такою була вже перша концентрація. Цей епігенетичний чинник за своєю активністю викликає проблеми з життєздатністю у пшениці залежно від сорту, а некоректне використання сортового матеріалу як вихідної форми може призвести до повної загибелі або неможливості отримання в достатній кількості рослинного матеріалу для подальшого дослідження.

Таблиця 3.10

Результати класифікації за генотипами (частина об'єктів за параметрами з попередньої таблиці в моделі для такого генотипу)

Сорт	Об'єктів у моделі, %
Співанка	100,00
Altigo	95,00
Подолянка	100,00
Courtot	40,00
Lyrik	43,33
Flamenko	80,00
Total	86,67

Ретельний аналіз показав, що сорти Flamenko та Співанка демонструють найкраще розташування порівняно з іншими сортами. Інші сорти показали трохи гірші результати, проте всі досліджувані класи потрапили до моделі з високим рівнем релевантності.

На рисунку 3.6 зображено розташування всіх досліджуваних сортів у факторному просторі. Аналіз свідчить про таке: сорти вітчизняної селекції та зарубіжні сорти утворюють дві окремі групи. Сорт Altigo займає перехідне положення, що може свідчити про його проміжний характер за досліджуваними параметрами.

Результати розташування сортів у факторному просторі підкреслюють суттєві відмінності між групами сортів залежно від селекційного походження. Перехідне положення сорту Altigo може вказувати на його специфічні генетичні чи фізіологічні особливості, що варто враховувати в подальших дослідженнях.

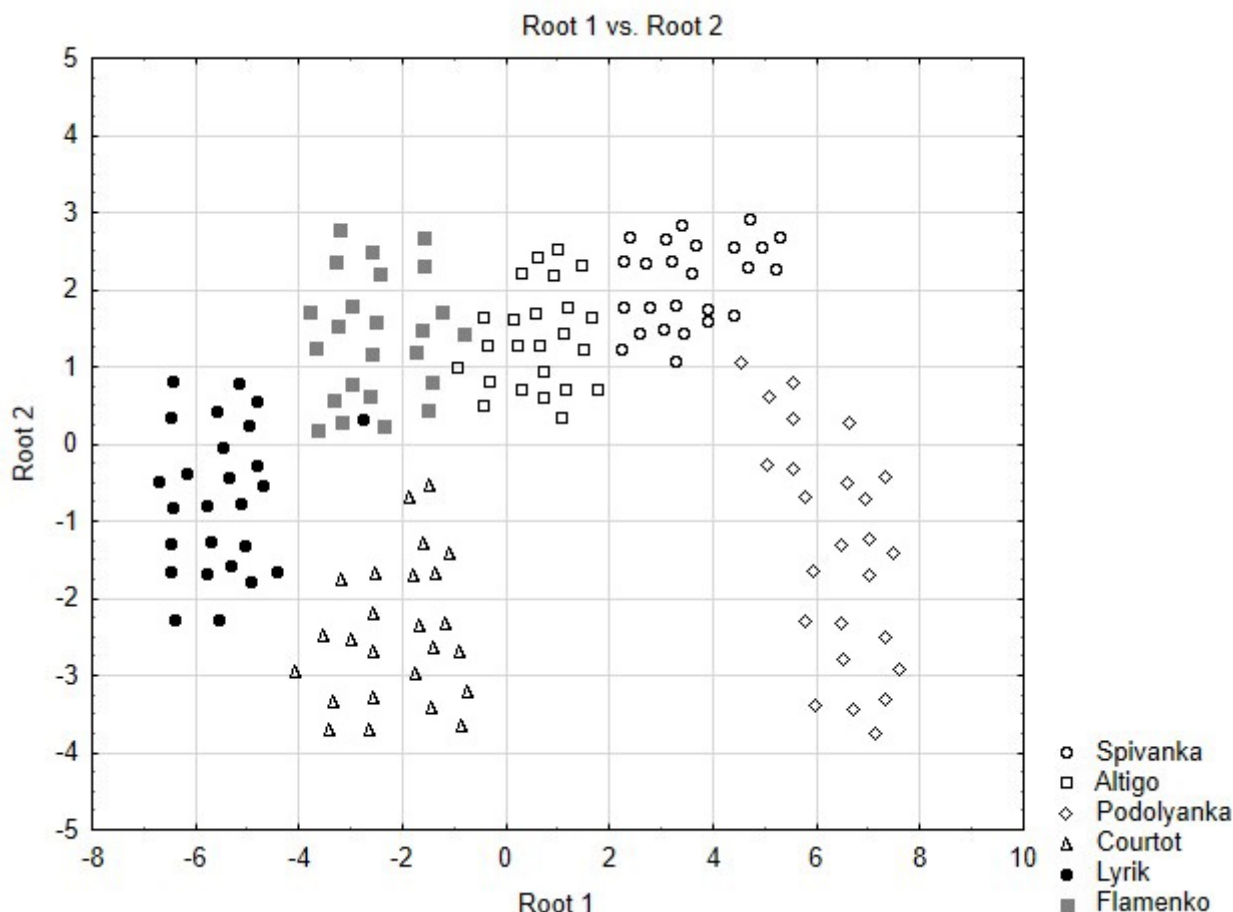


Рис. 3.6. Класифікація сортів за канонічними коренями

Цілком зрозуміло, що виокремлюються дві групи сортів: в одній групі сорти Співанка та Подолянка, в іншій – Courtot, Lyrik, Flamenko. Проміжне значення – Altigo.

Можна зауважити, що визначальним фактором у цьому випадку була пристосованість конкретного сорту до умов середовища, для яких створювалися сорти першої групи. Однак не можна сказати, що різні генотипи суттєво змішані в просторі аналізу. Усі вони утворюють досить чіткий окремий набір спостережуваних об'єктів.

Для сільськогосподарських культур загалом у вивченні формотворчого процесу за дії різних агентів завжди критичним показником як щодо окремих факторів, так і доз чи концентрацій є об'єм рослинного матеріалу, який вижив, що важливо для подальших досліджень з метою селекції та отримання генетично-цінного матеріалу. Для цих вузьких меж поєднання обох напрямів має особливе значення. По-перше, це генетично зумовлена стійкість до цих факторів

(існує кілька можливих систем, які відповідають за адаптивну реакцію в цій області), а по-друге, це несприятливий вплив зовнішніх факторів, що залежить, насамперед, від адаптивності цього матеріалу в конкретних умовах, умов вирощування і особливо важливий для озимих культур. Однак дуже перспективним є пошук як нових агентів, що викликають необхідні спадкові зміни, так і дослідження їхньої дії на максимально можливому матеріалі із залученням місцевих генетичних ресурсів і порівнянням отриманого ефекту з створено провідні світові центри генетичного вдосконалення цих культур

У деяких випадках такі дослідження допомогли виявити принципово нові механізми пристосувальних реакцій до несприятливих мутагенних впливів. Найбільше негативних наслідків спостерігається насамперед для першого покоління за одноразового впливу (за тривалого впливу цінність покоління знижується, а в разі хронічного впливу задіяні зовсім інші механізми генетичної регуляції). Особливе значення мають так звані малі ефекти, які призводять до значних змін у генотипі цього матеріалу (не завжди через зміни безпосередньо ДНК, а також епігенетичних механізмів контролю експресії). У зв'язку з цим особливого значення набувають речовини, менш травматичні для основи спадковості.

Вперше відзначена можливість стимулюючої дії однієї із цих речовин на ріст і розвиток, що раніше не було відзначено для епімутагенів. Однак негативний вплив на традиційні параметри з підвищенням концентрації все ще присутній.

Встановлено можливий новий критичний параметр для депресії в першому поколінні – інтенсивність фотосинтезу. Незважаючи на різноманітний характер першого покоління мутагенної депресії на всіх рівнях, ця частина окремо не вивчалася. Проте рівень такої активності у критичній для колосових культур фазі формування зерна може мати вирішальне значення для майбутньої продуктивності і, як наслідок, об'єму отриманої вибірки (що є критичним для ідентифікації модифікованих форм у наступних генераціях).

Крім того, існує декілька обмежень щодо кількості облікових параметрів несприятливої діяльності. До проходження критичного лютневого періоду вимірювання зимостійкості проводити не потрібно. Хоча це не означає відновлення активних ростових процесів озимої пшениці, але в осінньому періоді немає необхідності обліковувати загибель.

Принаймні в одному випадку досліджуваний агент мав надзвичайну спорідненість з обробленим матеріалом, що спричинило значне збільшення його несприятливої дії (що раніше не відзначалося), в іншому випадку це було більш критично у поєднанні з менш гнучкою загальною адаптованістю до умов вирощування, що цілком природно.

Застосування принципово нових типів хімікатів як агентів індукції біорізноманіття зернових – це можливість не тільки отримати нові зміни (або збільшення/зменшення частоти вже відомих) ознак урожаю, а й констатувати коригування геному в майбутньому і таким чином формувати нову архітектуру рослини, модель сорту. Проте головним моментом завжди були депресивні ефекти, які значно обмежували діапазон концентрацій використовуваних мутагенних факторів. Застосування епігенетичних агентів з можливістю зміни знака передусім за рахунок зміни білкового скелета по хромосомах у цьому випадку є вигідним насперед з позиції низької мутагенної депресії. Проте існує проблема необхідних змін з достатньою частотою в наступних поколіннях, тому наше подальше дослідження буде присвячено реєстрації та обліку наступних з них. Крім того, генотипова залежність у дії таких факторів є дуже високою, оскільки це було видно вже в першому циклі досліджень.

Висновки до розділу 3

1. За своєю дією TX-305 як екогенетичний чинник показав наявність вагомого ефекту значної віддаленої загибелі для усіх сортів, але доведено, що деякі генотипи за дії цього фактора демонструють повністю летальні наслідки. Навіть доволі стійкі сорти за дії TX-305 0,5 % продемонстрували ефект на рівні дії високих доз гамма-променів, тобто фактично були напівлетальними.

Вживання після зимового періоду є диференціальним фактором для класифікації сортів за придатністю до застосування цього епімутагену.

2. Надійним новим показником для моніторингу депресивних ефектів у першому поколінні можна вважати концентрацію цукрів у вузлі кущення протягом зимового періоду. Динаміка зміни цього показника відтворює не лише зимостійкість, але й негативний фізіологічний ефект дії епімутагену.

3. Виконання досліджень за показником фотосинтетичної активності в критичній фазі колосіння для популяції першого покоління показало, що цей показник надійно ідентифікує вплив кожної концентрації епімутагену, але залежить від вихідного матеріалу у своїй мінливості. Ураховуючи попередню загибель чутливих до дії сортів, параметр надійно відтворює депресійні ефекти першого покоління. Наявність значного ефекту стимуляції фотосинтетичної активності за дії ТХ-305 0,05 % має високу вірогідність.

4. Загалом застосовані в ході дослідження концентрації можна класифікувати таким чином: ТХ-305 0,01 % та 0,05 % – як помірні, ТХ-305 0,1 % та 0,5 % – як високі з переходом до напівлетальних в кожному окремому випадку. У деяких варіантах залежно від генотипу вихідного матеріалу можливі також повністю летальні наслідки застосування цього епімутагену через численні негативні фізіологічні ефекти.

6. Найбільш надійними моніторинговими параметрами, що відбивають негативні ефекти мутагенної дії в мутантній популяції першого покоління, є онтогенетичні показники схожості та загибелі рослин внаслідок зимового періоду, показники перезимівлі (концентрації цукрів у вузлі кущення), також надійно можна застосовувати масу тисячі зерен. Менш надійним можуть бути показники фотосинтетичної активності за умови їх визначення в стадії колосіння. Інші досліджені параметри недоцільно використовувати через низьку інформативність та варіативність. В окремих випадках за показниками вживання та МТЗ фіксували можливість виникнення ефекту стимуляції, який не властивий для епігенетичної дії.

7. Підвищення концентрації мутагену є найбільш вагомим фактором, що впливає на прояви мутагенної депресії. Вплив генотипу сорту також значущий, але в меншій кількості випадків порівняно з іншими чинниками, особливо за дії менш активних концентрацій епімутагену. Взаємодія між генотипом сорту та дією епімутагену проявляється сильно навіть для менш толерантних зразків. Ця взаємодія найбільше виражена за дії високих концентрацій епімутагену. В окремих випадках генотипепімутагенна взаємодія має позитивний ефект, що виражається в зниженні рівня депресії або прояві стимуляційного ефекту. Це свідчить про наявність індивідуальних особливостей генотипів, які можуть використовуватися для подальшого вивчення та добору як вихідного матеріалу.

Основні положення змісту цього розділу викладені в наукових працях:

1. Beiko V., Nazarenko M. Early depressive effects of epimutagen in the first generation of winter wheat varieties. *Agrology*. 2022. Вип. 5. С. 43–48. Режим доступу: <https://doi.org/10.32819/021106>
2. Beiko V., Nazarenko M. Influence of epimutagen (Triton x-305) on first stage of winter wheat plant vegetation. *Матеріали Всеукр. науково-практ. конф. здобувачів, молодих учених та спеціалістів* (Харків, 3 грудня 2021). Харків, 2021. С. 7–8.
3. Beiko V., Nazarenko M., Izhboldin O. SPAD activity as index of winter wheat plant mutagen depression. *Зб. матеріалів Міжнар. науково-практ. конф. «Селекція агрокультур в умовах змін клімату: напрями та пріоритети»*. Одеса : ІКОСГ НААН, 2022. С. 169–170.
4. Бейко В. С., Назаренко М. М. Негативна дія епімутагену на сорти пшениці озимої у першому поколінні як фактор мінливості ініціального матеріалу. *Матеріали VII Міжнар. науково-практ. конф. «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур»* (м. Дніпро, 21–22 листопада 2023 р.). Дніпро : ДДАЕУ, 2023. С. 35–36.

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ ДІЇ НА КЛІТИННОМУ РІВНІ

Виконано дослідження з вивчення особливостей дії епімутагену Тритон Х-305 концентрацією 0,01%, 0,05%, 0,1% та 0,5% на клітинному рівні, що означає спосіб виявлення життєздатності пилку рослин першого покоління та цитологічний аналіз. хромосомних аберацій у клітинах первинної меристеми зародкових корінців при пророщуванні насіння пшениці озимої. були проведені. Дослідження в цьому напрямку дозволяють як значно поліпшити моніторинг однотипних речовин у навколишньому середовищі, так і прогнозувати характер їх дії на рівні ДНК. Вивчено генотипи Подолянка та Співанка, створені українськими селекціонерами, та сорти французької селекції Altigo, Courtot, Lyrik, Flamenko. Ці генотипи були відібрані для того, щоб охарактеризувати можливі генотип-мутагенні взаємодії для утворення складної спадкової моделі для діапазону концентрацій з максимальним контрастом, беручи до уваги можливий високий сайтспецифічний ефект [58].

Основною метою цих досліджень було виявлення специфіки впливу агента Тритон Х-305 на клітинному рівні та визначення параметрів, які повною мірою демонструють вплив цієї речовини на подальшу індукцію біорізноманіття та посилення спадкової мінливості на клітинному рівні. Досліджено такі показники, як стерильність пилку під впливом різних концентрацій, загальна частота хромосомних перебудов, спектр хромосомних перебудов, включаючи фрагменти та подвійні фрагменти, одинарні та подвійні містки, мікроядра, відстаючі хромосоми [39, 40].

Дослідження не лише впливу окремих факторів спадкової мінливості на рівні всієї рослини відіграють важливу роль у сучасній екологічній генетиці та генотоксикології. Як правило, більш об'єктивними показниками початку мінливості є зміни на рівні хромосомного апарату клітини. Цитогенетичні дослідження можна виділити як невід'ємну частину експериментів, пов'язаних з вивченням першої генерації уражених відповідним чином рослин [41].

Аналіз подальших змін дає змогу визначити наслідки хромосомних перебудов, які настільки ж різноманітні, як і конкретні причини їх виникнення. Це можуть бути як наслідки дії канцерогенних речовин, так і спонтанні мутації онтогенезу. Це основні причини всіх генетичних і еволюційних змін, аж до генних мутацій (хоча ця природа взаємодії перебуває лише на першому рівні вивчення). Загалом хромосомні аномалії стали найточнішим інструментом ідентифікації як окремих хромосом, так і генів, клітинного ядра та його компонентів [37, 38].

Основним біомаркером прояву природи впливу різноманітних агентів на живий організм на клітинному рівні вже досить давно визначені хромосомні аберації. На ріст і розвиток рослин впливають численні структурні аберації. Рівень спонтанних хромосомних аберацій для будь-якої живої істоти зазвичай досягає 0,6 %, але це сильно залежить від структури геному. Хромосомний аналіз спонтанних аберацій показує, що майже в 50 % випадків викидень ембріонів відбувається через них. Багато спадкових змін безпосередньо пов'язані з ділянками хромосом, для яких характерна висока ймовірність таких змін. Сучасні дослідження показують високий рівень зв'язку між частотою спонтанних хромосомних аберацій у популяції та рівнем мутації. Ці спостереження підкреслюють важливість розуміння механізмів, залучених до виникнення хромосомних аберацій [19, 22, 98].

Зміни в структурі й кількості хромосом можуть бути викликані як зовнішніми, так і внутрішніми факторами. Хромосомні зміни, що призводять до мутацій, вперше були описані для роду *Oenothera*. Подальші дослідження деяких видів рослин показали, що ці зміни є складним набором транслокацій. Але ще раніше дослідження інших об'єктів довели, що інші типи змін (зокрема, парацентричні інверсії) досить часто є більш вірогідними причинами спадкових змін, ніж набагато більш рідкісні транслокації, хоча цей тип змін є більш перспективним для культурних рослин. Уже на ранніх стадіях досліджень стало зрозуміло, що хромосомні аберації відіграють істотну роль в еволюції живих організмів. Вивчення хромосом рослин у пахітені дозволило встановити, що такі

види перебудов, як делеції, дуплікації, інверсії та транслокації, мають складний і комплексний характер [24, 25, 97].

Два явища безпосередньо пов'язані з індукцією хромосомних аберацій – це так звана адаптивна відповідь і нестабільність геному. Адаптивну реакцію вперше було продемонстровано на мутаціях у бактерій, а пізніше таке саме явище було виявлено в інших об'єктах. Особливо це характерно для фізичних мутагенів. Хоча існують гіпотези щодо механізмів цього явища, остаточного обґрунтування цього ефекту немає. Що стосується нестабільності геному, то існує феномен, який безпосередньо пов'язаний з природою генотипу конкретної особини, очевидно, з наявністю високоваріабельних локусів. Механізм явища не зовсім зрозумілий, оскільки він не пояснюється жодними з основних принципів радіобіології та генотоксикології, такими як залежність від дози (концентрації), природи мутагену або взаємодії мутаген–генотип [34, 96].

Рослини як об'єкт цього виду досліджень, на відміну від інших модельних об'єктів, дають змогу вивчати типи та частоти хромосомних перебудов безпосередньо під час першого після обробки мітотичного поділу. Вважають, що основними факторами, що впливають на залежність реакції від дії мутагену, є різниця в генотипі вихідної форми, розмір хромосом, активність систем репарації і тривалість мітотичного циклу. Крім того, генетична активність злаків змінюється буквально декілька разів залежно від наявності відповідних систем генетичної стійкості, з яких на сьогодні відомо лише кілька основних [91, 92].

Метою дослідження було встановити наслідки дії епігенетичної речовини на рівні рослинної клітини для порівняння зі звичайними фізичними мутагенами та хімічними супермутагенами, встановити мінливість окремих параметрів, можливості моделювання та прогнозування процесу, а також придатність класичних методів дослідження епімутагенів.

Польові досліді висівали на полі кафедри селекції та насінництва Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Пілок для аналізу відбирали з добре розвинених головних колосків рослин першої генерації

сортів, які були піддані мутагенній дії у фазі цвітіння. Відібрано та досліджено 25 проб.

Насіння м'якої пшениці шести сортів (по 1000 насінин у кожному варіанті обробки та в контролі) замочували у водному розчині епімутагену Тритон X-305 у концентраціях 0,01 %, 0,05%, 0,1% і 0,5%. Експозиція кожного з варіантів становила 36 годин, що відповідає загальноприйнятій методиці застосування хімічних мутагенів. Більш контрастні концентрації цього агента були визначені за даними попередніх досліджень речовин подібної природи з метою виявлення меж переходу щодо виживання та мінливості матеріалу та визначення кривої дії концентрацій у майбутньому. Контроль замочували в дистильованій воді.

Усього оброблено 30 варіантів сортів Подолянка, Співанка (української селекції), Altigo (Лемагрен, Франція), Courtot, Lyrik, Flamenko (INRA, Франція). Генотипи підбирали таким чином, щоб максимально охарактеризувати можливу генотипмутагенну взаємодію з урахуванням високої сайт-специфічності хімічних агентів.

Виконано лабораторні дослідження на визначення ступеня фертильності пилкових зерен та цитологічний аналіз хромосомних аберацій. Стерильність пилку визначали за заплідненням ацетокарміном та його інтенсивністю у світловому мікроскопі. Для усіх зразків переглядають не менше 25 препаратів.

Здійснено цитологічні дослідження мітозів первинних коренів пшениці протягом першої години проходження пізньої метафази та ранньої анафази для всіх типів у лабораторних умовах. Після обробки мутагенами їх пророщували в чашках Петрі на фільтрувальному папері, змоченому дистильованою водою, у термостаті за температури +25 °C. Потім центральний стрижень на глибину 0,8-1,0 см фіксували у фіксаторі Кларка, який складається з 3 частин 96 % спирту та 1 частини оцтової кислоти, з витримкою 24 роки. Фіксаційний матеріал відбирали в 70 % спирті за температури +2 °C у холодильнику. Для скін-версії фіксували 25-30 коренів. Цитологічні аналізи проводили на препаратах тимчасового тиску, виготовлених з ацетокарміном. Тканини мацерували 45 % оцтовою кислотою. Препарати готували за стандартною методикою. Коріння

відбирали в 70 % спирті в холодильнику. Для додаткового методу можлива фіксація поодиноких пар фрагментів, дицентричних хромосом, мікроядер і змішаних хромосом. Препарати у 600-кратному збільшенні досліджували під світловим мікроскопом Micromed XS-3330 (Micromed, Полтава, Україна) з камерою 5М. Зразок складався з принаймні 1000 клітин на відповідних стадіях мітозу для кожного варіанта (Spencer-Lopes et al, 2018; Oney-Birol and Balkan, 2019). Статистичну обробку результатів проводили в Statistica 10.0. (TIBCO, Пало-Альто, США). Значення в таблицях подано як $x \pm SD$ (середнє значення + - стандартне відхилення). Відмінності між відборами визначали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) і вважали достовірними за $P < 0,05$. Нормальність розподілу даних перевіряли за допомогою W-критерію Шапіро–Вілка. Відмінності між зразками оцінювали за допомогою тесту Тьюкі HSD.

Перший етап дослідження дії епімутагену ТХ-305 на клітинному рівні передбачав відбір зрілих пиляків (використовували середні колоски з головного колоса з нормальним розвитком) з подальшим мікроскопуванням та визначенням співвідношення фертильних і стерильних пилькових зерен (табл. 4.1). Загальний аналіз даних показав, що зниження плодючості зі збільшенням концентрації є поступовим лінійним процесом для всіх сортів ($r = 0,87$), проте відбувається з різними кроками і для трьох сортів (Courtot, Lyrik, Flamenko) характеризується різким спадом життєздатності при переході від концентрації 0,1 % до концентрації 0,5 %. Загалом для експерименту дані змінювалися залежно від генотипу та концентрації епімутагену зі статистичною значущістю (генотип $P = 0,0013$; $F = 4,08$; $F_{0.05} = 2,71$; концентрація $P = 0,0034$; $F = 11,06$; $F_{0.05} = 2,86$).

Слід зауважити, що зростання стерильності за дії хімічних агентів є одним з основних чинників, що обмежує ефективність протоколів експериментального мутагенезу. Ураховуючи високу специфічність епігенетичної дії варто чекати вагомих особливостей щодо взаємодії з окремими сортами, що й показано в даній таблиці за дуже високим (Courtot та Lyrik) та високим (Flamenko) рівнями стерильності у сортів селекції ІНРА.

Контроль демонструє, що рівень фертильності приблизно однаково високий для усіх сортів, з деякою різницею для сорту Flamenko, у якого він статистично достовірно дещо нижчий ($P = 0,03$; $F = 5,22$; $F_{0,05} = 3,01$). Тобто вихідний матеріал повністю відповідний для проведення досліджень та має гарантовано високу якість.

За дії ТХ-305, 0,01% рівень фертильності варіював від 88,1 % до 99 %, причому концентрація вплинула лише на сорти селекції ІНРА, та й то частково. Таким чином, ми спостерігали поступове зниження фертильності у частини матеріалу за відсутності стимуляційного ефекту (ураховуючи високий рівень фертильності вихідного матеріалу, можливо, він мав прихований характер, оскільки відзначався у першому поколінні за іншими параметрами онтогенезу).

Таблиця 4.1

Фертильність пилку за епімутагенної дії ($\bar{x} \pm SD$, $n = 10$)

Сорт	Контроль	ТХ-305, 0,01%	ТХ-305, 0,05%	ТХ-305, 0,1%	ТХ-305, 0,5%
Співанка	$99,1 \pm 1,0^a$	$98,3 \pm 0,7^a$	$92,3 \pm 1,2^b$	$84,7 \pm 1,1^c$	$78,4 \pm 1,1^d$
Altigo	$99,1 \pm 0,6^a$	$99,0 \pm 0,8^a$	$90,0 \pm 0,6^b$	$87,6 \pm 0,5^c$	$79,6 \pm 1,9^d$
Подольнка	$99,1 \pm 0,9^a$	$98,8 \pm 0,6^a$	$91,9 \pm 0,8^b$	$89,1 \pm 2,9^b$	$80,2 \pm 2,1^c$
Courtot	$98,1 \pm 0,6^a$	$90,0 \pm 1,1^b$	$74,2 \pm 2,8^c$	$52,1 \pm 4,1^d$	$0,0 \pm 0,0^e$
Lyrik	$99,3 \pm 1,0^a$	$88,1 \pm 1,0^b$	$64,1 \pm 3,9^c$	$39,1 \pm 5,6^d$	$0,0 \pm 0,0^e$
Flamenko	$96,1 \pm 1,1^a$	$96,0 \pm 0,7^a$	$82,4 \pm 2,9^c$	$66,9 \pm 3,4^d$	$25,0 \pm 3,6^e$

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

За дії ТХ-305 0,05% рівень фертильності варіював від 64,1 % до 92,3 %, починає спостерігатися негативний вплив без залежності від сорту, але це значення є початком стрімкого падіння життєздатності для сортів Courtot та Lyrik і є менш значущим для сорту Flamenko. Якщо для останнього відбулося зниження приблизно на десяту частину, то в другого рівень фертильності знизився на чверть, а в сорту Lyrik майже на третину, тому ця концентрація для останнього з генотипів вже є критичною та призводить фактично до рівня РД50. Як видно з даних, концентрація ЛД50 для цього самого сорту лежить у діапазоні

від другої до третьої концентрації. Таким чином, на цьому рівні явно демонструється епігенетична сайтспецифічність.

За дії ТХ-305 0,1% рівень фертильності варіював від 39,1 % до 89,1 %, продовжується негативний вплив без залежності від сорту, спад життєздатності для сортів Courtot та Lyrik, менш значимо для сорту Flamenko. Для останнього відбулося зниження приблизно на чверть, у другого рівень фертильності досягнув рівня ЛД50, а в сорту Lyrik знов більш ніж на третину, тому ця концентрація для останнього з генотипів знов є критичною та нижчою за рівень ЛД50. Як видно з даних, концентрація ЛД50 для сорту Flamenko перебуває в діапазоні від третьої до четвертої концентрації. Таким чином, на цьому рівні явно демонструється епігенетична сайтспецифічність.

За дії ТХ-305 0,1% рівень фертильності варіював від 0,0 % до 80,2 %. Таким чином щодо дії на сорти першої групи – її можна віднести до помірної, фактично значне зниження відбувається лише за третьої-четвертої концентрації та без досягнення значущого з позиції отримання плодючого рослинного матеріалу в достатній кількості. У той же час для сортів другої групи різке зниження життєздатності відбувалося по досягненню вже другої концентрації, причому для двох сортів дія цього чинника виявилася повністю летальною, що свідчить про вагому сайтспецифічність та підтверджує епігенетичну природу змін, що призвели до таких наслідків.

Інакше кажучи, застосовувати цей чинний має сенс лише після моніторингового дослідження. У будь-якому випадку, це можна встановити вже на рівні онтогенезу рослин першого покоління, але подальше дослідження цитогенетичних параметрів покаже, чи можлива така ідентифікація на генетичну токсичність існуючими лабораторними методами.

Таким чином, у більшості сортів (окрім Courtot та Lyrik) під дією ТХ-305 0,01% не відбулося суттєвого підвищення стерильності (для першої групи $P = 0,19$; $F = 2,17$; $F_{0.05} = 2,94$; для Courtot і Lyrik $F = 29,17$; $P = 0,00021$; $F_{0.05} = 3.01$). Загалом з індикаторами росту та розвитку відбувається приблизно те саме, що й у попередніх дослідженнях. За дії ТХ-305 0,05% зниження плодючості є

статистично значущим для всіх сортів ($P = 0,012$; $F = 7,20$; $F_{0,05} = 4,66$), для сортів Courtot і особливо Lyrik воно вже є надзвичайно значущим, фактично, на чверть-третину оригіналу. Третя концентрація достовірно знижувала плодючість для всіх сортів ($P = 0,02$; $F = 4,68$; $F_{0,05} = 3,17$), за винятком Подолянки ($P = 0,17$; $F = 2,09$; $F_{0,05} = 3,24$). Для сортів Courtot і Lyrik ця концентрація вже напівлетальна, у сорту Flamenko починається надзвичайно різкий спад плодючості, майже на 16 %. Під дією концентрації TX-305 0,5 % у всіх випадках відбувається значне зниження фертильності пилку ($P = 0,00012$; $F = 7,99$; $F_{0,05} = 2,88$), для сортів Courtot і Lyrik ця концентрація вже повністю летальна. Для сорту Flamenko маємо ще більш різке зниження плодючості, фактично показник знизився втричі.

За сортами можна встановити таку динаміку: для сортів Співанка, Altigo та Подолянка поступове, не завжди значне зі збільшенням концентрації підвищення стерильності; загальне зниження суттєве, але не більше ніж 20 % від контролю. Сорти Courtot і Lyrik характеризуються суттєвими змінами цього параметра навіть за використання мінімальної концентрації, з подальшим дедалі контрастнішим і різким спадом при наступних концентраціях. Сорт Flamenko спочатку демонструє велику схожість з першою групою сортів, проте після досягнення концентрації TX-305 0,1 % підвищення стерильності стає все більш різким і, по суті, цей генотип займає проміжне положення в реакції між першою і другою групами.

Таким чином, уразливість показника співвідношення фертильних і стерильних зерен вже за першої концентрації виявляє більш вразливі генотипи, хоча це не абсолютно (Flamenko), пізніше здатні також виявляють вищу стерильність при наступних концентраціях. Однак більшість сортів показали вищу плодючість, і зниження, зрештою, важко назвати критичним (лише близько 20 %). Ймовірно, цей засіб дуже залежить від особливостей генотипу, на який він діє. Раніше це не було вказано для різних хімічних речовин, які використовуються для індукції спадкової мінливості.

Варіабельність матеріалу за загальною частотою хромосомних перебудов показала (табл. 4.2), що збільшення концентрацій загалом призводить до

значного збільшення частоти хромосомних аберацій ($P = 2,1 \cdot 10^{-12}$; $F = 78,29$); $F_{0,05} = 2,86$). Проте щодо відмінностей між сортами тест Тьюкі продемонстрував недостовірність отриманого результату й не можна стверджувати, що, незважаючи на дещо вищу частоту для другої групи сортів (Courtot, Lyrik і Flamenko), вони якимось істотно відрізняються від сортів першої групи (Співанка, Altigo, Подолянка), менш сприйнятливі до дії епімутагену. Таким чином, для цього показника ми змушені відкинути гіпотезу про істотні відмінності у впливі на хромосомний апарат клітини.

У контролі частота хромосомних перебудов приблизно така сама, як і для інших сучасних сортів у разі спонтанних змін у попередніх дослідженнях. Для всіх досліджених сортів рівень випадкових порушень внаслідок мітозу приблизно був на одному рівні, без суттєвих варіацій, хоча у вітчизняних сортів він був ненабагато вищим.

У випадку фактора концентрації загальна частота хромосомних аберацій зростає більш-менш лінійно зі збільшенням концентрації епімутагену ($r = 0,93$). Так, для всіх випадків при першій концентрації ТХ-305 0,01 % у всіх випадках частота хромосомних аберацій вірогідно відрізнялася від контролю ($P = 0,00023$; $F = 18,16$; $F_{0,05} = 3,11$); найбільше вона зросла у сортів Courtot, Lyrik.

Таблиця 4.2

Загальна частота хромосомних аберацій ($x \pm SD$)

Варіант	Мітозів, шт	Аберацій	
		шт	%
Співанка	1011	10	$0,9 \pm 0,1^a$
Співанка, ТХ-305 0,01%	1010	16	$1,5 \pm 0,2^b$
Співанка, ТХ-305 0,05%	1009	40	$3,9 \pm 0,1^c$
Співанка, ТХ-305 0,1%	1007	51	$5,0 \pm 0,2^d$
Співанка, ТХ-305 0,5%	1014	61	$6,0 \pm 0,3^e$
Подолянка	1005	8	$0,8 \pm 0,2^a$
Подолянка, ТХ-305 0,01%	1009	19	$1,8 \pm 0,2^b$
Подолянка, ТХ-305 0,05%	1012	28	$2,7 \pm 0,2^c$
Подолянка, ТХ-305 0,1%	1017	49	$4,8 \pm 0,2^d$
Подолянка, ТХ-305 0,5%	1004	54	$5,3 \pm 0,2^d$

Lyrik	1006	9	$0,8 \pm 0,1^a$
Lyrik, TX-305 0,01%	1004	32	$3,1 \pm 0,4^b$
Lyrik, TX-305 0,05%	1003	56	$5,5 \pm 0,3^c$
Lyrik, TX-305 0,1%	1011	68	$6,7 \pm 0,4^d$
Lyrik, TX-305 0,5%	1017	89	$8,7 \pm 0,8^e$
Altigo	1001	10	$1,0 \pm 0,3^a$
Altigo, TX-305 0,01%	1004	21	$2,0 \pm 0,1^b$
Altigo, TX-305 0,05%	1015	28	$2,7 \pm 0,4^b$
Altigo, TX-305 0,1%	1017	44	$4,3 \pm 0,3^c$
Altigo, TX-305 0,5%	1011	50	$4,9 \pm 0,3^c$
Courtot	1001	7	$0,7 \pm 0,1^a$
Courtot, TX-305 0,01%	1002	36	$3,5 \pm 0,1^b$
Courtot, TX-305 0,05%	1007	45	$4,4 \pm 0,4^c$
Courtot, TX-305 0,1%	1011	61	$6,0 \pm 0,3^d$
Courtot, TX-305 0,5%	1015	80	$7,8 \pm 0,6^e$
Flamenko	1008	6	$0,6 \pm 0,2^a$
Flamenko, TX-305 0,01%	1014	25	$2,4 \pm 0,2^b$
Flamenko, TX-305 0,05%	1011	34	$3,3 \pm 0,3^c$
Flamenko, TX-305 0,1%	1003	58	$5,7 \pm 0,2^d$
Flamenko, TX-305 0,5%	1005	72	$7,1 \pm 0,4^e$

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

Перехідними між групами були значення в сортів Flamenko та Altigo, відносно більш стабільно проявили себе сорти Подолянка та Співанка, хоча говорити про доведену відмінність між окремими сортами не можна. Варто зауважити, що рівень мінливості за активності цієї концентрації був нижчим від звичайної для слабких хімічних супермутагенів, але все ж таки вагомо переважав контроль, що зі свого боку показує, що зміни в білковій частині хромосомного апарату вірогідно впливають і на показники загальної цитогенетичної мінливості.

Під дією концентрації TX-305 0,05 % частота перебудов хромосомного апарату знову суттєво зростає для всіх варіантів ($P = 0,00017$; $F = 9,07$; $F_{0,05} = 2,23$) і знову спостерігається така сама картина, за винятком сорт Altigo, у якого частота аберацій відрізняється від контролю за цих умов ($P = 0,0006$; $F = 14,28$; $F_{0,05} = 2,64$), але не відрізняється від попередньої концентрації ($P = 0,16$; $F = 2,01$; $F_{0,05} = 3,11$). Таким чином, зв'язок між уже заявленими ефектами на

онтогенетичному рівні та цитогенетичною мінливістю вже втрачається на етапі дії другої концентрації, доволі значуще зростає рівень мінливості у сортів Подолянка та Співанка, різниця між сортами знижується, але все ж таки з високим рівнем сорти Courtot та Lyrik ще більше відрізняються від інших, темпи росту частоти аберацій не знижуються.

Під дією концентрації TX-305 0,05 % частота аберацій знову суттєво зростає для всіх варіантів ($P = 0,00017$; $F = 9,07$; $F_{0.05} = 2,23$) і знову спостерігається така сама картина, за винятком сорт Altigo, у якого частота аберацій відрізняється від контролю за цих умов та першої концентрації ($P = 0,0006$; $F = 14,28$; $F_{0.05} = 2,64$), але не відрізняється від попередньої концентрації ($P = 0,16$; $F = 2,01$; $F_{0.05} = 3,11$). Картина знову змінюється, оскільки різниці між більш чутливими сортами та сортом Співанка вже немає.

Тобто зі збільшенням концентрації чинника епігенетичні ефекти, пов'язані зі специфічністю дії на окремі генотипи, суттєво знижуються, хоча деяка диференціація все ж таки зберігається. Таким чином, не можна говорити, що цитогенетичні ефекти мають достатню моніторингову силу для визначення генотипів, які надалі будуть демонструвати залежно від дії епігенетичного чинника знижену життєздатність. Тобто застосування цього методу для ідентифікації таких сортів не можливе.

Водночас за кількістю перебудов на цьому рівні TX-305 вже починає відповідати очікуваному для слабких хімічних класичних супермутагенів, хоча й зрозуміло, що ці ефекти викликані не пошкодженнями ДНК, як у випадку, наприклад ДАБ, або нітрозоетилсечовин, інших речовин-алкілувальних агентів.

Вплив четвертої концентрації TX-305 0,5% призводить до суттєвих відмінностей від усіх варіантів для всіх сортів ($P=0,00082$; $F=7,34$; $F_{0.05} =2,89$). Активність екстремальної концентрації статистично достовірно перевищує попередні варіанти для всіх сортів, за винятком випадків з Altigo та Подолянкою, де частота хромосомних аберацій не відрізняється від дії попередньої концентрації. Знову чітко виокремлюються дві групи сортів,

причому більш стійкі відрізняються від групи сортів ІНРА зі статистичною достовірністю.

Загалом, навіть дія останньої концентрації не повинна призводити до суттєвих проблем через функціонування генетичного апарату клітини та за зіставних значень для дії мутагенних чинників навіть фізичного характеру не спостерігалось такого стрімкого наростання загибелі або зниження фертильності. Таким чином, онтогенетичні ефекти, які ми бачимо, явно пов'язані із суто фізіологічними ушкодженнями та післядією епігенетичного чинника, тобто мають іншу природу. Безпосередньо ж вплив цього чинника на хромосомний апарат суттєво слабший, на рівні помірних концентрацій хімічних класичних супермутагенів.

Необхідно зауважити також, що попередніми дослідниками, які вивчали матеріал з неполіфункціональними активними групами або детергентом з нижчим ступенем полімерності (у хімічному сенсі), цей ефект не відзначався, хоча й було доведено, що активність таких чинників призводить до спостережуваних явищ у разі застосування методів генетичного та цитогенетичного аналізу, тобто ефекти здатні вагомо впливати на експресію генетичного апарату.

Ідентифікація цього явища робить менш прогнозованим застосування факторів такого типу для отримання значущої спадкової мінливості та в перспективі може вплинути не лише на обсяг отриманої мутантної популяції, але й на спектр спадкової мінливості, можливо, потенційно суттєво його розширити за рахунок дії на менш сприйнятливі до мінливісної активності діючих чинників ділянки хромосом. Тобто, можлива більша спрямованість до виникнення рідкісних варіантів спадкових змін вже за дії низьких концентрацій епімутагену.

Так, під час аналізу загальної частоти хромосомних аберацій за активністю періодично виділяються Altigo і меншою мірою Подолянка, у яких концентрації не завжди були контрастними, але, як зазначалося вище, цього було недостатньо для істотних відмінностей. Загальна частота хромосомних

аберацій варіює від 0,60 % (Flamenko) – 1,00 % (Altigo) у контролі до 4,95 % (Altigo) – 8,75 % (Lyrik) при концентрації TX-305 0,5 %. Загалом сорт Altigo менш мінливий; сорти Courtot і який демонструють великі межі варіації цього показника. Він менш контрастний, ніж у випадку фертильності пилку. Як встановлено, позначаються особливості дії цієї речовини (епімутагену), його низька ушкоджувальна здатність саме в аспекті дії на генетичний апарат клітини.

Таким чином, цитогенетичний аналіз можливо використовувати для визначення самого факту дії та зростання активності чинника (через зростання концентрації), але він не може показати вірогідно особливості генотипепімутагенної взаємодії й класифікація отриманого матеріалу призводить до іншої диференціації за сортами, можливі проміжні значення отриманих показників.

За спектром хромосомних аберацій вивчали такі типи перебудов, як фрагменти (одиначні та подвійні), мости (хроматидні та хромосомні), інші перебудови, більш рідкісні (мікроядра, відстаючі хромосоми), клітини на відповідних стадіях мітозу з двома і більше абераціями одночасно (табл. 4.3 і 4.4). Кожна перебудова враховувалась як окремий випадок; частоту розраховували по відношенню до загальної кількості перебудов у цьому варіанті.

У контролі перебувають переважно прості перебудови за типом міст або фрагменти, інші типи аберацій трапляються як поодинокі випадкові явища. Також для визначення пріоритетів в індукції окремих типів перебудов використовували індекс відношення кількості фрагментів до кількості мостів, який зазвичай є індикатором характеру впливу на хромосомний апарат клітини, як правило, за дії фізичними мутагенними чинниками передують мости, за дії хімічних чинників – фрагменти.

Параметри спектрів хромосомних аберацій, TX-305 ($x \pm SD$, $n \approx 1000$)

Варіант	Фрагменти		Мости		Відношення	Інші		Множинні	
	шт	%	шт	%		шт	%	шт	%
Співанка									
Вода	4,0 ^a	40,0	5,0 ^a	50,0	0,8	1,0 ^a	10,0	0,0 ^a	0,0
0,01%	8,0 ^b	50,0	6,0 ^a	37,5	1,3	2,0 ^a	12,5	1,0 ^b	6,3
0,05%	24,0 ^c	60,0	10,0 ^b	25,0	2,4	6,0 ^b	15,0	2,0 ^b	5,0
0,1%	29,0 ^d	56,9	11,0 ^b	21,6	2,6	11,0 ^c	21,5	4,0 ^c	7,8
0,5%	28,0 ^d	45,9	14,0 ^c	22,9	2,0	19,0 ^d	31,1	3,0 ^{bc}	4,9
Altigo									
Вода	5,0 ^a	50,0	4,0 ^a	40,0	1,3	1,0 ^a	10,0	0,0 ^a	0,0
0,01%	14,0 ^b	66,7	6,0 ^a	28,6	2,3	1,0 ^a	4,76	1,0 ^a	4,8
0,05%	11,0 ^c	39,3	9,0 ^b	32,1	1,2	8,0 ^b	28,5	3,0 ^b	10,7
0,1%	22,0 ^d	50,0	14,0 ^c	31,8	1,6	8,0 ^b	18,1	4,0 ^c	9,1
0,5%	21,0 ^d	42,0	16,0 ^c	32,0	1,3	13,0 ^c	26,0	7,0 ^d	14,0
Подольанка									
Вода	4,0 ^a	50,0	3,0 ^a	37,5	1,3	1,0 ^a	12,5	0,0 ^a	0,0
0,01%	11,0 ^b	57,8	7,0 ^b	36,8	1,6	1,0 ^a	5,26	0,0 ^a	0,0
0,05%	13,0 ^b	46,4	10,0 ^c	35,7	1,3	5,0 ^b	17,8	2,0 ^b	7,1
0,1%	24,0 ^c	48,9	19,0 ^d	38,8	1,3	6,0 ^b	12,2	4,0 ^c	8,2
0,5%	23,0 ^c	42,6	21,0 ^d	38,9	1,1	10,0 ^c	18,5	5,0 ^c	9,3

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

Щодо попереднього вивчення епігенетичних чинників за характером індукованих хромосомних змін, то чітких закономірностей досі не встановлено. Показники суттєво варіюють залежно від функціональної здатності конкретної речовини, але переважно за характеристиками більше індукували мостів.

Аналіз кількості фрагментів показав, що їх частота істотно залежить від підвищення концентрації ($P = 2,2 \cdot 10^{-19}$; $F = 44,47$; $F_{0,05} = 2,86$), а факторний аналіз продемонстрував незалежність параметра від сортової компоненти ($P = 0,04$; $F = 2,84$; $F_{0,05} = 2,71$). Попарне порівняння за допомогою критерію Тьюкі не показало відмінностей між окремими сортами. Таким чином, сортові відмінності за цим показником залишилися непідтвердженими. У разі аналізу за концентраціями

відмінності статистично достовірно відрізнялися для всіх варіантів по відношенню один до одного та до контролю.

Кількість фрагментів лінійно зростає зі збільшенням концентрації ТХ-305 ($r = 0,82$). У контролі кількість фрагментів незначна й цілком відповідає рівню спонтанних перебудов, загалом на тому самому рівні, що й кількість мостів. За дії першої концентрації ТХ-305 0,01 % спостерігаємо статистично значуще збільшення кількості фрагментів для всіх без винятку сортів, найбільший приріст у сортів Courtot та Lyrik, найменший у сортів Співанка та Подолянка, що загалом відповідає тій самій тенденції, що й для загальної частоти хромосомних перебудов ($P = 1,4 \cdot 10^{-14}$; $F = 17,45$; $F_{0.05} = 3,14$).

При подальшому підвищенні концентрації ТХ-305 0,05 % спостерігалось статистично достовірне збільшення кількості фрагментів порівняно з попереднім варіантом у сортів Співанка, Altigo та Lyrik ($P = 2,1 \cdot 10^{-19}$; $F = 21,08$; $F_{0.05} = 3,43$), тоді як для інших сортів збільшення не було достовірним ($P = 0,06$; $F = 2,18$; $F_{0.05} = 2,99$), хоча статистично достовірно відрізнялися від контролю. Тобто загалом картина за динамікою суттєво відрізняється від загальної частоти хромосомних аберацій та диференціація сортів відбувається вже по-іншому. Ураховуючи відносно більшу кількість фрагментів, вочевидь взаємодія з гістонним скелетом призводить до цього типу ушкоджень ДНК-апарату.

Концентрація ТХ-305 0,1 % призводить до значного збільшення кількості фрагментів порівняно з попереднім ($P = 0,00014$; $F = 8,19$; $F_{0.05} = 2,82$), за винятком сорту Lyrik, де кількість фрагментів суттєво відрізняється від контролю та першої концентрації, але різниці з попередньою концентрацією ТХ-305 0,05 % не було зі статистичною достовірністю ($P = 0,09$; $F = 1,96$; $F_{0.05} = 2,13$).

Таким чином, знову змінилася диференціація за сортами, лише сорти Подолянка та Flamenko в усіх випадках для всіх концентрацій демонструють одну й ту саму реакцію, що робить їх константними елементами для аналізу та можливого моделювання процесу впливу епігенетичних чинників. Необхідно зауважити, що якраз висока екологічна стабільність – суттєва особливість сорту Подолянка, на відміну від інших сучасних українських сортів.

Таблиця 4.4

Параметри спектрів хромосомних аберацій, ТХ-305 ($x \pm SD$, $n \approx 1000$)

Варіант	Фрагменти		Мости		Відношення	Інші		Множинні	
	шт	%	шт	%		шт	%	шт	%
Courtot									
Вода	3,0 ^a	42,9	3,0 ^a	42,9	1,0	1,0 ^a	14,3	0,0 ^a	0,0
0,01%	19,0 ^b	52,8	11,0 ^b	30,6	1,7	6,0 ^b	16,7	2,0 ^a	5,6
0,05%	21,0 ^b	46,7	16,0 ^c	35,6	1,3	8,0 ^b	17,8	3,0 ^{ab}	6,7
0,1%	26,0 ^c	42,6	21,0 ^d	34,4	1,2	14,0 ^c	23,0	9,0 ^c	14,8
0,5%	32,0 ^d	40,0	30,0 ^e	37,5	1,1	18,0 ^d	22,5	11,0 ^c	13,8
Lyrik									
Вода	3,0 ^a	33,3	4,0 ^a	44,4	0,8	1,0 ^a	11,1	0,0 ^a	0,0
0,01%	18,0 ^b	56,3	10,0 ^b	31,3	1,8	4,0 ^b	12,5	3,0 ^b	9,4
0,05%	24 ^c	42,9	20,0 ^c	35,7	1,2	12,0 ^c	21,4	8,0 ^c	14,3
0,1%	26 ^c	38,2	25,0 ^d	36,8	1,0	17,0 ^d	25,0	13,0 ^d	19,1
0,5%	34 ^d	38,2	36,0 ^e	40,5	0,9	19,0 ^d	21,4	18,0 ^c	20,2
Flamenko									
Вода	2 ^a	33,3	4,0 ^a	66,7	0,5	0,0 ^a	0,0	0,0 ^a	0,0
0,01%	11 ^b	44,0	9,0 ^b	36,0	1,2	5,0 ^b	20,0	2,0 ^b	8,0
0,05%	12 ^b	35,3	11,0 ^b	32,4	1,1	11,0 ^c	32,4	6,0 ^c	17,7
0,1%	26 ^c	44,8	18,0 ^c	31,0	1,4	14,0 ^d	24,1	11,0 ^d	19,0
0,5%	30,0 ^c	41,7	21,0 ^c	29,2	1,4	21,0 ^c	29,2	17,0 ^e	23,6

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

Для концентрації ТХ-305 0,5 %, найсильнішої за дією, спостерігається статистично значуще збільшення порівняно з попередньою для сортів Courtot та Lyrik ($P = 1,1 \cdot 10^{-9}$; $F = 13,16$; $F_{0,05} = 3,01$), які найбільш вразливі до цього чинника, тоді як в інших сортах четверта концентрація за дією не відрізняється від попередньої ($P = 0,09$; $F = 2,47$; $F_{0,05} = 3,16$), але кількість фрагментів у цих сортів значно перевищує контроль та значення за перших двох концентрацій.

Найбільше фрагментів утворюється в сортів Courtot та Lyrik, найменше – у сорту Подолянка, проте загалом, як зазначалося раніше, вихідний матеріал не мав значного ефекту та вплив на окремі сорти постійно змінювався залежно від зростання концентрації епімутагену. Як можна побачити, кількість фрагментів

майже завжди найбільш вагома та передусім саме цей тип аберацій утворюється за дії епімутагену, за виключенням дії максимальної концентрації на сорт Lyrik, де переважають все ж таки мости.

Цей варіант ще раз показує, що на рівні цитогенетичної мінливості речовини з високим числом функціональної групи здатні до дії переважно з тими самими наслідками, що й класичні хімічні супермутагени з низькою ушкоджувальною здатністю, хоча з функціональної позиції механізми впливу на хромосомний апарат зовсім різні. Більш вагомим показником зазвичай є співвідношення фрагментів до мостів, до того ж частка фрагментів у загальній кількості хромосомних аберацій варіює дуже широко, навіть за дії зіставних концентрацій у різних сортів, тому частка їх можна як перевищувати половину, так і бути на рівні третини від загальної кількості перебудов.

Щодо мостів у контролі спостерігається незначний рівень варіативності, як і для фрагментів. Кількість таких перебудов приблизно відповідає кількості фрагментів, що цілком нормально. На збільшення кількості таких перебудов суттєво впливало як збільшення концентрації ($P = 1,7 \cdot 10^{-9}$; $F = 28,91$; $F_{0.05} = 2,86$), так і генотип вихідного матеріалу для обробки ($P = 0,001$; $F = 5,96$; $F_{0.05} = 2,71$), що було попарним порівнянням за тестом Тьюкі.

У випадку мостів тест Тьюкі показав відмінності між сортами Співанка і Lyrik, Altigo і Lyrik, і, загалом, відмінності з підвищенням концентрації були достовірними для всіх пар, за винятком між контролем та ТХ-305 0,01%, ТХ-305 0,1% та ТХ-305 0,5%, коли вони не завжди статистично вірогідні.

Під дією підвищення концентрації здебільшого спостерігається збільшення кількості мостів з вагомою кореляцією ($r = 0,74$), тоді як за дії першої концентрації ТХ-305 0,01 % кількість мостів у сортів Подолянка помірно зростає, Courtot, Lyrik та Flamenko значно зростає ($F = 7,06$; $F_{0.05} = 2,99$; $P = 0,00091$), решта були на рівні контролю ($P=0,07$; $F=2,17$; $F_{0.05} =2,93$). За дії наступної концентрації ТХ-305 0,05 % кількість мостів знов збільшується в усіх варіантах ($P=0,0019$; $F=4,45$; $F_{0.05} =2,67$), крім Flamenko ($P=0,07$; $F=2,17$; $F_{0.05} = 2,82$), у якому цей показник значно перевищує контроль, але не першу з концентрацій

ТХ-305. З підвищенням концентрації ТХ-305 до 0,1% цей тип перебудов не показав значного зростання. У решти сортів кількість мостів значно зросла ($P = 1,1 \cdot 10^{-11}$; $F = 16,87$; $F_{0.05} = 3,43$). Таким чином, знову диференціація сортів постійно змінюється залежно від концентрації чинника. Тобто знов загалом картина за динамікою суттєво відрізняється від загальної частоти хромосомних аберацій та диференціація сортів відбувається вже по-іншому. Ураховуючи відносно більшу кількість фрагментів, вочевидь взаємодія з гістонним скелетом призводить до цього типу ушкоджень ДНК-апарату.

Щодо екстремальної концентрації ТХ-305 0,5 %, то у Altigo, Подолянки та Flamenko рівень мінливості суттєво не змінився порівняно з попередньою концентрацією ($P = 0,09$; $F = 1,99$; $F_{0.05} = 2,43$), у решти – значно збільшився ($P = 2,2 \cdot 10^{-11}$; $F = 11,83$; $F_{0.05} = 3.16$). Як видно, найменший контраст спостерігається при переході від контролю до ТХ-305 0,01 % і між ТХ-305 0, 1% та ТХ-305 0,5 %. Загалом показник набагато більше залежить від генотипу вихідного матеріалу, ніж для параметра кількості фрагментів, причому групування сортів за рівнем мінливості демонструвало постійні зміни залежно від концентрації ТХ-305. Однак на цьому етапі дослідження особливо виділився сорт Flamenko, який продемонстрував найбільшу стабільність за зміни концентрацій.

Аналіз показав, що співвідношення хромосомних фрагментів та мостів у більшості випадків перевищує одиницю, тобто частка фрагментів є більшою, що відповідає типовій дії хімічного агента. Проте винятком є варіант із сортом Lyrik за концентрації ТХ-305 0,5 %, де це співвідношення виходило за межі звичайного діапазону.

Загалом співвідношення хромосомних фрагментів та мостів збільшується зі зростанням концентрації хімічного агента до рівня високих концентрацій. За високих концентрацій, наближених до напівлетальних, спостерігається зниження цього співвідношення, що вказує на зміну характеру дії хімічної речовини.

Ця динаміка узгоджується з результатами попередніх досліджень, які демонстрували, що за високих концентрацій хімічних агентів їхня дія стає менш

вибірковою щодо частот різних типів хромосомних перебудов. Перевага фрагментів свідчить на користь більшої модельності дії слабких хімічних супермутагенів за класичною схемою.

Що стосується аберацій за типом мікроядра та відстаючі хромосоми, то для дії ТХ-305 характерна їхня значно більша кількість щодо інших типів хромосомних аберацій, ніж для дії раніше вивчених факторів, що знову вказує на інший характер спричинення ушкоджень через вплив на білкову частину хромосом. Тобто значення цього параметра явно значно зростає на відміну від цитогенетичної мінливості для класичних супермутагенів. Водночас факторний аналіз показав, що на варіабельність цього показника істотно впливають фактор концентрації епімутагену ($P = 2,3 \cdot 10^{-19}$; $F = 52,01$; $F_{0.05} = 2,86$) та фактор генотипу вихідного матеріалу ($P = 0,00062$; $F = 6,01$; $F_{0.05} = 2,71$), як і у випадку з кількістю мостів.

Тест Тьюкі підтвердив, що в усіх випадках за попарного порівняння різниця достовірна, за винятком сортів Співанка та Подолянка для варіантів порівняння контролю з нижчою концентрацією ТХ-305 0,01 %, де різниця не є статистично достовірною. Кількість перебудов цього типу статистично достовірно зростає зі збільшенням концентрації ($r = 0,84$), але до рівня найвищої концентрації, де ситуація може змінитися.

У контролі ми знаходимо майже повну відсутність аберацій такого виду, що є нормою – вони вкрай рідкісні за спонтанними змінами. За дії першої концентрації ТХ-305 0,01 % вся перша група сортів, для яких дія цієї речовини менш токсична, не має статистично достовірних відмінностей з контролем ($P = 0,10$; $F = 2,01$; $F_{0.05} = 2,56$), тоді як у другому також у всіх випадках більш вразливий ($P = 1,7 \cdot 10^{-10}$; $F = 14,29$; $F_{0.05} = 2,01$) та різниця з контролем буде статистично достовірною для усіх випадків без винятку. Динаміка свідчить про більш суттєву вагу цього типу перебудову в моделі епімутаційного процесу.

Для другої концентрації ТХ-305 0,05 % усі сорти мають статистично значущі відмінності від контролю та першої концентрації ($P = 1,8 \cdot 10^{-16}$; $F = 17,19$; $F_{0.05} = 3,48$), крім Courtot ($P = 0,07$; $F = 2,09$; $F_{0.05} = 2,43$), для якого відмінності

між другою та першою концентраціями незначні. Тобто диференціація сортового матеріалу за характером впливу зовсім інша.

Третя концентрація ТХ-305 0,1 % знову характеризується статистично значущим збільшенням цього типу перебудови для всіх генотипів ($P = 1,6 \cdot 10^{-10}$; $F = 8,39$; $F_{0.05} = 2,99$), крім Altigo та Подолянка ($P = 0,07$; $F = 2,47$; $F_{0.05} = 2,88$), у яких цей показник істотно не змінювався, але відрізнявся від контролю та першої концентрації в бік збільшення.

Під дією ТХ-305 0,5 % кількість мікроядер і відстаючих хромосом збільшується в усіх варіантах ($P = 1,9 \cdot 10^{-12}$; $F = 11,16$; $F_{0.05} = 2,99$), крім сорту Lyrik ($P = 0,11$; $F = 1,93$; $F_{0.05} = 2,44$), де показник залишився приблизно на тому самому рівні. Таким чином, для всіх чотирьох концентрацій спостерігалися відмінності у їхньому впливі на окремі сорти. Якісь загальні закономірності важко виділити, крім більшої кількості змін саме такого типу.

Отже, за цим показником перша і третя концентрації менш контрастні. При цьому цей показник є явно більш значущим, ніж показник наявності мостів і фрагментів, як з позиції більш повного відображення ролі вихідного матеріалу, так і з позиції поєднання обох факторів для аналізу. Як правило, для цього виду цитогенетичного аналізу цей параметр не несе особливо значущої інформації для звичайних хімічних мутагенів, але в епігенетичної речовини ситуація зовсім інша.

Що стосується показника наявності двох і більше хромосомних перебудов в одній клітині, що ділиться (на відповідних стадіях мітозу), то в цій ситуації на збільшення кількості таких перебудов суттєво впливало збільшення концентрації ($P = 1,2 \cdot 10^{-9}$; $F = 16,06$; $F_{0.05} = 2,86$) та генотип вихідного матеріалу для дії ($P = 0,002$; $F = 5,53$; $F_{0.05} = 2,71$), однак тест Тьюкі показав, що не було суттєвих відмінностей у збільшенні концентрацій для варіантів, коли було проведено попарне порівняння між контролем та ТХ-305 0,01 %, ТХ-305 0,01 % та ТХ-305 0,05 %, ТХ-305 0,1% та ТХ-305 0,5 %, а суттєві відмінності існують у вихідному варіанті за впливом лише для сорту Lyrik по відношенню до сортів першої групи (Співанка, Altigo, Подолянка).

Таким чином, цей показник є найменш перспективним з інших параметрів цитогенетичної мінливості як для аналізу за окремими концентраціями, так і для аналізу за характером впливу вихідного матеріалу на характеристики спектру хромосомних аберацій, що є новим - у попередніх випадках принаймні цей показник завжди був в моделі, коли йшлося про збільшення концентрації діючого чинника. Кількість клітин з двома або більше перебудовами загалом все таки достовірно збільшується зі збільшенням концентрації ($r = 0,78$), пряма кореляція між показниками є вагомою.

Нормальною тенденцією є повна відсутність клітин з двома або більше перебудовами в контролі у всіх випадках. За дії концентрації ТХ-305 0,01 % бачимо, що вони у значних кількостях виявлялися у сортів Altigo, Lyrik та Flamenko ($P=0,00023$; $F=5,71$; $F_{0.05} = 2,44$), у решти — більш-менш без істотних відмінностей від контролю ($P = 0,07$; $F = 2,06$; $F_{0.05} = 2.44$). Таким чином, групування за сортами знову порушується вже за дії першої концентрації.

За другої концентрації ТХ-305 0,05% сорт Співанка не відрізняється від попередньої концентрації за цим показником ($P = 0,08$; $F = 2,01$; $F_{0.05} = 2,76$), але він є вищим за контроль ($P = 1,3 \cdot 10^{-8}$; $F = 8,19$; $F_{0.05} = 2,78$), тоді як у сорту Courtot він збільшився порівняно з контролем ($P = 1,9 \cdot 10^{-9}$; $F = 9,14$; $F_{0.05} = 2,99$), але достовірно не відрізнявся від першої концентрації ($P = 0,09$; $F = 1,87$; $F_{0.05} = 2,44$). Для решти генотипів показник значно зріс порівняно з попередньою концентрацією та контролем ($P = 0,00029$; $F = 7,66$; $F_{0.05} = 2,57$). Диференціація за сортами по реакції на дії знову змінилася.

Концентрація ТХ-305 0,1 % показала, що у всіх сортах він викликав суттєве збільшення кількості клітин з двома і більше абераціями порівняно з усіма попередніми варіантами ($P = 1,9 \cdot 10^{-9}$; $F = 8,19$; $F_{0.05} = 2,74$). Екстремальна концентрація ТХ-305 0,5 % не призвела до суттєвого підвищення показника у сортів Courtot та Подолянка ($P = 0,06$; $F = 2,01$; $F_{0.05} = 2,55$), у сорту Співанка він навіть знизився та вірогідно відрізнявся лише від контролю ($P = 2,4 \cdot 10^{-16}$; $F = 12,12$; $F_{0.05} = 2,99$), залишаючись незмінним порівняно з параметром для всіх попередніх концентрацій ($P = 0,11$; $F = 1,16$; $F_{0.05} = 2,99$). В інших сортів цей

показник підвищувався під дією ТХ-305 на 0,5 % ($P = 1,7 \cdot 10^{-9}$; $F = 7,84$; $F_{0,05} = 3,11$).

Таким чином, за дії максимальної концентрації характеристики показники змінюються, що повністю залежить від взаємодії з генотипом та пояснює суттєво нижчу кореляцію для цього параметра.

Виконаний дискримінантний аналіз та зворотна ідентифікація діючих факторів (табл. 4.5, 4.6 та 4.7, рис. 4.1) підтвердили встановлені закономірності та дали можливість ідентифікувати модельні змінні від досліджуваних у цитогенетичному аналізі.

Таблиця 4.5

Факторне навантаження

Параметр	Концентрація	Генотип
Стерильність	0,879*	0,822*
Частота	0,811*	0,611
Фрагменти	0,885*	0,613
Мости	-0,623	-0,251
Інші	-0,857	0,869*
Множинні	-0,411	0,633
Пояснена	4,492	1,893
Непояснена	0,453	0,107

Таблиця 4.6

Дискримінантні функції

Параметр	Wilks' - Lambda	$F_{\text{remove}} (4,11)$	p-value
Стерильність	0,022	16,82	< 0,01
Частота	0,021	13,63	< 0,01
Фрагменти	0,018	8,17	< 0,01
Мости	0,009	2,96	0,16
Інші	0,018	9,03	< 0,01
Множинні	0,011	2,47	0,11

Таким чином, можна переконатися, що параметри фертильності пилку, загальна частота хромосомних перебудов, наявність фрагментів і подвійних фрагментів були ключовими параметрами для аналізу концентрації впливу.

Решта індикаторів не входять у модель і не можуть бути проаналізовані для цього епімутагену з точки зору класифікації за сортами.

Через слабкість дії фактора на рівні хромосомного апарату було надзвичайно складно виділити модельні параметри зміни характеристик вихідного матеріалу, однак все ж вдалося. Такими показниками виявилася фертильність пилку і, що є принципово новим, наявність мікроядерних перебудов і відстаючих хромосом. Абсолютно суперечливими та виключеними при побудові моделей розташування у факторному просторі (див. рис. 4.1) були параметри наявності мостів і, що також виявилася принципово новим, кількості клітин з двома і більше абераціями, що чітко пов'язане з низькою генотоксичністю досліджуваного агента.

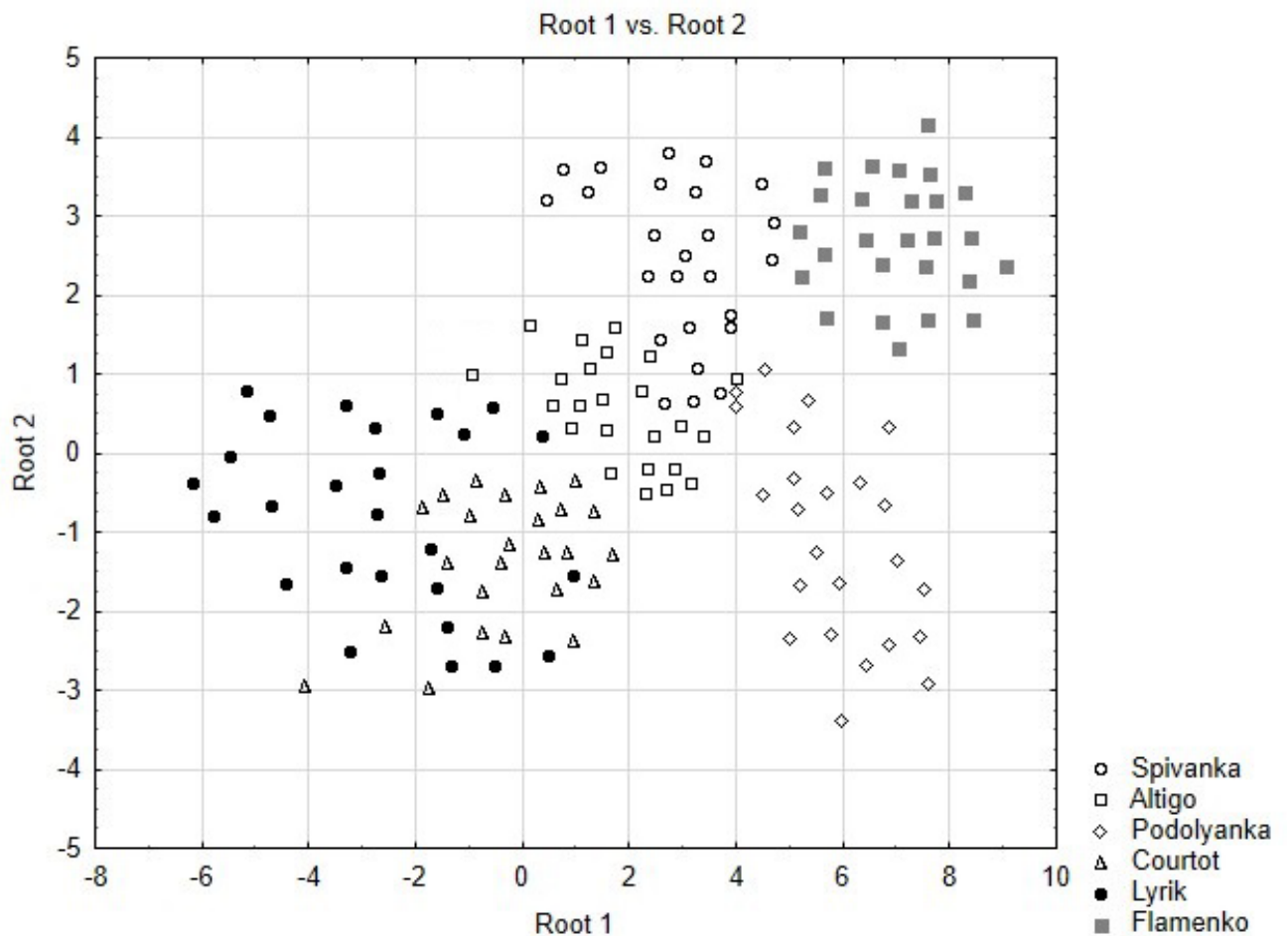


Рис. 4.1. Класифікація за канонічними функціями

Результати класифікації за генотипами (частина об'єктів за параметрами з попередньої таблиці в моделі для такого генотипу)

Сорт	У моделі, %
Співанка	86,7
Altigo	86,7
Подолянка	93,3
Courtot	73,3
Lyrik	73,3
Flamenko	100,0
Усього	85,6

У побудованій моделі найбільш чітко виділяються різновиди Flamenko та Подолянка (рис. 4.1, табл. 4.6), інші сорти частково змішані у факторному просторі та, таким чином, мають значно нижчу роздільну здатність при дослідженні цього набору параметрів. Варто також зауважити, що вперше в наших дослідженнях індикатори при вивченні ушкоджувальної дії на клітинному рівні виявилися менш ефективними, ніж індикатори росту та розвитку на попередньому етапі досліджень. Як правило, все навпаки - цитологічні дослідження набагато точніші для моніторингу небажаних ефектів. При цьому також очевидно, що в цьому випадку фокус дії більше зміщується на зміни, які не впливають на ДНК клітини, а цитогенетичний аналіз призводить до фіксації лише вторинних опосередкованих ефектів.

Ключовим питанням індукції цінних форм під час вивчення формоутворювального процесу дії екогенетичних чинників завжди було співвідношення рівня ураження, що призводило до негативних, аж до летальних, ефектів і вибірки, яка може бути піддана подальшому моніторингу з метою виявлення цінних ознак і форм.

Тобто в рамках екологічної генетики постійно виконується завдання оптимізації процесу зниження першої, явно негативної тенденції, при цьому зниження мінливості отриманого матеріалу є неприпустимим. Фактично, досягнувши оптимального співвідношення шляхом встановлення потрібної дози

чи концентрації та варіювання вихідного матеріалу для подальшого дослідження, подальші зміни можливі лише шляхом зміни одного з компонентів системи, а саме діючої речовини. Це приводить до постійного пошуку нових агентів з принципово іншим механізмом впливу на спадкову мінливість.

Негативні тенденції в розв'язанні цих задач оптимізації пов'язані насамперед з прямим пошкодженням ДНК зі слабкими можливостями регулювання його масштабу. Хоча вже давно доведено, що невеликі зміни у великих кількостях є набагато перспективнішими, обмежити масштаб ушкодження неможливо. Цей процес у хімічних речовин хоч і менш очевидний, але все ж достатній, щоб призвести до постійних несприятливих наслідків, навіть до летальних. Для перевірки таких варіантів використовують насамперед різні цитогенетичні дослідження, оскільки вони швидші, ніж будь-який польовий моніторинг, і більш надійні, ніж ті, що здійснюють визначення депресії іншими способами.

Раніше було досить широко відзначено, що вплив мутагенів призводить до значного й різкого зниження фертильності пилку, при цьому це мало поступовий характер до певної дози (концентрації), після чого різко зростала стерильність. У цій ситуації, однак, це спостерігається не для всіх генотипів; до того ж у більшості випадків воно набагато м'якше. Це ще раз свідчить про те, що зміни, викликані цією речовиною, досить незначні, менш травматичні залежно від вихідного матеріалу. Крім того, другий момент полягає в тому, що вони чітко залежать від генетично зумовленого механізму пристосувальної реакції, який, зі свого боку, відрізняється навіть на рівні окремих груп сортів.

Ключове значення для визначення характеру впливу на хромосомний апарат мали такі показники, як загальна частота хромосомних аберацій і різні частоти індивідуальних змін спектра. Таким чином, велике значення для ідентифікації мутагену мали такі показники, як наявність подвійних фрагментів, містків, співвідношення фрагментів і містків (з позиції природи мутагенного чинника), наявність складних хромосомних перебудов як післядії чинника на клітинному рівні.

Однак наявність такої кількості мікроядер і відстаючих хромосом з такою малою присутністю клітин із множинними абераціями ніколи не спостерігалася під дією будь-якої хімічної речовини. Зазвичай це було характерно для дії саме високих доз гамма-випромінювання або хімічних супермутагенів, проте в цьому випадку виживання матеріалу в цьому експерименті значно вище, ніж у разі дії напівлетальних і сублетальних доз або концентрацій мутагенів. Таким чином, можна розраховувати на появу нових форм, цитологічним маркером яких є цей вид змін.

При цьому слід виокремити й певні подібні параметри, оскільки при дії інших хімічних речовин переважають фрагменти, хоча вони не завжди повністю переважають у спектрі, але, по суті, співвідношення з мостами під дією будь-якої концентрації завжди на користь фрагментів і подвійних фрагментів. Два генотипи чітко демонструють динаміку за стерильністю пилку і, менш виражену, за спектром хромосомних аберацій, що є досить характерним для дещо слабшої дії тих самих концентрацій нітрососечовини. Однак кількість хромосомних порушень все ж значно менша, ніж повинно бути за дії інших мутагенів, враховуючи ступінь стерильності пилку.

Аналіз особливостей цього ефекту свідчить про те, що цей засіб на клітинному рівні демонструє принципово нові механізми генотипмутагенної взаємодії, очевидно, пов'язані, по-перше, з меншою ушкоджувальною дією на клітинну ДНК, а по-друге, з принципово іншими прикладними ушкодженнями, що виражалося в питомій частоті окремих видів змін хромосомних перебудов. Причому останній характерний для всіх без винятку генотипів, незалежно від того, належать вони до місцевих чи до чужорідних форм. Враховуючи, що для цих генотипів вже було показано принаймні три можливості щодо відповіді на інші показники, це, безумовно, вказує на інший механізм дії. Більше того, інші дослідники не спостерігали подібного ефекту з класичними фізичними або хімічними мутагенами, тому можна бути впевненим, що в цьому випадку мова йде про вплив епімутагенного характеру, хоч і непряме підтвердження цього факту на основі поведінки хромосомний апарат ядра.

Дещо змінилися параметри моніторингу цитогенетичної активності; можливості навіть дещо розширилися за рахунок більш збалансованих типів змін у питомій пропорції від загальної кількості перегруповань, що чітко показує аналіз. Однак раніше значущі показники все ще є в моделі, тому загалом можливості ідентифікації та визначення специфіки концентрації за експозицією залишилися в рамках вже розробленого протоколу. Новим є те, що його можна використовувати і в цьому випадку, а дія епімутагену все ще супроводжується традиційними ефектами, досить сильними для реєстрації, хоча й ослабленими різною мірою залежно від генотипу.

Епімутаген також показав досить високу сайтспецифічність, принаймні щодо одного типу генотипів він явно має більш високу шкідливу дію, ніж два інших, тобто або має більш високий ступінь спорідненості через генетично детерміновані особливості геному, або це пов'язано зі специфічною системою пристосувальної реакції на цей вид впливу. У будь-якому випадку це надзвичайно значущий генотипомутагенний ефект, який дозволяє краще зрозуміти характер впливу на хромосомний апарат.

Це, разом із описаними відмінностями, дає змогу сподіватися на якісно інші зміни спадковості оброблюваного матеріалу. Не виключено, що зміни торкнуться також частоти мінливості за вже дослідженими ознаками та особливостями генетичного механізму для виявлення бажаних ознак, перенесення низки форм із обмеженого чи важковикористовуваного для індукції біорізноманіття у формування більш практичного значення.

Використання нових, складніших за своєю дією речовин замість класичних хімічних супермутагенів, які більш схильні до менш важких дрібних змін і, як наслідок, мають значно нижчу генотоксичність – у будь-якому разі, таким є цитогенетичний тест цих засобів – дає змогу зробити висновок як про можливу їхню більшу перспективність, так і про характер їхньої дії. Схоже, що діяльність цих речовин, хоч і не повністю пов'язана зі змінами на рівні ДНК, проте більше взаємодіє з епігенетичними механізмами регуляції спадкової активності та мінливості.

Це дозволяє сподіватися, що при меншій генотоксичності ці класи речовин демонструватимуть значно вищу ефективність індукції корисних типів біорізноманіття, що може суттєво впливати на швидкість індукції нових цінних форм. У майбутньому планується виконувати дослідження саме на цьому рівні, виділяючи саме такі родини та лінії за допомогою ретельних фенологічних, біометричних та біохімічних досліджень на рівні рослин і таким чином встановлюючи зв'язок між тим, що відбувається на рівні клітини і як це взагалі впливає на організм, на його спадкову мінливість. Водночас класичні методи дослідження цитогенетичної активності цього типу сполук все ще демонструють їх здатність ідентифікувати як конкретний агент, так і кількість його застосування залежно від рівня впливу.

Висновки до розділу 4

1. Зниження життєздатності та зростання стерильності за дії ТХ-305 може мати переривчастий характер, з піковими спадами по досягненню критичних значень залежно від особливостей побудови геному вихідного матеріалу. Певні сорти (Courtot, Lyrik, частково Flamenko) здатні проявляти дуже високий рівень чутливості до дії відповідного чинника, у результаті чого їх плодючість та можливість отримання відповідної кількості рослинного матеріалу суттєво знижується, а перспектива використання цього вихідного матеріалу з позиції епігенетичної мінливості стає сумнівною.

2. Загальна частота цитогенетичної активності для будь-якого вихідного матеріалу суттєво збільшувалася зі збільшенням концентрації епігенетичного чинника, але ця залежність могла порушуватись для деяких сортів (Altigo, частково Подолянка) та не мала абсолютного характеру. Цитогенетична активність є надійним моніторингом факта дії, але не відтворює різницю за впливом за життєздатністю, тому не можна лише за цим методом аналізу ідентифікувати однозначно неперспективний матеріал. Водночас доведено, що характер дії суттєво відрізнявся від дії мутагенних чинників, але досягав рівня,

характерного для помірних концентрацій хімічних супермутагенів з меншою ушкоджувальною дією.

3. З показників спектра генотип суб'єкта дії переважно впливає на кількість аберацій за типом мікроядро та відстаюча хромосома, на показник кількості мостів, іноді на показник кількості клітин з множинними змінами, але не характерний для кількості фрагментів, хоча переважно дія цього епігенетичного чинника викликає саме фрагменти. Водночас дуже вагомою стає частка рідкісних типів перебудов за типом мікроядра та відстаючих хромосом. Співвідношення між фрагментами та мостами було надійним параметром впливу Тритона 305X, але не мало відповідної диференціувальної сили як для класичних хімічних мутагенів – різноманіття сортових реакцій на рівні цитогенетичної мінливості надто високе для вірогідної класифікації за групами щодо кожного з параметрів. Значення відношення може варіювати за високих концентрацій для окремих генотипів.

4. Параметри фертильності пилку, загальної частота хромосомних перебудов, наявність фрагментів і подвійних фрагментів були ключовими моментами для аналізу впливу концентрації, у той час як наявність інших типів перебудов та клітин з множинними абераціями, частково частота мостів були модельними для вихідного матеріалу та суттєво залежали від генотипу суб'єкта дії епігенетичного чинника.

5. Сила генотипмутагенної взаємодії загалом знижувалася залежно від підвищення кількості епігенетичного чинника, на клітинному рівні відзначалася різкими змінами за цитогенетичною мінливості в разі переходу між концентраціями, що свідчить про вторинність пошкодження ДНК як наслідок первинного процесу впливу на гістонну частину хромосомного апарата клітини та непрямий характер дії чинника як індуктора спадкової мінливості. Водночас сам факт впливу на цитогенетичну мінливість завжди був достовірним, тобто дія TX-305 завжди опосередковано, але достовірно призводила до змін у хромосомному апараті.

Основні положення змісту цього розділу викладені в наукових працях:

1. Beiko V., Nazarenko M. Occurrence of cytogenetic effects under the action of epimutagen in winter wheat. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022. Vol. 13 (3). P. 294–300. Режим доступу: <https://doi.org/10.15421/022238>
2. Beiko V., Nazarenko M., Izhboldin O. Cytogenetic effects under the epimutagen (Triton-X-305) action on winter wheat. *Захист і карантин рослин у XXI столітті: проблеми і перспективи*. Матеріали Міжнар. науково-практ. конф., присвяченої ювілейним датам від дня народження видатних вчених-фітопатологів д-рів біол. наук, проф. В. К. Пантелєєва та М. М. Родігіна (м. Харків, 20–21 жовтня 2022 р.). Харків, 2022. С. 230–231.
3. Nazarenko M., Beiko V. Rate of chromosomal aberrations induced by epimutagen Triton-X-305. *Матеріали VI Міжнар. науково-практ. конф. «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур»* (м. Дніпро, 16–17 листопада 2022 р.). Дніпро : ДДАЕУ, 2022. С. 71–72.

РОЗДІЛ 5

ЧАСТОТА ТА СПЕКТР ЗМІН ПІСЛЯ ДІЇ В НАСТУПНИХ ПОКОЛІННЯХ

5.1. Рівень мінливості сімей у поколіннях M2 — M3

Епімутагенна дія, яка супроводжується подальшим успадкуванням змін, привертає значну увагу завдяки високій специфічності щодо вихідного матеріалу та можливій наявності полігенних малих мутацій, особливо мутацій біохімічного характеру, що можуть бути ключовими для створення нових сортів із поліпшеними якостями. Епімутагенез відкриває кілька нових напрямків у селекції пшениці, які менш притаманні традиційним методам: точна корекція біохімічних процесів рослини, підвищення адаптивного потенціалу за рахунок малих, але стабільних змін у генотипі, розширення можливостей для створення сортів із комплексним поліпшенням характеристик, таких як посухостійкість, якість зерна та врожайність [99, 100].

Епімутагенні методи можуть стати цінним інструментом для генетичного поліпшення пшениці, забезпечуючи інноваційний підхід до створення сортів із високим потенціалом продуктивності та стійкості до несприятливих умов [93].

Озима пшениця залишається пріоритетною та цінною злаковою продовольчою культурою, особливо для регіонів із зонами нестабільного сільського господарства. Її значення визначається не лише продовольчою безпекою, а й адаптивністю до різних природно-кліматичних умов [3, 95].

Основними викликами для вирощування озимої пшениці є: несвоєчасне зволоження — нестабільний рівень опадів, що ускладнює забезпечення належних умов для проростання та розвитку рослин; нестабільний температурний режим — різкі коливання температури, які негативно впливають на зимостійкість, виживання рослин та формування врожайності. Ці фактори призводять до суттєвих коливань у врожайності пшениці, знижуючи стабільність виробництва та якість продукції [94].

Сучасні умови формують нагальну потребу у створенні нової зародкової плазми, яка забезпечить вищу стійкість до абіотичних стресів, таких як посуха та перепади температур, підвищену врожайність та стабільність агрономічних характеристик, генетичне поліпшення традиційних культур для адаптації до змін клімату [43].

Розробка нових підходів до створення зародкової плазми озимої пшениці, зокрема з використанням мутагенезу та епімутагенезу, є важливим напрямком, що сприятиме підвищенню її продуктивності та адаптивності до умов нестабільного сільського господарства [31, 32].

Застосування епімутагенів на вихідному матеріалі, що походить із різних еколого-географічних зон, відкриває перспективи значущих змін у спектрі малих цінних мутацій у деяких генотипів. Особливості дії епімутагенів це формування прихованих комплексних змін. Епімутації часто проявляються без негативних кореляцій між ознаками, що забезпечує стабільність агрономічних характеристик. Це особливо важливо для комплексних змін у біохімічних компонентах зерна, які впливають на його харчову цінність [28, 29].

Високий потенціал епімутагенів у генетичному поліпшенні біохімічного складу зерна злакових культур. Це може значно підвищити харчову цінність продукції, яка нині не завжди відповідає потребам населення за основними нутрієнтами. Використання епімутагенів є обґрунтованим підходом для генетичного вдосконалення злакових культур, спрямованого на покращення якості зерна, підвищення адаптивності до абіотичних стресів, задоволення зростаючих потреб у продуктах із високою харчовою цінністю [30].

У рамках дослідження було проаналізовано 9 450 родин у другому поколінні, 373 лінії у третьому поколінні, які були відібрані на основі показників успадкування змін.

Дані щодо частоти мутацій у другому та третьому поколіннях наведено в табл. 5.1. У ній є дані про частоту мутацій для всіх чотирьох досліджуваних сортів, враховано залишкову вибірку мутантних рослин, що походять із першого покоління.

Аналіз цих даних дає змогу оцінити загальні тенденції у частоті мутацій для різних сортів та вплив вихідного матеріалу й кількості епігенетичного чинника на формування спектру спадкових змін.

Таблиця 5.1

Частота спадкових змін за дії TX-305 ($x \pm SD$, $n = 300-500$)

Сорт	Кількість сімей, шт.	Кількість змін, шт.	Частота змін, %
Співанка, кт.	500	2	$0,40 \pm 0,10^a$
Співанка, TX-305 0,01 %	500	15	$3,00 \pm 0,20^b$
Співанка, TX-305 0,05 %	500	23	$4,60 \pm 0,40^c$
Співанка, TX-305 0,1 %	500	27	$5,40 \pm 0,60^d$
Співанка, TX-305 0,5 %	400	32	$8,00 \pm 0,60^e$
Altigo, кт.	500	4	$0,80 \pm 0,20^a$
Altigo, TX-305 0,01 %	500	12	$2,40 \pm 0,30^b$
Altigo, TX-305 0,05 %	500	19	$3,80 \pm 0,40^c$
Altigo, TX-305 0,1 %	500	26	$5,20 \pm 0,50^d$
Altigo, TX-305 0,5 %	450	29	$6,40 \pm 0,60^d$
Подольанка, кт.	500	3	$0,60 \pm 0,10^a$
Подольанка, TX-305 0,01 %	500	12	$2,40 \pm 0,40^b$
Подольанка, TX-305 0,05 %	500	21	$4,20 \pm 0,50^c$
Подольанка, TX-305 0,1 %	500	25	$5,00 \pm 0,60^c$
Подольанка, TX-305 0,5 %	400	30	$7,50 \pm 0,70^d$
Flamenko, кт.	500	3	$0,60 \pm 0,20^a$
Flamenko, TX-305 0,01 %	500	15	$3,00 \pm 0,40^b$
Flamenko, TX-305 0,05 %	500	20	$4,00 \pm 0,50^b$
Flamenko, TX-305 0,1 %	400	26	$6,50 \pm 0,60^c$
Flamenko, TX-305 0,5 %	300	29	$9,70 \pm 0,70^d$

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

У контролі за обробки водою кількість випадків спадкових змін була незначною та цілком відповідає спонтанній мінливості з урахуванням нестабільності сучасних сортів. Сорти були за цим показником приблизно на одному рівні.

Загалом частота спадкових змін підвищувалася із зростанням концентрації, але відсутня статистично достовірна різниця для сорту Altigo між третьою та

четвертою концентраціями ($F = 4,9$; $F_{0,05} = 5,98$; $P = 0,06$), Подолянка – між другою та третьою ($F = 4,2$; $F_{0,05} = 5,98$; $P = 0,08$), Flamenko – між першою та другою ($F = 3,1$; $F_{0,05} = 5,98$; $P = 0,11$). Лише для сорту Співанка різниця присутня завжди.

Для усіх сортів спостерігалася значно нижча частота, ніж для дії класичних хімічних супермутагенів, але вплив концентрації був статистично достовірним ($F = 80,9$; $F_{0,05} = 3,25$; $P < 0,01$), сорту – ні ($F = 2,6$; $F_{0,05} = 3,49$; $P = 0,09$), генотипепімутгена взаємодія значуща ($F = 5,6$; $F_{0,05} = 4,11$; $P = 0,03$). За результатами дослідження окремих генотипів спостерігались такі загальні показники частоти спадкових змін: Співанка (частота змін до 8,0 %), Altigo (до 6,4 %), Подолянка (до 7,5 %), Flamenko (до 9,7 %).

За дії ТХ-305 0,01 % частота спадкових змін зростала істотно для всіх сортів порівняно з контролем: Співанка (частота змін 3,0 %), Altigo (до 2,4 %), Подолянка (до 2,4 %), Flamenko (до 3,0 %) ($F = 21,1$; $F_{0,05} = 3,25$; $P < 0,01$). Достовірної різниці між сортами немає ($F = 1,4$; $F_{0,05} = 3,49$; $P = 0,12$).

За дії ТХ-305 0,05 % частота спадкових змін зростала істотно для всіх сортів порівняно з контролем: Співанка (частота змін 4,6 %), Altigo (до 3,8 %), Подолянка (до 4,2 %), Flamenko (до 4,0 %) ($F = 22,2$; $F_{0,05} = 3,25$; $P < 0,01$). Достовірної різниці між сортами немає ($F = 1,9$; $F_{0,05} = 3,49$; $P = 0,10$). Але порівняно з попередньою концентрацією зростання для сорту Flamenko було недостовірним ($F = 3,1$; $F_{0,05} = 5,98$; $P = 0,11$), чим він відрізнявся від трьох інших сортів. Загалом же різниця була ваговою ($F = 14,3$; $F_{0,05} = 3,25$; $P < 0,01$), залежності від генотипу вихідного матеріалу не було ($F = 2,1$; $F_{0,05} = 3,49$; $P = 0,09$).

За дії ТХ-305 0,1 % частота спадкових змін зростала істотно для усіх сортів порівняно з контролем: Співанка (частота змін 5,4 %), Altigo (до 5,2 %), Подолянка (до 5,0 %), Flamenko (до 6,5 %) ($F = 31,1$; $F_{0,05} = 3,25$; $P < 0,01$). Достовірної різниці між сортами немає ($F = 1,8$; $F_{0,05} = 3,49$; $P = 0,10$). Але порівняно з попередньою концентрацією зростання для сорту Подолянка було недостовірним ($F = 4,1$; $F_{0,05} = 5,98$; $P = 0,07$), чим він відрізнявся від трьох інших

сортів. Загалом же різниця була вагомою ($F = 13,7$; $F_{0,05} = 3,25$; $P < 0,01$), залежності від генотипу вихідного матеріалу не було ($F = 2,5$; $F_{0,05} = 3,49$; $P = 0,08$).

За дії ТХ-305 0,5 % частота спадкових змін зростала істотно для усіх сортів порівняно з контролем: Співанка (частота змін 8,0 %), Altigo (до 6,4 %), Подолянка (до 7,5 %), Flamenko (до 9,7 %) ($F = 31,1$; $F_{0,05} = 3,25$; $P < 0,01$). Достовірної різниці між сортами немає ($F = 3,1$; $F_{0,05} = 3,49$; $P = 0,06$). Але порівняно з попередньою концентрацією зростання для сорту Altigo було недостовірним ($F = 5,73$; $F_{0,05} = 5,98$; $P = 0,06$), чим він відрізнявся від трьох інших сортів. Загалом же різниця була вагомою ($F = 14,45$; $F_{0,05} = 3,25$; $P < 0,01$), залежності від генотипу вихідного матеріалу не було ($F = 2,64$; $F_{0,05} = 3,49$; $P = 0,08$).

Таким чином, найвищий рівнем змін був зафіксований для сорту Flamenko, суттєво найменше їх було у сорту Altigo. Сорти Подолянка та Співанка займали проміжне положення та суттєво один від одного не відрізнялися. Дія епімутагену слабша за дію навіть ДАБ в індукції візуально ідентифікованих спадкових змін.

Загалом, частота мутацій підвищувалася із зростанням концентрації, але відсутня статистично достовірна різниця для сорту Altigo між третьою та четвертою концентраціями ($F = 4,9$; $F_{0,05} = 5,98$; $p = 0,06$), Подолянка – між другою та третьою ($F = 4,2$; $F_{0,05} = 5,98$; $p = 0,08$), Flamenko – між першою та другою ($F = 3,1$; $F_{0,05} = 5,98$; $p = 0,11$). Лише для сорту Співанка різниця присутня завжди.

Для встановлення ступеня взаємодії частоти мутаційної мінливості із сортовими особливостями було виконано кластерний аналіз (рис. 5.1). У результаті дослідження весь матеріал було розділено на дві групи:

- перша група – сорти Співанка, Подолянка, Altigo. Характеризуються приблизно однаковим рівнем мінливості за всіма показниками;
- друга група (мінорна) – сорт Flamenko. Відокремлення цього сорту пояснюється його низькою толерантністю до дії ТХ-305, що спричинило значне зниження виживаності рослинного матеріалу.

Зміна обсягу вибірки через низьке виживання у сорту Flamenko спотворила загальні показники частоти спадкових змін. Динаміка частоти змін демонструє відсутність значущої різниці між першою та другою концентраціями мутагену, що підтверджує попередні висновки.

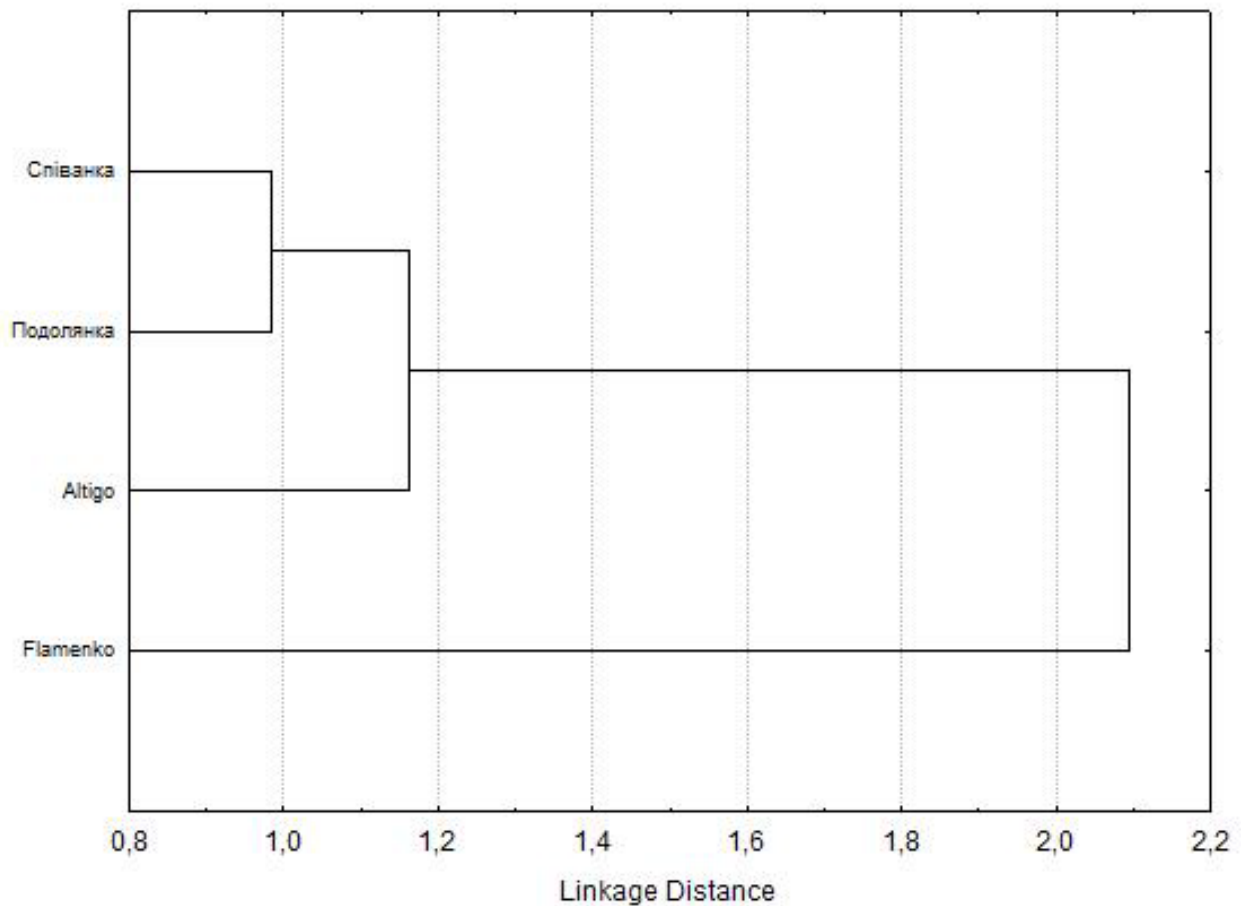


Рис 5.1. Класифікація за кластерним аналізом. Частота спадкових змін

Ключовою характеристикою, яка аналізувалася, є наявність ознак, змінених під дією епімутагену. Варто зазначити, що підвищення частоти мутацій не завжди означає посилення мутаційного процесу, оскільки він може відбуватися через збільшення кількості параметрів, за якими виникають зміни. Для цього було обчислено рівень мінливості (табл. 5.2).

Рівень мінливості в усіх сортів був низьким і менш значущим, ніж частота мутацій. Вплив концентрації епімутагену був статистично достовірним ($F = 117,6$; $F_{0,05} = 3,25$; $p = 0,01$). Вплив сорту не був значущим ($F = 2,1$; $F_{0,05} = 3,49$;

$p = 0,14$). Генотипсортова взаємодія також не була значущою ($F = 4,0$; $F_{0,05} = 4,11$; $p = 0,06$).

Рівні мінливості за сортами були такі: Співанка – до 1,5, Altigo – до 1,2, Подолянка – до 1,4, Flamenko – до 1,6. Кількість змінених ознак зростала із підвищенням концентрації епімутагену, за винятком сорту Співанка. Підвищення зі зростанням концентрації відбувалося менш вірогідно, демонструючи зменшення сили взаємодії.

Рівень мінливості під дією епімутагену відображає комплексну реакцію сортів, де концентрація є більш впливовим чинником, ніж генотип чи сортова належність.

Таблиця 5.2

Рівень мінливості за дії TX-305 ($x \pm SD$, $n = 300-500$)

Сорт	Рівень мінливості	Змінені ознаки
Співанка, кт.	$0,10 \pm 0,10^a$	2
Співанка, TX-305 0,01 %	$0,30 \pm 0,10^a$	11
Співанка, TX-305 0,05 %	$0,80 \pm 0,20^b$	17
Співанка, TX-305 0,1 %	$0,80 \pm 0,20^b$	15
Співанка, TX-305 0,5 %	$1,50 \pm 0,30^c$	19
Altigo, кт.	$0,10 \pm 0,10^a$	4
Altigo, TX-305 0,01 %	$0,20 \pm 0,10^a$	10
Altigo, TX-305 0,05 %	$0,60 \pm 0,20^b$	15
Altigo, TX-305 0,1 %	$0,90 \pm 0,20^b$	17
Altigo, TX-305 0,5 %	$1,20 \pm 0,30^{bc}$	19
Подолянка, кт.	$0,10 \pm 0,10^a$	3
Подолянка, TX-305 0,01 %	$0,30 \pm 0,10^a$	12
Подолянка, TX-305 0,05 %	$0,60 \pm 0,20^{ab}$	14
Подолянка, TX-305 0,1 %	$0,90 \pm 0,20^b$	17
Подолянка, TX-305 0,5 %	$1,40 \pm 0,30^b$	19
Flamenko, кт.	$0,10 \pm 0,10^a$	3
Flamenko, TX-305 0,01 %	$0,40 \pm 0,10^a$	13
Flamenko, TX-305 0,05 %	$0,60 \pm 0,10^{ab}$	14
Flamenko, TX-305 0,1 %	$1,10 \pm 0,20^d$	17
Flamenko, TX-305 0,5 %	$1,60 \pm 0,30^e$	17

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

На відміну від попередніх досліджень для епімутагену частота є більш достовірним показником за дії окремих концентрацій, ніж рівень мінливості. Це пов'язано з тим, що хоча частота менша, ніж за дії класичних мутагенів, спектр дії виявився доволі широким, ширшим ніж за дії слабих супермутагенів на кшталт ДАБ або нітрозосечовин.

Аналіз рівня мінливості виявив, що вплив концентрації епімутагену суттєво варіював між сортами, але в окремих випадках статистично значущих відмінностей між концентраціями не спостерігалось.

Результати порівнянь за концентраціями показали, що для сорту Співанка характерна відсутність різниці між: контролем та першою концентрацією, першою, другою та третьою концентраціями. Для сорту Altigo зафіксовано відсутність різниці між контролем та першою концентрацією, першою, другою та третьою концентраціями, третьою та четвертою концентраціями. Для сорту Подолянка спостерігалася відсутність різниці між контролем та першою концентрацією, першою та другою концентраціями, другою та третьою концентраціями, третьою та четвертою концентраціями. Для сорт Flamenko характерна відсутність різниці між контролем та першою концентрацією, першою та другою концентраціями.

Незначні відмінності між концентраціями для окремих сортів вказують на те, що рівень мінливості може бути стабільним для певних діапазонів концентрації, особливо для толерантних генотипів. Для сорту Flamenko, який характеризується нижчою толерантністю, кількість змінених ознак може бути обмеженою через загальну депресію рослинного матеріалу.

Кластерний аналіз за рівнем мінливості продемонстрував аналогічний попередньому параметру поділ на дві групи (рис. 5. 2).

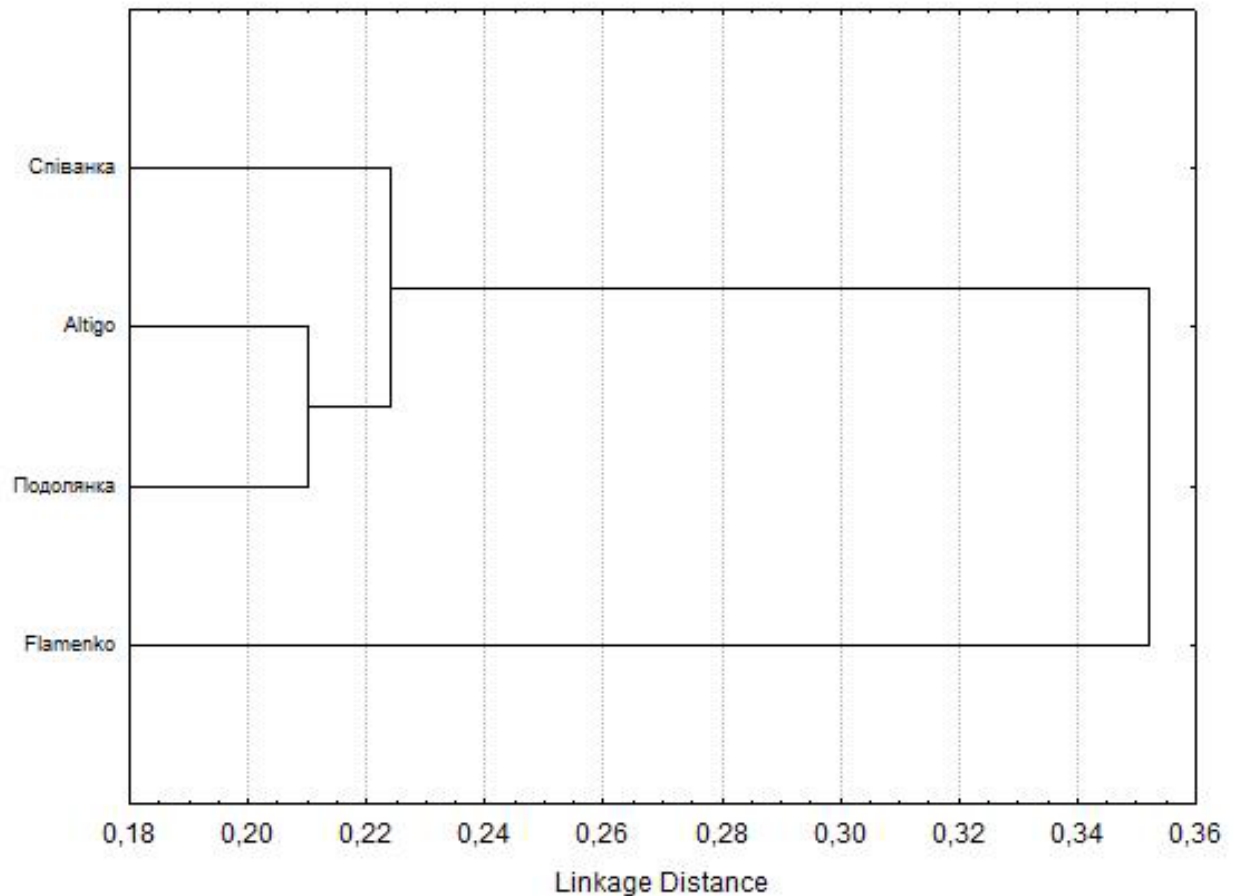


Рис 5.2. Класифікація за кластерним аналізом. Рівень мінливості

У результаті дослідження рівня мінливості весь матеріал знов було розділено на дві групи:

- перша група – сорти Співанка, Подолянка, Altigo. Характеризуються приблизно однаковим рівнем мінливості не тільки за частотами, та й за спектром; друга група (мінорна) – сорт Flamenko. Відокремлення цього сорту пояснюється його низькою толерантністю до дії ТХ-305, що спричинило значне зниження виживаності рослинного матеріалу, але при цьому спектр дії речовин був доволі широким, не поступався іншим сортам.

Таким чином, досліджуваний епімутаген прогнозовано показав більш низьку активність у індукції видимих мутацій, ніж для дії слабих класичних хімічних супермутагенів, таких як алкілувальні агенти, причому дія його спрямована на користь менш масштабних змін, але які можна фіксувати візуально. Характерним для дії є високий ступінь генотипепімутагенної

взаємодії, різниця між сортами не така значна та підпорядковується закономірностям щодо сортової диференціації за показниками чутливості генотипу до дії ТХ-305 на показники онтогенезу. Більш перспективним за показниками мінливості все ж таки є дія на сорти більш чутливі, але завжди є ризик майже повної загибелі рослинного матеріалу в першому поколінні. Спектр дії навіть більш широкий, ніж за дії класичних алкілувальних агентів, що пов'язано з вищим біорізноманіттям та, вочевидь, з нижчою специфічністю до особливостей хромосомного апарату. На відміну від класичних чинників, показник рівня мінливості має суттєво меншу мінливість при переході між концентраціями та нижчу прогностичну силу.

5.2. Спектр спадкових змін в поколіннях M2 — M3

За результатами дослідження, ознаки, що піддавалися змінам під впливом епімутагену TX-305, було поділено на шість груп відповідно до загальноприйнятої класифікації, що використовується в екологічній генетиці. Модельні показники для кожної групи наведено в таблиці 5.3. Групи демонструють відмінності в характері змін залежно від концентрації (табл. В.1 – В.4 додатка В).

Високий рівень вірогідності класифікації за концентраціями, що підтверджено статистичними даними (рис. 5.3). Вагома диференціація між групами свідчить про сильний вплив концентрації на спектр змін.

Таблиця 5.3

Результати дискримінантного аналізу за параметрами епімутагенної мінливості

Параметри в моделі	Лямбда Вілкса	Часткова	F _{remove} (4,14)	p-рівень
Частота мутацій	0,080	0,470	8,190	0,010
Рівень мінливості	0,070	0,420	10,240	0,010
Перша група	0,050	0,340	14,230	0,010
Друга група	0,090	0,530	6,670	0,020
Третя група	0,130	0,680	3,090	0,070
Четверта група	0,090	0,540	6,470	0,020
П'ята група	0,280	0,720	1,540	0,120
Шоста група	0,270	0,690	1,930	0,110

Відсутність суттєвої диференціації за сортами вказує на загальний характер впливу для більшості генотипів. Окремі відмінності спостерігалися лише для сорту Flamenko, що, ймовірно, зумовлено його меншою толерантністю до епімутагену.

Розподіл ознак за групами дозволяє більш структуровано оцінювати зміни в популяції. Стабільність класифікації незалежно від сорту (за винятком Flamenko) вказує на те, що основним чинником змін є концентрація епімутагену, а не генетична різноманітність вихідного матеріалу.

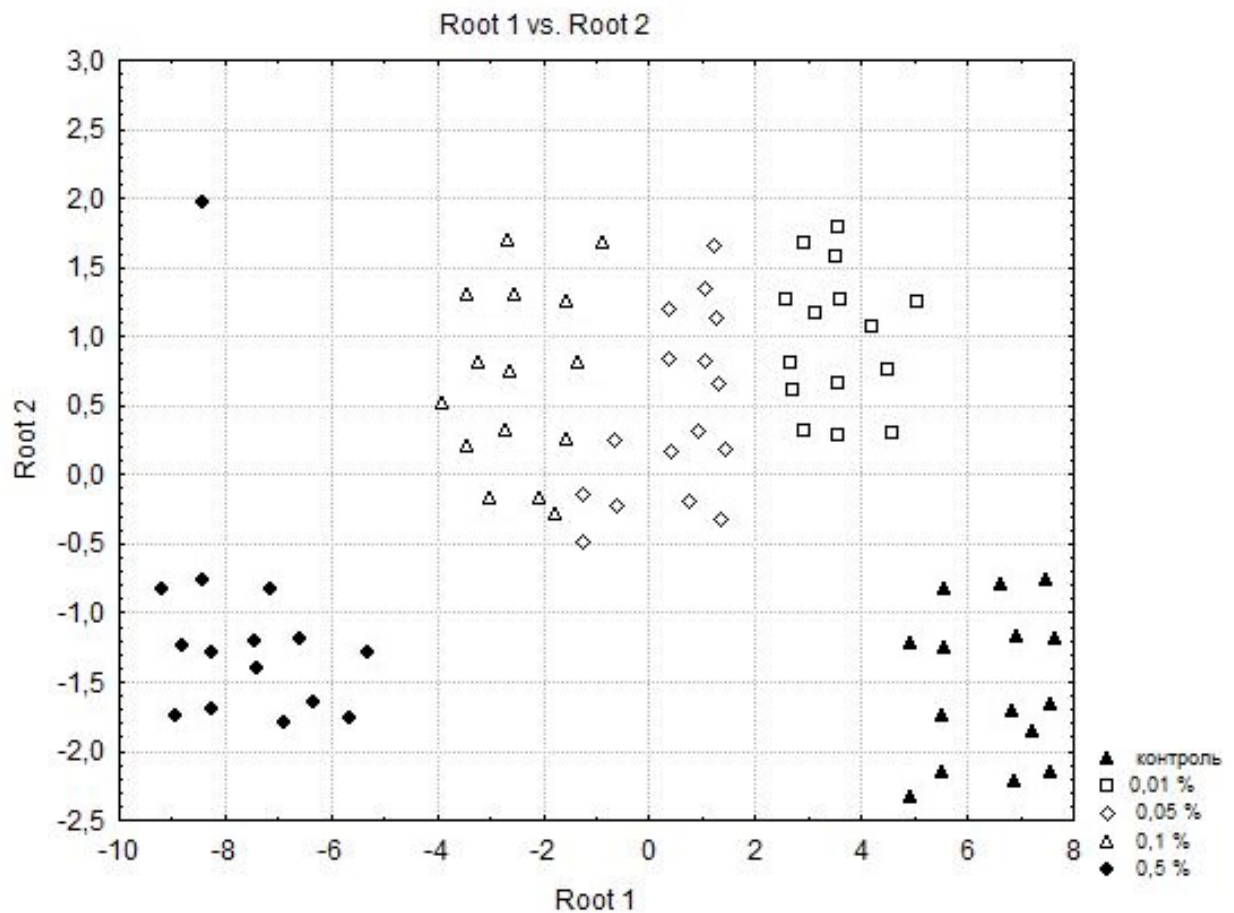


Рис 5.3. Класифікація за концентраціями у факторному просторі

За спектром змін різко виокремлюється дія ТХ-305 0,5 %, у той час як інші концентрації згруповані більш-менш рівномірно в рамках дискримінантних функцій. Таким чином, застосування водночас концентрацій 0,01 %, 0,05 % та 0,1 % є недоцільним. Як висновок – більш ефективним бачиться використання ТХ-305 у концентраціях 0,1 – 0,5 %.

Перша група містить зміни, пов'язані з будовою пагона. До цієї групи належать такі ознаки: товсте або тонке стебло, високе чи коротке стебло, напівкарликові форми, інтенсивність або слабкість воскової поволоки, а також її наявність чи відсутність. Ймовірність виникнення мутацій у цій групі середня. Найчастіше з'являються високорослі та низькорослі форми, а також зміни за інтенсивністю воскової поволоки (слаба воскова поволока, відсутність воскової поволоки). Особливо частотні високостеблові форми, присутні для всіх варіантів

без винятку, високоймовірні – до 0,6 %, у середньому 0,42 %. Низькостеблові виникають не завжди та більш вірогідні в разі підвищення концентрації та менш характерні для сортів Flamenko, Altigo – до 0,4 %, у середньому 0,22 %. Приблизно така сама ситуація для змін зі слабкою та відсутністю воскової поволоки. Напівкарликові форми виникають лише за дії максимальної концентрації (рис. 5.4, 5.5).



Рис 5.4. Зміни за висотою сорту Altigo:

1 – високорослий, 2 – вихідна форма, 3, 4 – низькорослі форми

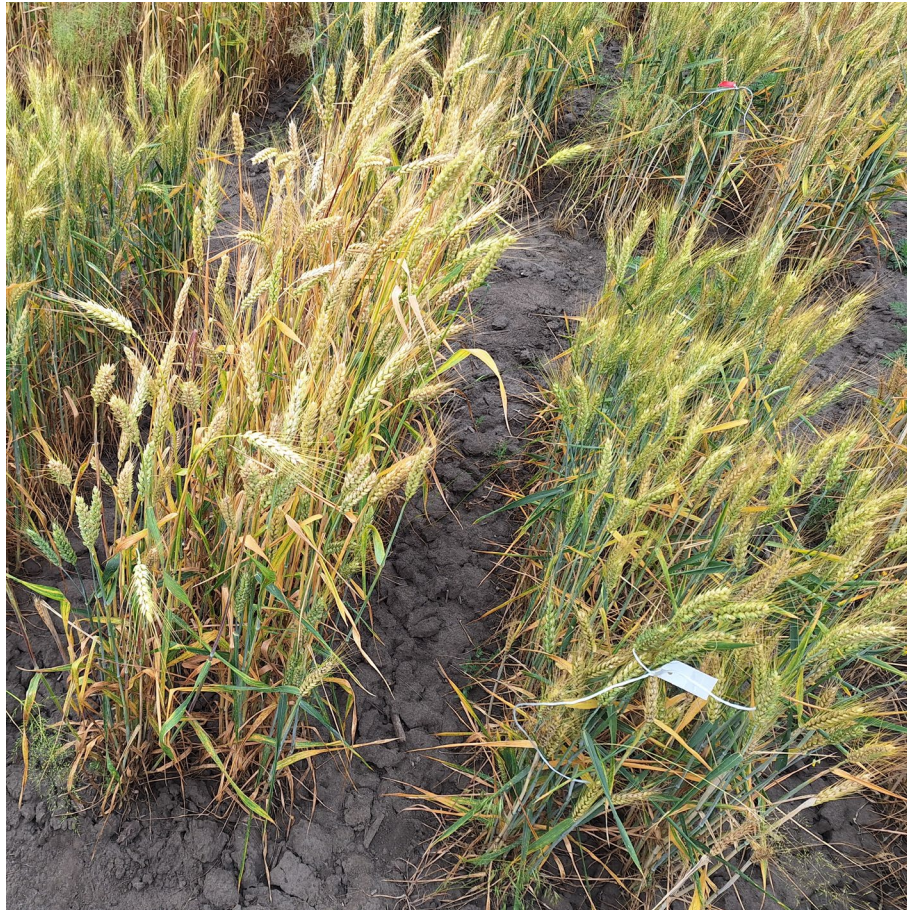


Рис 5.5. Напівкарлик від сорту Altigo

Другу групу утворюють мутанти за розміром та формою зерна. Мутації рідкі та немодельні. Відзначалися такі зміни, як велике та дрібне зерно. Зміни регулярні, але низькоїмовірні, виникають у разі збільшення концентрації діючого агента. Більш вірогідне виникнення дрібного зерна – до 0,4 %, але в середньому 0,17 %.

До третьої групи входять мутації за структурою колосу. До неї були віднесені такі форми, як остистий колос, безостий колос, довгий колос, рихлий колос, циліндричний колос, веретеноподібний колос, щільний колос, великий колос, дрібний колос, напівостистий колос, ригідний колос, булавоподібний колос, загострений колос, подвійний колос, антоціанові ості. Серед цих змін регулярними та більш менш вірогідними є остистий колос, безостий колос, довгий колос дрібний колос, напівостистий колос. Форми з великим колосом виникали з відносно високою частотою лише в сортів Співанка та Altigo (до 0,4 %). Особливо регулярним є виникнення спадкових форм за типом довгий колос.

Виникнення форм з безостим колосом є більш вірогідним у остистих форм, ніж форм з остистим колосом у безостих. Частота цих змін підвищується зі збільшенням концентрації. Група модельна, мутації середньочастотні, частково регулярні.

Четверту групу утворюють мутантні форми зі змінами фізіології росту і розвитку рослин: стерильність (характерна лише для найвищої концентрації ТХ-305, але з доволі високою ймовірністю та регулярно), ранньостиглість (регулярно для усіх варіантів – до 0,6 %, у середньому 0,3 %), пізньостиглість (регулярно для усіх варіантів – до 0,8 %, у середньому 0,32 %), стійкість до хвороб (регулярно для усіх варіантів, крім першої концентрації, – до 0,4 %, у середньому 0,15 %) (рис. 5.6). Модельна група.

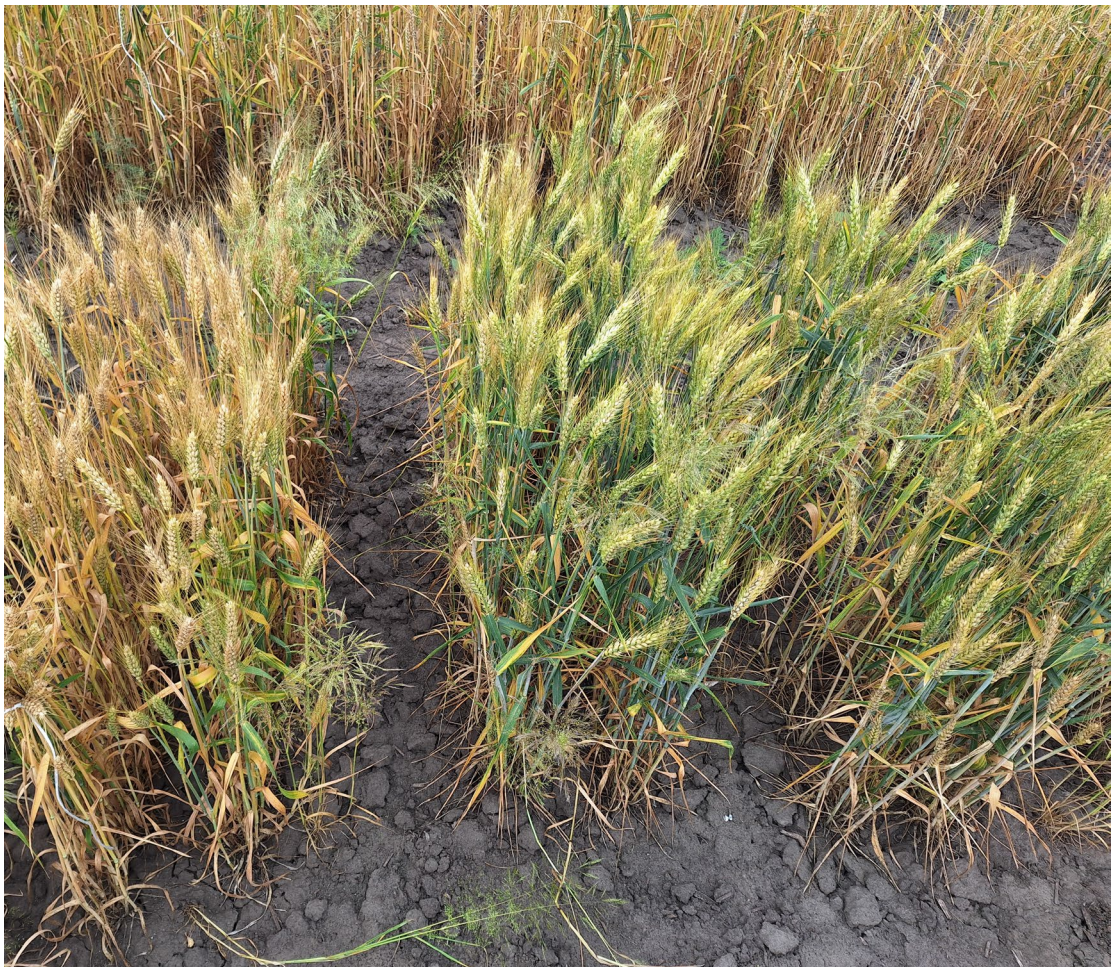


Рис 5.6. Ранньостигла лінія сорту Співанка

П'ята – група системних мутацій. Фактично відсутні, крім невеликої кількості переважно спельтоїдних форм за високих концентрацій, поодиноких скверхедах (рис. 5.7 та 5.8). Група немодельна.



Рис 5.7. Скверхед за дії ТХ-305 0,5 %



Рис 5.8. Спельтоїди у сорту Подолянка

До шостої групи належать господарсько-цінні форми, які характеризуються високою врожайністю зерна або здатністю до кушення. У середньому частота таких змін досягає 0,17 – 0,16 %. Такі мутації є рідкісними, але досить рівномірно ідентифіковані за кожним сортом, без специфіки за окремими концентраціями, і тому група вважається немодельною.

Переважно дія епімутагенного чинника ТХ-305 виявляється у виникненні таких змін: епімутації менш різкі за фенотипом, зокрема за структурою колосу, тобто зміни, що характеризуються менш вираженим відхиленням від вихідної форми. Індукція невеликої кількості форм, які мають потенційну господарську цінність. До спадкових змін регулярного характеру з високою відносною частотою належать високо- та низькостеблові форми, зміни зі слабкою та відсутністю воскової поволоки, довгим колосом, великим колосом (лише у сортів Співанка та Altigo). Регулярним також є виникнення змін за строками стиглості, особливо за вищих концентрацій 0,1 % та 0,5 %, але дія погіршується

через вагому кількість стерильних форм. Ймовірність виникнення продуктивних форм низька, але регулярна. Більш доцільним є використання концентрацій 0,1 – 0,5 %, епімутаген індукує з посередньою частотою дуже широкий для речовини такого характеру дії спектр спадкових змін.

Високий рівень опосередкованості дії епімутагену генотип-епімутагенною компонентою. Відсутність суттєвої різниці у дії між сортами вказує на загальний характер взаємодії. У деяких генотипів спостерігається низька толерантність до дії епімутагену, що є основним проявом їхньої взаємодії з цим фактором.

Епімутагенна дія демонструє високий рівень специфічності для окремих генотипів, проте загалом її прояв є досить стабільним серед різних сортів. Основним наслідком є індукція як незначних мутацій, так і рідкісних господарсько-цінних форм, що відкриває перспективи для подальшого використання епімутагенів у генетичному поліпшенні.

5.3. Оцінка продуктивності та якості агроценозів на основі створеного матеріалу

Епімутагенна дія зі спадкуванням змін має особливий науковий та практичний інтерес завдяки високій специфічності щодо вихідного матеріалу та можливості виникнення полігенних малих мутацій, переважно біохімічного характеру. Ця особливість епімутагенів відкриває нові перспективи для генетичного вдосконалення пшениці порівняно з іншими методами [26, 27].

Озима пшениця залишається ключовою та пріоритетною злаковою культурою, особливо для регіонів з нестабільними агрокліматичними умовами. Проблеми своєчасного зволоження та нестабільності температурного режиму призводять до значних коливань врожайності. Це формує гостру потребу в створенні нової зародкової плазми для генетичного поліпшення традиційних сортів [10, 11].

Використання епімутагенів у дослідженнях та селекції озимої пшениці створює умови для розширення спектра генетичної різноманітності, зокрема з поліпшенням таких характеристик, як стійкість до стресів, адаптивність до екстремальних умов та підвищення харчової цінності зерна [27].

Застосування епімутагенів на різноманітному еколого-географічному вихідному матеріалі відкриває можливості для значних змін у спектрі малих цінних мутацій у певних генотипів. Водночас існує ризик виникнення додаткових негативних наслідків (рис. 5.9). Завдяки можливості прихованих комплексних змін без негативних кореляцій епімутації сприяють поліпшенню біохімічних компонентів. Це може значно підвищити харчову цінність злакових культур, що часто не відповідає потребам населення [8].

У поколіннях M_3 – M_4 мутації ідентифікували шляхом візуальної оцінки змін фенотипу, біометричного аналізу структури врожайності, аналізу біохімічного складу, зокрема вмісту білків, клейковини, гліадинів та глютенінів, визначення мікроелементного складу зерна (Mg, Mn, Zn, Mo, Co, Cu) із застосуванням спектрометра Agilent 5110.

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою ANOVA-аналізу, дискримінантного та кластерного аналізів, що дозволило отримати вірогідні висновки щодо впливу епімутагенів на різні параметри досліджуваних генотипів.



Рис. 5.9. Вилягання високостеблового продуктивного епімутанта

Дані щодо частоти позитивних епігенетичних змін у третьому-четвертому поколіннях для всіх чотирьох генотипів наведено в табл. 5.4. У таблиці враховано кількість ліній, наявність форм із полізмінами за корисними характеристиками спектра, а також можливе виникнення негативних змін.

Результати факторного аналізу показали загальну тенденцію до зростання частоти позитивних змін із підвищенням концентрації мутагену. Для сорту Співанка за максимальної концентрації ТХ-305 (0,5 %) частота позитивних змін

суттєво знижувалася. Частина спектра, що відповідала позитивним епімутаціям, залишалася переважно стабільною з незначними флуктуаціями, наприклад для сорту Подолянка, які мали обмежену практичну цінність. Залежності від сорту, крім нижчої мінливості в сорту Співанка, не виявлено.

Ці результати свідчать про те, що використання епімутагенів, навіть за високих концентрацій, може мати різну ефективність залежно від генотипу та концентрації, що потрібно враховувати в селекційних програмах.

Загальна кількість ліній з позитивними змінами, а також тих, що були визнані перспективними, підпорядковувалася тим самим закономірностям, що й частота позитивних епігенетичних змін (табл. 5.4).

Для всіх сортів зі збільшенням концентрації ТХ-305 спостерігалось поступове зростання частоти цінних ліній до загальної кількості досліджених сімей. Проте, через низький вихід таких форм, статистична достовірність переходів між окремими варіантами була значно меншою, за винятком сорту Flamenko.

Загальний висновок вказує на те, що використання ТХ-305 у концентраціях 0,1 % та 0,5 % було більш доцільним з позиції індукції корисних змін, оскільки саме ці концентрації забезпечували кращий баланс між частотою позитивних епімутацій і перспективністю отриманих ліній.

За результатами кластерного аналізу (рис. 5.10) суттєво виділився сорт Співанка, що демонстрував нижчий рівень мінливості та відносно більшу стабільність характеристик порівняно з іншими сортами.

Статистично достовірної різниці між іншими сортами не виявлено. Це свідчить про те, що як об'єкти епімутагенного впливу сортовий матеріал було підібрано контрастно та з урахуванням характеру викликаних змін. Такий підбір

забезпечив вищу вірогідність адекватної оцінки мінливості та ефективності епімутагенного впливу.

Таблиця 5.4

Характеристики корисної мінливості за дії ТХ-305 ($n = 400-500$)

Сорт	Частота позитивних змін, %	Частина	Ліній, шт	Цінних, шт	Частота цінних, шт
Співанка, кт.	0,20 ^a	0,50	1	0	0,00 ^a
ТХ-305 0,01 %	1,60 ^b	0,40	6	3	0,60 ^b
ТХ-305 0,05 %	2,20 ^c	0,40	9	4	0,80 ^b
ТХ-305 0,1 %	3,00 ^d	0,40	12	6	1,20 ^b
ТХ-305 0,5 %	2,30 ^c	0,20	6	4	1,00 ^b
Altigo, кт.	0,6 ^a	0,80	3	1	0,20 ^a
ТХ-305 0,01 %	1,20 ^b	0,30	4	1	0,20 ^a
ТХ-305 0,05 %	1,20 ^b	0,20	4	3	0,60 ^a
ТХ-305 0,1 %	2,80 ^c	0,30	9	5	1,00 ^{ab}
ТХ-305 0,5 %	3,60 ^d	0,30	10	6	1,30 ^b
Подольанка, кт.	0,40 ^a	0,70	2	0	0,00 ^a
ТХ-305 0,01 %	1,00 ^b	0,60	7	2	0,40 ^a
ТХ-305 0,05 %	1,60 ^c	0,30	7	2	0,40 ^a
ТХ-305 0,1 %	2,60 ^d	0,40	10	3	0,60 ^{ab}
ТХ-305 0,5 %	4,30 ^e	0,40	13	3	0,80 ^{ab}
Flamenko, кт.	0,20 ^a	0,30	1	0	0,00 ^a
ТХ-305 0,01 %	1,40 ^b	0,40	6	3	0,60 ^b
ТХ-305 0,05 %	1,80 ^b	0,40	8	4	0,80 ^b
ТХ-305 0,1 %	3,00 ^c	0,40	10	6	1,50 ^c
ТХ-305 0,5 %	4,00 ^d	0,30	9	6	2,00 ^c

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

За результатами дискримінантного та факторного аналізу (табл. 5.5) було виявлено модельність ряду ознак, що належать до корисної частини спектра. До цих ознак належать: товсте стебло, низькостеблові, напівкарлик, інтенсивна воскова поволока, велике зерно, довгий колос, великий колос, ранньостиглість, стійкість до захворювань, продуктивні, куцисті форми, високий вміст білка,

позитивні у кількості білкового компонента, позитивні за вмістом мікроелементів.

Серед вказаних ознак модельними, тобто тими, які можна достовірно отримати внаслідок дії епімутагену ТХ-305, є: вищий вміст білка, окремих цінних складових білків, вміст мікроелементів, ранньостиглість, низькостебловість, отримання форм з довгим колосом.

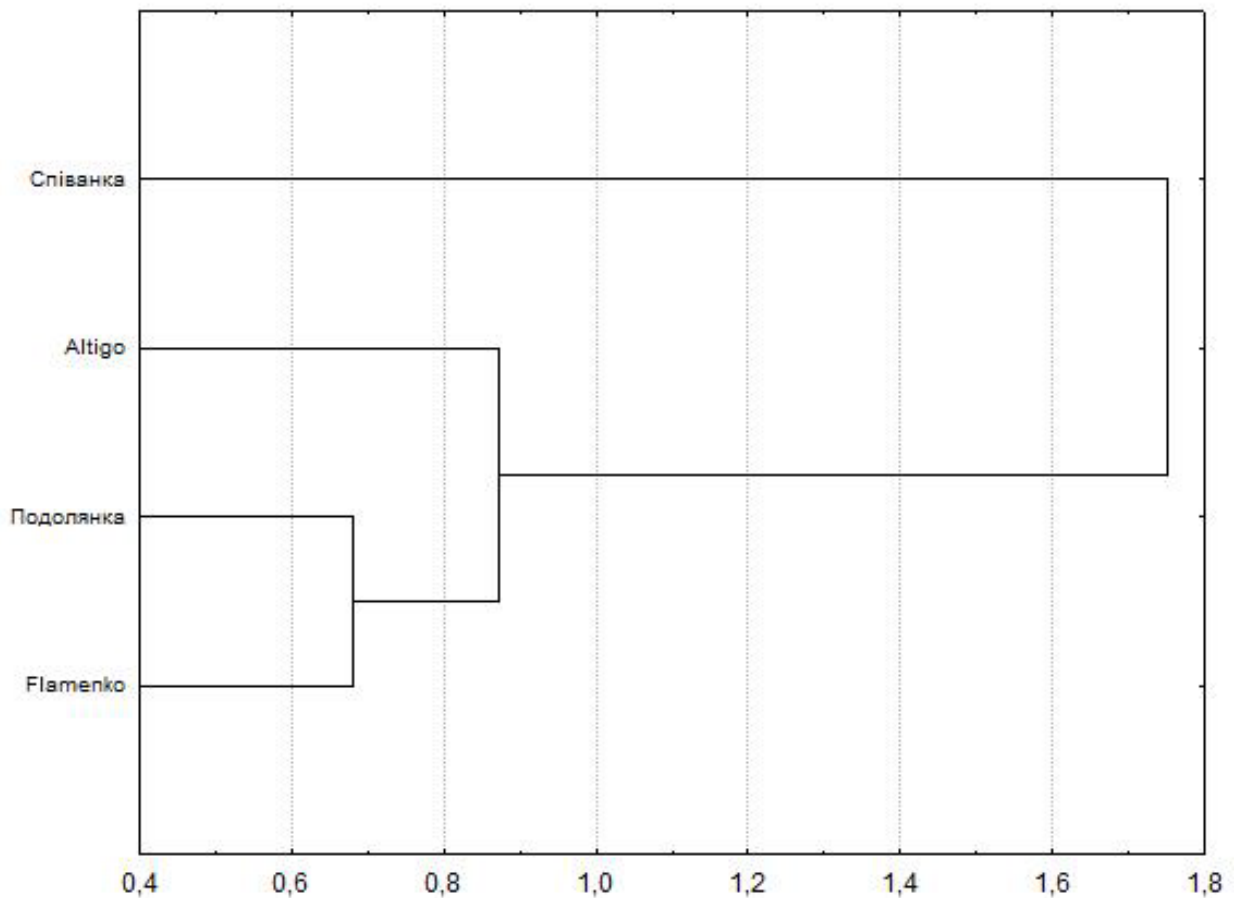


Рис. 5.10. Класифікація за кластерним аналізом. Частота позитивних змін

Ці ознаки демонструють потенціал для поліпшення генетичного фонду пшениці в умовах епімутагенного впливу, підкреслюючи перспективність застосування ТХ-305 для отримання цінних форм.

Сортова специфіка проявлялася в таких ознаках: низькостеблові форми – переважно характерні для сортів Співанка та Flamenko, напівкарлики виявлені в сорті Altigo. Інтенсивна воскова поволока спостерігалася в сорті Співанка.

Велике зерно характерне для сорту Подолянка. Довгий колос – переважно в сорті Flamenko. Великий колос виявлено в сортах Співанка та Altigo (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Значущість окремих ознак для епігенетичної мінливості

Ознака	Концентрація	Сорт	Wilks Lambda λ	F _{0.05}	p-level
Товсте стебло	--	–	0,320	1,900	0,090
Низькостеблові	0,1, 0,5 %	Співанка, Flamenko	0,090	14,340	0,010
Напівкарлик	0,5 %	Altigo	0,210	3,780	0,060
Інтенсивна воскова поволока	--	Співанка	0,220	3,700	0,080
Велике зерно	--	Подолянка	0,220	3,840	0,080
Довгий колос	--	Flamenko	0,210	4,100	0,060
Великий колос	--	Співанка, Altigo	0,210	4,040	0,060
Ранньостиглість	--	–	0,110	10,040	0,010
Стійкість до захворювань	--	–	0,220	3,670	0,080
Продуктивні	--	–	0,250	2,570	0,080
Кущисті форми	--	–	0,240	2,900	0,090
Вміст білка	0,1, 0,5 %	Flamenko, Altigo	0,230	3,010	0,080
Позитивні в кількості білкового компонента	0,1, 0,5 %	Flamenko, Altigo	0,140	6,950	0,020
Позитивні за вмістом мікроелементів	0,1, 0,5 %	Flamenko, Altigo	0,130	7,680	0,020

Ранньостиглість, стійкість до захворювань, продуктивність, кущистість, високий вміст білка, позитивні зміни у білковому складі, підвищений вміст мікроелементів – ці ознаки були характерними для всіх трьох сортів (Flamenko, Altigo, Співанка). Інші ознаки, що належать до корисної частини спектра, не мали суттєвої залежності від об’єкта дії.

Ознаки, які отримували переважно за дії концентрацій 0,1 % та 0,5 % ТХ-

305: низькостебловість, високий вміст білка, позитивні зміни в кількості білкових компонентів, позитивний вміст мікроелементів. Ознака напівкарликовості виявлялася здебільшого за дії концентрації 0,5 %.

За результатами попередньої оцінки порівняльного та контрольного випробувань у 2023–2024 роках залишилися 6 ліній, що продемонстрували більш високі врожайні якості порівняно з контролем (табл. 5.6).

Вплив концентрацій ТХ-305 на формування ліній із підвищеною врожайністю показав, що сорт Подолянка повністю випав із рядів мінливості, без отримання перспективних форм. Серед інших сортів виокремилися: Altigo – три форми; Співанка – дві форми, серед яких найкраща лінія за результатами випробувань – лінія 30; Flamenko – одна форма, яка статистично достовірно належить до двох гірших ліній.

Параметрами, пов'язаними з підвищенням врожайності, були такі: зростання маси тисячі зерен, підвищення маси зерна з колосу. Чотири лінії були отримані за дії ТХ-305 у концентрації 0,5 %. Дві лінії, серед яких найкраща, – за дії ТХ-305 у концентрації 0,1 %.

Таблиця 5.6

Врожайні якості перспективних ліній

№	Походження	Врожайність, т/га		
		2023	2024	середня
18	Співанка, ТХ-305 0,1 %	7,02±0,06 ^a	7,41±0,07 ^a	7,22±0,05 ^a
30	Співанка, ТХ-305 0,5 %	7,63±0,04 ^b	7,49±0,06 ^a	7,56±0,05 ^b
34	Altigo, ТХ-305 0,1 %	7,41±0,04 ^c	7,23±0,05 ^b	7,32±0,05 ^a
112	Altigo, ТХ-305 0,5 %	7,32±0,08 ^c	7,15±0,04 ^b	7,34±0,02 ^{ab}
211	Altigo, ТХ-305 0,5 %	7,10±0,03 ^a	7,09±0,07 ^b	7,10±0,06 ^a
212	Flamenko, ТХ-305 0,1 %	7,02±0,02 ^a	7,09±0,06 ^b	7,06±0,05 ^{ac}

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

У табл. 5.7 наведено показники технологічної якості борошна для продуктивних ліній. Згідно з результатами, лінії 211 та 212 із сортів Altigo та

Flamenko виявилися джерелами комплексної високої якості. Ці лінії поєднують у своїй композиції високий вміст більшості позитивних компонентів. У лінії 212 спостерігається нижчий вміст гліадинів, але цей дефіцит компенсується високим вмістом високомолекулярних глютенінів, що позитивно впливає на якість борошна.

Кращі форми, які продемонстрували високу технологічну якість борошна, були індуковані вищими концентраціями епімутагену. Це підкреслює ефективність підвищених доз епімутагенів у формуванні бажаних властивостей у лініях.

Таблиця 5.7

Технологічні якості перспективних ліній

Лінія	Білок, %	Клейковина , %	Глютенін		Гліадин
			HMW	LMW	
18	13,95 ^a	24,91 ^a	0,16423 ^a	0,48435 ^a	0,4555 ^a
30	14,10 ^a	26,22 ^b	0,16225 ^a	0,49453 ^b	0,4443 ^b
34	14,02 ^a	25,11 ^a	0,16323 ^a	0,45467 ^c	0,4435 ^b
112	13,82 ^a	25,11 ^a	0,17156 ^b	0,45465 ^c	0,4121 ^c
211	14,52 ^c	27,12 ^d	0,20153 ^c	0,48300 ^a	0,4938 ^d
212	14,42 ^c	27,71 ^c	0,21153 ^d	0,46199 ^c	0,4038 ^c
C _v , %	3,45	6,23	10,15	5,32	5,28

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

Таким чином, лінії 211 та 212 є перспективними джерелами високої зернової якості завдяки поєднанню позитивних компонентів у складі борошна. Вони можуть бути використані для поліпшення якості продукції. Інші лінії демонструють характеристики, що відповідають рівню сильних пшениць, і тому вони також мають потенціал для використання в селекційних програмах.

Особливу увагу варто звернути на лінію 30, яка походить від сорту Співанка. Вона показала перспективні результати, і її можна рекомендувати для прямого використання в селекції та сільському господарстві.

Загалом, якісні параметри ліній демонструють низьку варіативність, що свідчить про стабільність у характеристиках зерна. Однак вміст клейковини є

єдиним параметром, який показує значні коливання, що може вказувати на потребу в додатковому моніторингу цього показника при використанні ліній у виробництві борошна.

Результати досліджень показали, що використання епімутагену є ефективним методом індукції цінних ознак у пшениці, таких як вміст білка, окремі цінні складові білків, вміст мікроелементів, ранньостиглість, низькостеблові форми з довгим колосом. Ці зміни є корисними для покращення якості зерна та підвищення харчової цінності культури.

Проте важливо зауважити, що зміни, які виникають під дією епімутагену, не супроводжуються значними негативними наслідками у фенотипі, що відрізняє цей метод від хімічних супермутагенів. Таким чином, епімутаген є більш м'яким і менш ризикованим методом порівняно з іншими мутагенними підходами.

Проте ці зміни залежні від об'єкта дії й можуть бути ефективними лише після ретельного дослідження та відбору найбільш перспективних ліній. Це підкреслює необхідність точного моніторингу та аналізу при використанні епімутагену, що дозволить досягти максимальних результатів у селекційних програмах (рис. 5.11).



Рис. 5.11. Колекція цінних ліній сорту Flamenko. Панорамне фото

З огляду на отримані результати, рекомендується використовувати епімутаген у концентраціях 0,1 % та 0,5 %, оскільки саме ці варіанти проявляють максимальну ефективність у створенні цінних селекційних форм. Більш помірні концентрації (менше 0,1 %) показали меншу ефективність, що робить їх менш доцільними для цілей селекції.

Дослідження виявило 6 продуктивних форм, з яких виділяються лінія 30 (сорт Співанка, ТХ-305 0,5 %), яка є високопродуктивною, лінія 211 (сорт Altigo, ТХ-305 0,5 %) та лінія 212 (сорт Flamenko, ТХ-305 0,1%), які є джерелами білка високої якості при задовільній врожайності. Ці лінії можуть стати основою для селекційних програм, що орієнтовані на поліпшення якості зерна та врожайності в умовах екологічної нестабільності.

Висновки до розділу 5

1. Досліджуваний епімутаген прогнозовано показав нижчу активність у індукції видимих мутацій, ніж за дії слабких класичних хімічних супермутагенів як алкілувальних агентів, причому дія його спрямована на користь менш масштабних змін, але фіксованих візуально. Більш перспективною за показниками мінливості є дія на більш чутливі сорти.

2. Спектр дії ТХ-305 більш широкий, ніж класичних алкілувальних агентів, що пов'язано з вищим біорізноманіттям та, вочевидь, з нижчою специфічністю до особливостей хромосомного апарату. На відміну від класичних чинників, показник рівня мінливості суттєво менше варіює при переході між концентраціями та має нижчу прогностичну силу.

3. Переважно дія епімутагенного чинника ТХ-305 виявляється у виникненні менш різких змін та індукції невеликої, але регулярної кількості форм, які мають потенційну господарську цінність. До спадкових змін регулярного характеру з високою відносною частотою належать високо- та низькостеблові форми, зміни із слабкою та відсутністю воскової поволоки, довгим колосом, великим колосом (лише в сортів Співанка та Altigo), за строками стиглості, особливо за вищих концентрацій 0,1 % та 0,5 %, але дія погіршується через вагому кількість стерильних форм. Ймовірність виникнення продуктивних форм низька, але регулярна.

4. Більш доцільним є використання концентрацій ТХ-305 0,1 – 0,5 %, високий рівень опосередкованості дії епімутагену генотипепімутагенною компонентою. Епімутагенна дія демонструє високий рівень специфічності для

окремих генотипів, проте загалом її прояв є досить стабільним серед різних сортів. Основним наслідком є індукція як незначних мутацій, так і рідкісних господарсько-цінних форм, що відкриває перспективи для подальшого використання епімутагенів у генетичному поліпшенні пшениці озимої.

5. Рекомендується використовувати епімутаген у концентраціях 0,1 % та 0,5 %, оскільки саме ці варіанти є максимально ефективними в створенні цінних селекційних форм. Більш помірні концентрації (менше ніж 0,1 %) показали меншу ефективність, що робить їх менш прийнятними для цілей селекції. Агент може бути успішним в індукції ранньостиглих низькорослих форм з довгим колосом, поліпшеними за вихідну форму врожайними якостями, показниками вмісту білка та цінних компонентів запасних білків пшениці. Як вихідний матеріал варто використовувати сорти Співанка, Altigo, Flamenko.

6. Виділено шість продуктивних форм, з яких особливу увагу привертають такі: лінія 30 (сорт Співанка, ТХ-305 0,5 %), яка є високопродуктивною, лінія 211 (сорт Altigo, ТХ-305 0,5 %) та лінія 212 (сорт Flamenko, ТХ-305 0,1 %), які є джерелами білка високої якості й мають задовільну врожайність. Ці лінії можуть стати основою для селекційних програм, що орієнтовані на поліпшення якості зерна та врожайності в умовах екологічної нестабільності.

Основні положення змісту цього розділу викладені в наукових працях:

1. Бейко В. С., Назаренко М. М. Мутаційна мінливість при дії Тритон-305Х у пшениці озимої. *Таврійський науковий вісник*. 2024. Вип. 135. С. 26–33. Режим доступу до статті: <https://doi.org/10.32782/2226-0099.2024.135.1.4>

2. Simchenko O., Nazarenko M. Hazelnut varieties as a source of microelements under the conditions of the northern steppe of Ukraine. *Selection of agrocrops in the conditions of climate change: directions and priorities*: Collection of materials II International Scientific and Practical Conference. Odessa : Oldi+, 2023. P. 157–158.

3. Beiko V., Nazarenko M. Mutation changeability under the action of Triton-305X for winter wheat varieties. *Наукові основи адаптивного землеробства* : матеріали Міжнар. науково-практ. конф. з нагоди 100-річчя від дня народження

д-ра с.-г. наук, проф., акад. Федора Трохимовича Моргуна, 90-річчя Агрономічного ф-ту Дніпровського держ. аграр.-екон. ун-ту та Міжнар. дня здоров'я рослин (м. Дніпро, 16-17 трав. 2024 р.) / МОН України ; ДДАЕУ. Дніпро : ДДАЕУ, 2024. С. 255–257.

4. Бейко В. С., Назаренко М. М. Спадкова мінливість у пшениці озимої за дії Тритон-305Х . *Хімія, біотехнологія, екологія та освіта* : зб. матеріалів VIII Міжнар. науково-практ. інтернет-конф. (м. Полтава, 15-16 травня 2024 року). Полтава, 2024. С. 191–195.

ВИСНОВКИ

У дисертаційному дослідженні виявлено можливості створення продуктивних та стабільних агроценозів пшениці озимої з високою якістю зерна на базі використання індукованого біорізноманіття за дії епімутагену з поліфункціональною групою. Висвітлено особливості протоколу застосування чинників цього типу для індукції частоти та спектра спадкових змін, їхні відмінності порівняно з класичними хімічними супермутагенами.

1. Як екогенетичний чинник ТХ-305 продемонстрував вагомий ефект значної віддаленої загибелі для всіх сортів, деякі генотипи зазнали повністю летальних наслідків. Вживання після зимового періоду є диференціювальним фактором для класифікації сортів за придатністю до застосування цього епімутагену.

2. Надійним новим показником для моніторингу депресивних ефектів у першому поколінні можна вважати концентрацію цукрів у вузлі кущення протягом зимового періоду. Динаміка зміни цього показника відтворює не лише зимостійкість, але й негативний фізіологічний ефект дії епімутагену.

3. Загалом застосовані в ході дослідження концентрації можна класифікувати таким чином: ТХ-305 0,01 % та 0,05 % – як помірні, ТХ-305 0,1 % та 0,5 % – як високі, з переходом до напівлетальних. Вірогідність значного ефекту стимуляції фотосинтетичної активності за дії ТХ-305 0,05 % є високою. Надійними моніторинговими параметрами є онтогенетичні показники схожості та загибелі рослин внаслідок зимового періоду, показники перезимівлі та маса тисячі зерен.

4. Зниження життєздатності та зростання стерильності за дії ТХ-305 може мати переривчастий характер, з піковими спадами по досягненню критичних значень залежно від особливостей побудови геному вихідного матеріалу. Певні сорти здатні проявляти дуже високий рівень чутливості до дії відповідного чинника.

5. Цитогенетична активність є надійним моніторингом факту дії. З показників спектра генотип суб'єкта дії переважно впливає на кількість аберацій

за типом мікроядро та відстаюча хромосома, показник кількості мостів, іноді на показник кількості клітин з множинними змінами. Вагомою стає частка рідкісних типів перебудов за типом мікроядра та відстаючих хромосом.

6. Параметри фертильності пилку, загальної частота хромосомних перебудов, наявність фрагментів і подвійних фрагментів були ключовими моментами для аналізу впливу концентрації, у той час як наявність інших типів перебудов та клітин з множинними абераціями, частково частота мостів були модельними для вихідного матеріалу та суттєво залежали від генотипу суб'єкта дії епігенетичного чинника.

7. Епімутаген показав нижчу активність у індукції видимих мутацій, ніж для дії слабких класичних хімічних супермутагенів як алкілувальних агентів, причому дія його спрямована на користь менш масштабних змін, але спектр дії більш широкий. Переважно дія виявляється у виникненні менш різких змін та індукції невеликої, але регулярної кількості форм, які мають потенційну господарську цінність.

8. До спадкових змін регулярного характеру з високою відносною частотою належать високо- та низькостеблові форми, зміни зі слабкою та відсутністю воскової поволоки, довгим колосом, великим колосом, за строками стиглості.

9. Рекомендується використовувати епімутаген у концентраціях 0,1 % та 0,5 %. Агент може бути успішним в індукції ранньостиглих низькорослих форм з довгим колосом, поліпшеними порівняно з вихідною формою врожайними якостями, показниками вмісту білка та цінних компонентів запасних білків пшениці. Як вихідний матеріал варто використовувати сорти Співанка, Altigo, Flamenko.

10. Виділено шість продуктивних форм, з яких особливу увагу привертають такі: лінія 30 (сорт Співанка, TX-305 0,5 %), яка є високопродуктивною, лінія 211 (сорт Altigo, TX-305 0,5 %) та лінія 212 (сорт Flamenko, TX-305 0,1 %), які є джерелами білка високої якості та мають задовільну врожайність.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. У практиці генетичного поліпшення пшениці озимої пропонується використання епімутагену Тритон-305Х у концентраціях 0,1 % та 0,5 %.

2. Виявлено факт зниженої зимостійкості сучасного сортового матеріалу західноєвропейського еко типу порівняно з вітчизняними сортами.

3. Для практичного застосування та як вихідний матеріал пропонуються: лінія 30 (сорт Співанка, ТХ-305 0,5 %), яка є високопродуктивною, лінія 211 (сорт Altigo, ТХ-305 0,5 %) та лінія 212 (сорт Flamenko, ТХ-305 0,1 %), які є джерелами білка високої якості й мають задовільну врожайність.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Артемчук І. П., Логвиненко В. Ф. Вплив експозиції дії мутагенів на частоту мутацій озимої пшениці. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2003. Т. 35, № 3. С. 222–228.
2. Бейко В. С., Назаренко М. М. Особливості впливу мутагенних чинників на рослини в першому поколінні. *Матеріали III Міжнар. науково-практ. конф. «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур»*. Дніпро, 2018. С. 115–116.
3. Бейко М. К., Назаренко М. М. Урожайність і якість зерна французьких сортів пшениці озимої в умовах підзони півночі степу України. *Таврійський науковий вісник*. 2021. № 1 (117). С. 9–16. Режим доступу до статті: <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2021.117.2>
4. Бондаренко М. К., Назаренко М. М. Цитологічний аналіз як метод для визначення мутагенної активності. *Матеріали III Міжнар. науково-практ. конф. «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур»*. Дніпро, 2018. С. 120–121.
5. Бондаренко М. К., Назаренко М. М. Пристосування сортів пшениці м'якої озимої французької селекції до умов Північного Степу України. *Агрологія*. 2020. Vol. 3 (4). С. 193–198.
6. Бурденюк-Тарасевич Л. А. Використання генетичної нестабільності чорнобильських мутантів в селекції *Triticum aestivum* L. на адаптивність. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. Т. 21. С. 112–116.
7. Васильківський С. П., Хоменко Т. М. Кореляційний зв'язок елементів продуктивності та структури головного колоса у мутантних ліній пшениці озимої. *Вісник Білоцерківського держ. аграрного ун-ту*. Біла Церква, 2009. Вип. 59. С. 22–26.
8. Іжболдін О. О. Особливості мутагенної депресії при дії гамма-

променів на прикладі пшениці м'якої озимої. *Аграрні інновації*. 2021. № 10. С. 51–57.

9. Іжболдін О. О., Лихолат Т. Ю. Цитогенетична мінливість у пшениці озимої (*Triticum aestivum* L) за дії гамма-променів. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2021. № 5 (93). Режим доступу: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/dopovidi2021.05.005/13921>.

10. Іжболдін О. О. Частота та рівень мінливості пшениці озимої при дії гамма-променів. *Таврійський науковий вісник*. Серія: Сільськогосподарські науки. 2021. № 122. С. 27–33.

11. Іжболдін О. О. Спектр мутаційних змін у пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.) при дії гамма-променів. *Вісник Полтавської держ. аграрної акад.* 2021. № 4. С. 36–43.

12. Ларченко К. А., Моргун В. В. Спадкова мінливість рослин кукурудзи при дії наднизьких доз мутагенів. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2002. Т. 34, № 2. С. 102–107.

13. Молоцький М. Я., Васильківський С. П., Князюк В. І., Власенко В. А. Поняття про вихідний матеріал у селекції рослин. *Селекція і насінництво с.-г. рослин*. Київ : Вища освіта, 2006. С. 66–70.

14. Моргун В. В., Логвиненко В. Ф. Мутаційна селекція озимої пшениці. *Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть*. Київ : Логос, 2001. Т. 2. С. 175–186.

15. Моргун В. В. Спонтанна та індукована мутаційна мінливість і її використання в селекції рослин. *Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть*. Київ : Логос, 2001. Т. 2. С. 144–174.

16. Назаренко Н. Н. Частота та спектр хромосомних аберацій м'якої озимої пшениці під дією гамма-променів. *Матеріали II міжнар. конф. «Молодь у вирішенні екологічних та соціально-економічних проблем сьогодення»*. Одеса, 2013. С. 69–71.

17. Назаренко М. М. Особливості мутагенної депресії при дії гамма-

променів на прикладі пшениці м'якої озимої. *Таврійський науковий вісник*. 2015. № 2 (91). С. 56–62.

18. Назаренко М. М., Ващенко В. В. Депресія під дією деяких хімічних мутагенів на прикладі пшениці м'якої озимої. *Вісник ДДАЕУ*. 2015. № 3 (37). С. 17–24.

19. Назаренко М. М. Виникнення мутацій під дією гамма-променів. *Матеріали міжнар. науково-практ. конф., присвяченої пам'яті М. М. Чекаліна «Генофонд рослин та його використання в сучасній селекції»*. Полтава, 2015. С. 97–98.

20. Назаренко М. М. Мутагенна депресія під дією нітрозозольних агентів на прикладі пшениці озимої. *Таврійський науковий вісник*. 2015. № 93. С. 68–75.

21. Назаренко М. М. Депресія під дією деяких хімічних мутагенів на прикладі пшениці озимої. *Біологічні дослідження – 2016* : зб. наук. пр. Житомир : ПП «Рута», 2016. С. 78–79.

22. Назаренко М. М. Особливості отримання радіомутантів пшениці м'якої озимої. *Матеріали Всеукр. науково-практичної конф. молодих вчених і спеціалістів «Роль наукових досліджень в забезпеченні процесів інноваційного розвитку аграрного виробництва України» (25–26 травня 2016 р., м. Дніпропетровськ, Україна)*. Вінниця : ТОВ «Нілан-ЛТД», 2016. С. 30–31.

23. Назаренко М. М. Напрями розвитку сучасної селекції. Здоров'я рослин : Озимі зернові – пшениця, ячмінь, жито : довідник. Київ, 2016. Розд. 6. С. 150–153.

24. Назаренко М. М. Вплив хімічних мутагенів на показники росту та розвитку пшениці озимої. *Матеріали II міжнар. науково-практ. конф. «Сучасні проблеми агроєкології»*. Миколаїв : ДСДС ІЗЗ, 2016. С. 8.

25. Назаренко М. М., Іжболдін О. О. Спектр та частота мутацій пшениці озимої, викликаних гамма-променями. *Таврійський науковий вісник*. 2017. Вип. 97. С. 89–95.

26. Назаренко М. Особливості адаптації пшениці м'якої озимої на різних

рівнях організації до дії екогенетичних чинників: [монографія]. Дніпро, 2018. 304 с.

27. Назаренко М. М., Сологуб І. М. Мутаційна мінливість пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.) при хімічному мутагенезі. *Вісник Полтавської держ. аграрної акад.* 2019. № 1 (24). С. 56–64.

28. Назаренко М. М., Лихолат Т. Ю. Мінливість у першому поколінні сортів пшениці озимої, що отримали мутагенну дію. *Екологія та ноосферологія.* 2020. Vol. 31 (2). С. 77–81.

29. Назаренко М. М., Лихолат Ю. В., Савосько В. М. Мутагенна депресія пшениці озимої (*Triticum Aestivum* L.) при дії гамма-променів. *Наукові доповіді НУБіП України.* 2021. № 1 (89). URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/14727/13002> (дата звернення: 04.03.2024).

30. Назаренко М. М. Продуктивність сучасних сортів пшениці озимої в умовах підзони Півночі Степу України. *Аграрні інновації.* 2020. № 4. С. 120–125. Режим доступу до статті: <https://doi.org/10.32848/agrar.innov.2020.4.18>

31. Назаренко М. М. Мутагенна депресія пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.) у разі дії гамма-променів. *Вісник ПДАА.* 2021. № 1. С. 13–20. Режим доступу до статті: doi: 10.31210/visnyk2021.01.01

32. Окселенко О. М., Назаренко М. М. Зниження життєдіяльності у сортів пшениці озимої при дії епімутагену. *Таврійський науковий вісник.* 2023. Вип.133. С. 77–84. Режим доступу до статті: doi: 10.32782/2226-0099.2023.133.11

33. Окселенко О. М., Назаренко М. М., Гуленко О. І. Особливості впливу Nonidet P-40 як епімутагену на рослини пшениці озимої. *Зрошуване землеробство.* 2023. Вип. 80. С. 17–22. doi: 10.32848/0135-2369.2023.80.3

34. Окселенко О. М., Назаренко М. М., Гуленко О. І. Особливості впливу епімутагену Тритон 305Х на рослини пшениці озимої. *Аграрні інновації.* 2023. № 21. С. 170–175. doi: 10.32848/agrar.innov.2023.21.25

35. Окселенко О. М., Назаренко М. М., Гуленко О. І. Вплив дії епімутагенного чинника на показники життєдіяльності рослин пшениці озимої.

Таврійський науковий вісник.2023. Вип. 134. С. 109–116. doi: 10.32782/2226-0099.2023.134.16

36. Окселенко О. М., Назаренко М. М. Ефекти депресії у нових сортів пшениці озимої при дії хімічного супермутагена. *Аграрні інновації*.2023. № 22. С. 144–149. doi: 10.32848/agrar.innov.2023.22.22

37. Окселенко О. М., Назаренко М. М. Вплив супермутагену з низькою ушкоджувальною здатністю на показники життєдіяльності рослин пшениці озимої. *Таврійський науковий вісник*. 2024. Вип.136. С. 60–67. doi: 10.32782/2226-0099.2024.136.2.9

38. Окселенко О. М., Назаренко М. М. Цитогенетична мінливість у сучасних сортів пшениці озимої. *Аграрні інновації*. 2024. № 24. С. 201–205. doi: 10.32848/agrar.innov.2024.24.29

39. Окселенко О. М., Назаренко М. М. Екогенетична активність у пшениці озимої на клітинному рівні. *Таврійський науковий вісник*.2024. Вип. 137. С. 169–175. doi: 10.32782/2226-0099.2024.137.21

40. Окселенко О. М., Назаренко М. М. Цитогенетична мінливість за дії епімутагену в пшениці озимої. *Таврійський науковий вісник*. 2024. Вип. 138. С. 141–147. doi: 10.32782/2226-0099.2024.138.17

41. Окселенко О. М., Назаренко М. М. Цитогенетична мінливість за дії епімутагену Тритон 305Х. *Аграрні інновації*. 2024. № 26. С. 150–154. doi: 10.32848/agrar.innov.2024.26.22

42. Проніна О. В. Методичні вказівки до спецпрактикуму «Експериментальний мутагенез» для студентів біологічного ф-ту / Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. Київ : Укр. фітосоціологічний центр, 2002. 24 с.

43. Хоменко Т. М. Створення вихідного матеріалу в селекції озимої пшениці на базі індукованих мутацій : автореф. дис. ... канд. с.-г. наук : спец. 06.01.05 «Селекція рослин». Одеса, 2006. 23 с.

44. Якимчук Р. А. Якість зерна продуктивних мутантів *Triticum aestivum* L., індукованих техногенним забрудненням навколишнього середовища. *Фізіологія рослин і генетика*. 2020. Т. 52, № 2. С. 140–151.

45. Якимчук Р. А. Поліпшення господарсько-корисних ознак озимої пшениці за дії техногенних мутагенних чинників навколишнього середовища. *Фізіологія рослин і генетика*. 2022. Т. 54, № 1. С. 65-84.
46. Abaza G., Awaad A., Attia M., Abdellateif S., Goma A., Abaza S., Mansour E. Inducing potential mutants in bread wheat using different doses of certain physical and chemical mutagens. *Plant Breeding and Biotechnology*. 2020. 8(3). P. 252-264. doi: 10.9787/PBB.2020.8.3.252
47. Abdel-Hamed A., El-Sheikh Aly M., Saber S. Effect of some mutagens for induced mutation and detected variation by SSR marker in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Archives of Agricultural Sciences*. 2021 4(2). P. 80–92. doi: 10.21608/AASJ.2021.86747.1076
48. Abdelnour-Esquivel, A., Perez, J., Rojas, M., Vargas, W., and Gatica-Arias, A.. Use of gamma radiation to induce mutations in rice (*Oryza sativa* L.) and the selection of lines with tolerance to salinity and drought. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2020. Vol. 56, P. 88–97. doi: 10.1007/s11627-019-10015-5
49. Abdoun A., Mekki L., Hamwiah A., Badr A. Effects of γ -radiation on chickpea (*Cicer arietinum*) varieties and their tolerance to salinity stress. *Acta agriculturae Slovenica*. 2022. Vol. 118(2). P. 1–16. doi: 10.14720/aas.2022.118.2.2538
50. Ahumada-Flores S., Pando L., Cota F., de la Cruz T., Sarsu F., de los Santos V. Technical note: gamma irradiation induces changes of phenotypic and agronomic traits in wheat (*Triticum turgidum* ssp *durum*). *Applied Radiation and Isotopes*. 2021.167: 109490. doi: 10. 1016/j. aprad iso. 2020. 109490
51. Amri-Tiliouine W., Laouar M., Abdelguerfi A., Jankowicz-Cieslak J., Jankuloski L., Till B. J. Genetic variability induced by gamma rays and preliminary results of low-cost TILLING on M2 generation of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Plant Science*. 2018. Vol. 9, 1568. doi: 10.3389/fpls.2018.01568
52. Andrew M.T., Ramchander S., Kumar K. K., Muthamilarasan M., Pillai, M. A. Assessment of efficacy of mutagenesis of gamma-irradiation in plant height and

days to maturity through expression analysis in rice. *PLoS One*. 2021. Vol. 16, e0245603. doi: 10.1371/journal.pone.0245603

53. Anter A. Induced mutations in Wheat (*Triticum aestivum* L.) and Improved Grain Yield by Modifying Spike Length. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2021. Vol. 20. P. 313–323. doi: 10.3923/ajps.2021.313.323

54. Apio H., Elegba W., Nunekpeku W., Otu S., Baguma J., Alicai T., Danso K., Bimpong I., Ogwok E. Effect of gamma irradiation on proliferation and growth of friable embryogenic callus and in vitro nodal cuttings of ugandan cassava genotypes. *Frontiers in Plant Science*. 2024. Vol. 15. doi: 10.3389/fpls.2024.1414128.

55. Asif J. Effect of different pre-treatments on seed germination of *Prosopis juliflora* and *Dalbergia sissoo*: a step towards mutation breeding. *Journal of Forest Science*. 2020. Vol. 66. P. 80–88. doi: <https://doi.org/10.17221/64/2019-JFS>

56. Balkan A., Bilgin O., Başer I., Göçmen D., Demirkan A., Deviren B. Improvement of grain yield and yield associated traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes through mutation breeding using gamma irradiation. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*. 2019. Vol. 16. P. 103–111. doi: 10.33462/jotaf.472456

57. Beiko V., Nazarenko M. Early depressive effects of epimutagen in the first generation of winter wheat varieties. *Agrology*. 2022. Vol. 5(2). doi: 10.32819/021106

58. Beiko V., Nazarenko, M. Occurrence of cytogenetic effects under the epimutagen action for winter wheat. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022. Vol.13(3). doi: 10.15421/022238

59. Bezie Y., Tilahun T., Atnaf M., Taye M. The potential applications of site-directed mutagenesis for crop improvement: A review. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 2020. Vol. 24. P. 229–244. doi: 10.1007/s12892-020-00080-3

60. Bilgin O., Sarier S., Başer I., Balkan A. Enhancement of androgenesis and plant regeneration from wheat anther culture by seed pre-sowing gamma irradiation. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*. 2022. Vol. 19, 2. P. 354-365. doi: 10.33462/jotaf.993270

61. Cann D., Hunt J., Rattey A., Porker K. Indirect early generation selection for yield in winter wheat. *Field Crops Research*. 2022. Vol. 282, article number 108505. doi: 10.1016/j.fcr.2022.108505.
62. Caplin N., Willey N. Ionizing radiation, higher plants, and radioprotection: From acute high doses to chronic low doses. *Frontiers in Plant Science*. 2018. Vol. 9, 847. doi:10.3389/fpls.2018.00847
63. Çelik Ö., Ekşioğlu A., Akdaş E.Y. Transcript profiling of salt tolerant tobacco mutants generated via mutation breeding. *Gene Expression Patterns*. 2018. Vol. 29. P. 59–64.
64. 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. Vol. 66, e23220294. doi: 10.1590/1678-4324-2023220294
65. Chatterjee N., Walker G.C. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2017. Vol. 58(5) P. 235–263. doi: 10.1002/em.22087
66. Chopra V. L. Mutagenesis : investigating the process and processing the outcome for crop improvement. *Current Science*. 2005. Vol. 89. P. 353–359.
67. Chaudhary J., Deshmukh R., Sonah H. Mutagenesis approaches and their role in crop improvement. *Plants* 2019. Vol. 8(11), article number 467. doi: 10.3390/plants8110467.
68. Chaudhary J., Alisha A., Bhatt V., Chandanshive S., Kumar N., Mir Z. Mutation breeding in tomato: advances, applicability and challenges. *Plants*. 2019. Vol. 8, 128. doi: 10.3390/plants8050128
69. Desai S., Jadhav A., Ramteke A., Dhole V., Bapat V., Gaikwad N. (2022) Genetic improvement of two Indian non-basmati aromatic rice landraces through physical and chemical mutagenesis. *International Journal Radiation Biology*. 2022. Vol. 98,1. P. 82–89. doi: 10.1080/09553002.2021.1987567
70. Dorrani-Nejad M., Kazemipour A., Maghsoudi-Moud A., Abdolshahi R. Wheat breeding for early heading: Does it improve grain yield under drought stress

and well-watered conditions? *Environmental and Experimental Botany*. 2022. Vol. 200, 104902. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104902>

71. Du Y., Feng Z., Wang J., Jin W., Wang Z., Guo T., Chen Y., Feng H. Frequency and spectrum of mutations induced by gamma rays revealed by phenotype screening and whole-genome re-sequencing in *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Science*. 2022. Vol. 23, 2, 654. doi: 10.3390/ijms23020654

72. Dwinanda P., Syukur S., Suliansyah I. Induction of mutations with gamma ray radiation to improve the characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotype IS-Jarissa. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020. 497, 012013. doi: 10.1088/1755-1315/497/1/012013

73. Dyulgerova B., Dyulgerov N. Evaluation of hullless mutants of winter barley. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 2020. Vol. 85(3). P. 203-209.

74. El-Azab E., Ahmed Soliman M., Soliman E., Badr A. Cytogenetic impact of gamma irradiation and its effects on growth and yield of three soybean cultivars. *Egyptian Journal of Botany*. 2018. Vol. 58(3). P. 411-422. doi: 10.21608/ejbo.2018.3656.1173

75. El-Mouhamady A., Ibrahim H. Elicitation of salt stress-tolerant mutants in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by using gamma radiation. *Bulletin of the National Research Centre*. 2020. Vol. 44, 108. doi: 10.1186/s42269-020-00357-1

76. Ergün N., Akdoğan G., Ünver İkincikarakaya S. Impact of gamma radiation on the agronomic properties of naked barley genotypes. *International Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences*. 2023. Vol. 7(3). P. 650-659. doi: 10.31015/jaefs.2023.3.19.

77. Ergün N., Akdoğan G., Ünver İkincikarakaya S., Aydoğan S. Determination of optimum gamma ray irradiation doses for hullless barley (*Hordeum vulgare* var. nudum L. Hook. f.) genotypes. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*. 2023. Vol. 33(2). P. 219-230. doi: 10.29133/yyutbd.1248710.

78. Essam F., Badrya M., Aya M. Modeling and forecasting of wheat production in Egypt. *Advances and Applications in Statistics*. 2019. Vol. 59(1). P. 89–101. doi: <http://dx.doi.org/10.17654/AS059010089>

79. Fu, Y. B. Understanding crop genetic diversity under modern plant breeding. *Theoretical and Applied Genetics*. 2015. Vol. 128, 2131–2142. doi: 10.1007/s00122-015-2585-y
80. Gharib M., Qabil N., Salem A., Ali M., Awaad H., Mansour E. Characterization of wheat landraces and commercial cultivars based on morpho-phenological and agronomic traits. *Cereal Research Communication*. 2021. Vol. 49. P. 149–159. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00077-2>
81. Gubatov T., Delibaltova V.. Evaluation of wheat varieties by the stability of grain yield in multienvironmental trails. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2020. V. 26, № 2. P. 384–394.
82. Gupta S., Datta A., Pramanik. A., Biswas J., Karmakar R. X-ray and gamma irradiation induced chromosomal aberrations in plant species as the consequence of induced mutagenesis – an overview. *Plant Archives*. 2019. Vol. 19, 1973–1979.
83. Handa H., Kanamori H., Tanaka T., Murata K., Kobayashi F., Robinson S., Koh C., Pozniak C., Sharpe A., Paux E., Wu J., Nasuda, S. Structural features of two major nucleolar organizer regions (NORs), nor-B1 and nor-B2, and chromosome-specific rRNA gene expression in wheat. *The Plant Journal*. 2018. Vol. 96. P. 1148–1159. doi: 10.1111/tpj.14094
84. Harkness C., Semenov M. A., Areal F. Adverse weather conditions for UK wheat production under climate change. *Agricultural and Forest Meteorology*. 2020.1078622282–283. doi: 10.1016/j.agrformet.2019.107862
85. Hase Y., Satoh K., Seito H., Oono Y. Genetic consequences of acute/chronic gamma and carbon ion irradiation of *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. P. 336. doi: 10.3389/fpls.2020.00336
86. 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. Vol. 75. P. 837-846. doi: 10.1007/s10343-022-00750-y.
87. Hiroyasu Y. Mutation breeding of ornamental plants using ion beams. *Breeding Science*. 2018. Vol. 68(1). P. 71–78. doi: 10.1270/jsbbs.17086

88. Holeckova B., Schwarzbacherova V., Galdíková M., Koleničová S., Halusková J., Staničová J., Verebová V., Jutková A. Chromosomal Aberrations in Cattle. *Genes*. 2021. Vol. 12. 1330. doi: 10.3390/genes12091330

89. Hong M., Kim D., Jo Y., Choi H.-I., Ahn J.-W., Kwon S.-J., Kim S., Seo Y., Kim J.-B. Biological Effect of Gamma Rays According to Exposure Time on Germination and Plant Growth in Wheat. *Applied Sciences*. 2022. Vol. 12, 3208. doi: <https://doi.org/10.3390/app12063208>

90. Hongjie L., Timothy D., McIntosh R.A., Yang Z. Breeding new cultivars for sustainable wheat production. *The Crop Journal*. 2019. Vol. 7(6). P. 715–717. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.11.001>

91. Horshchar V., Nazarenko M. Winter wheat cytogenetic variability under the action of a chemical supermutagen. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022. Vol. 13, 4. P. 373–378.

92. Horshchar V., Nazarenko M., Izhboldin O., Didenko V., Kryshyn R. Ecogenetic variability at the first generation after mutagen action. *Modern trends in agricultural science: problems and solutions*. Tallinn : Teadmus OÜ, 2023. P. 127–144.

93. Horshchar V., Nazarenko M. Winter wheat variability under ethylmethansulfonate action. *Scientific Papers. Series A. Agronomy*. 2023. Vol. LXVI, 2. P. 264–271.

94. Horshchar V., Nazarenko M. Winter wheat mutation variability under low-damage ability mutagen action. *AgroLife Scientific Journal*. 2023. Vol. 12, 2. P. 87–94.

95. Horshchar V., Nazarenko M. Features of the action of a highly active chemical agent for new winter wheat genotypes. *Agrology*. 2023. Vol. 6, 1. P. 15–20.

96. Horshchar V., Nazarenko M. Genotype-mutagenic interaction in the cytogenetic variability of winter wheat for a new ecogenetic factor. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. Vol. 14, 3. P. 370–377.

97. Horshchar V., Nazarenko M. Induction of positive changes for winter wheat under the action of a group of ecogenetic factors with lower damaging ability. *Agrology*. 2023. Vol. 6, 3. P. 60–66.
98. Horshchar V., Nazarenko M. Cytogenetic activity of a mutagenic factor with high damaging capacity in winter wheat. *Scientific Horizons*. 2023. Vol. 26, 9. P. 131–142.
99. Horshchar V., Nazarenko M. Inhibition of mutagenic effect in winter wheat as a result of ethylmethansulfonat action. *Agrology*. 2022. Vol. 5, 3. P. 75–80.
100. Horshchar V., Nazarenko M. Heritable variability in winter wheat at the interaction of genotype with factors of high genetic activity. *Scientific Horizons*. 2024. Vol. 27, 1. P. 80–93.
101. Hun B., Gu J., Zhao L., Guo H., Xie Y., Zhao S., Song, X., Han L., Liu L. Factors affecting the radiosensitivity of hexaploidy wheat to γ -irradiation: Radiosensitivity of hexaploidy wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLOS ONE*. 2016. Vol. 11(10): e0165187. doi:10.1371/journal.pone.0161700
102. Husan N., Choudhary S., Laskar, Naaz, N., Sharma N. Comparative study of cadmium nitrate and lead nitrate [Cd(NO₃)₂ and Pb(NO₃)₂] stress in cytophysiological parameters of *Capsicum annum* L. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2022. Vol. 63. P. 627–641. doi: 10.1007/s13580-021-00417-z
103. Hussain M., Iqbal M., Till B., Rahman M. Identification of induced mutations in hexaploid wheat genome using exome capture assay. *PLoS ONE*. 2018. Vol. 13,8, e0201918. doi: 10.1371/journal.pone.0201918
104. Hussain M., Gul M., Kamal R., Iqbal M., Zulfiqar S., Abbas A., Röder M., Muqaddasi Q., Rahman M. Prospects of developing novel genetic resources by chemical and physical mutagenesis to enlarge the genetic window in bread wheat varieties. *Agriculture*. 2021. Vol. 11(7), article number 621. doi: 10.3390/agriculture11070621.
105. International Atomic Energy Agency (2020) Mutant varieties database. [Online] Vienna : IAEA. Available at: <https://mvd.iaea.org> [Accessed 19 October 2023].

106. Jalal A., Oliveira J., Ribeiro J., Fernandes G., Mariano G., Trindade V., Reis A.R. Hormesis in plants: Physiological and biochemical responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2021. Vol. 207, 111225. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111225
107. Jankowicz-Cieslak J., Hofinger B.J., Jarc L., Junttila S., Galik B., Gyenesei A., Ingelbrecht I., Till B. Spectrum and Density of Gamma and X-ray Induced Mutations in a Non-Model Rice Cultivar. *Plants*. 2022, Vol. 11, 3232. doi: 10.3390/plants11233232
108. Jaradat A. Simulated climate change differentially impacts phenotypic plasticity and stoichiometric homeostasis in major food crops. *Emir-ates Journal of Food and Agriculture*. 2018. Vol. 30(6). P. 429–442. doi: 10.9755/ejfa.2018.v30.i6.1705
109. Juhi C., Alisha A., Vacha B., Sonali C., Rupesh D. Mutation Breeding in Tomato: Advances, Applicability and Challenges. *Plants*. 2019. Vol. 8(5). P. 128. doi: 10.3390/plants8050128
110. Jung C, Till B. Mutagenesis and genome editing in crop improvement: perspectives for the global regulatory landscape. *Trends in Plant Science*. 2021. Vol. 26, 12. P.1258–1269. doi: 10.1016/j.tplants.2021.08.002
111. Kartseva T., Alqudah A. M., Aleksandrov V., Alomari D. Z., Doneva D., Arif M., Börner A., Misheva S. Nutritional genomic approach for improving grain protein content in wheat. *Foods*. 2023. Vol. 12(7), article number 1399. doi: 10.3390/foods12071399.
112. Khalil F., Naiyan X., Tayyab M., Pinghua C. Screening of EMS-induced drought-tolerant sugarcane mutants employing physiological, molecular and enzymatic approaches. *Agronomy*. 2018. Vol. 8,10, 226. doi: 10.3390/agronomy8100226
113. Kumar P., Mishra A., Sharma H., Sharma D., Rahim M., Sharma M., Afsana P., Prateek J., Shailender K., Vikas R., Joy R. Pivotal role of bZIPs in amylose biosynthesis by genome survey and transcriptome analysis in wheat (*Triticum*

aestivum L.) mutants. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8, 17240. doi: 10.1038/s41598-018-35366-8

114. Kumar N., Nayak J. K., Pal N., Tyagi S., Yadav R. R., Joshi P., Malik R. Development and characterization of an EMS-mutagenized population of wheat (*Triticum aestivum* L.) for agronomic trait variation and increased micronutrients content. *Cereal Research Communications*. 2024. Vol. 16, 1–3. doi: 10.1007/s42976-024-00525-3

115. 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. Vol. 96(12). P. 1513-1527. doi: 10.1080/09553002.2020.1834161.

116. Lethin J., Byrt C., Berger B., Brien C., Jewell N., Roy S. Improved salinity tolerance-associated variables observed in EMS mutagenized wheat lines. *International Journal of Molecular Science*. 2022. Vol. 23, 19. 11386. doi: 10.3390/ijms231911386

117. 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. Vol. 7(6). P. 718–729. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.09.003>.

118. Li F., Shimizu A., Nishio T., Tsutsumi N., Kato H. Comparison and characterization of mutations induced by gamma ray and carbon-ion irradiation in rice (*Oryza sativa* L.) using whole genome resequencing. *G3 Genes Genomes Genetic*. 2019. Vol. 9. P. 3743–3751. doi:10.1534/g3.119.400555

119. Li Y., Xiong H., Zhang J., Guo H., Zhou C., Xie Y., Zhao L. Genome-wide and exome-capturing sequencing of a gamma-ray-induced mutant reveals biased variations in common wheat. *Frontier Plant Science*. 2022. Vol. 12, 793496. doi: 10.3389/fpls.2021.793496

120. Liu Y., Liang X., Zhou F., Zhang Z. Accessing the agronomic and photosynthesis-related traits of high-yielding winter wheat mutants induced by ultra-

high pressure. *Field Crops Research*. 2017. Vol. 213. P. 165-173. doi: 10.1016/j.fcr.2017.08.005

121. Mahanish J.T., Kin C., The mutagenic properties of formaldehyde and acetaldehyde: Reflections on half a century of progress. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2025. Vol. 830, 111886, doi: 10.1016/j.mrfmmm.2024.111886.

122. Maluszynski K., Nichterlein K., Van Zanten L. Officially released mutant varieties – The FAO/IAEA database. *Mutation Breeding Review*. 2000. № 12. P. 1–84.

123. Maluszynski M. Major mutation-assisted plant breeding supported by FAO/IAEA. *Euphytica*. 2001. Vol. 119. P. 81–92.

124. Mamenko T. P., Yakymchuk R. A. Regulation of physiological processes in winter wheat by growth regulators in conditions of powdery mildew infection. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. Vol. 10(3). P. 331-336. doi: 10.15421/021951.

125. 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. Vol. 1(1). P. 29-34. doi: 10.52878/ipsci.2021.1.1.4.

126. Manual on mutation breeding. Third edition. Rome : IAEA, 2018. 301 p.

127. Mateus B. Ma., Luvizotto-Santos R., Hauser-Davis R. Genetic damage in elasmobranchs: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2025. Vol. 113, 104607. doi: 10.1016/j.etap.2024.104607.

128. Miedaner T., Juroszek P. Climate change will influence disease resistance breeding in wheat in Northwestern Europe. *Theoretical and Applied Genetics*. 2021. Vol. 134, 6. P. 1771–1785. doi: 10.1007/s00122-021-03807-0

129. Nazarenko M., Okselenko O. Chapter 1. Grows and development of winter wheat plants at first generation after mutagen action. Innovations in technical and natural sciences : Monograph, Volume 2 / M. Nazarenko, O. Okselenko, N. Abayeva, V. Golovachyova, Y. Baidak, R. Muhamadeyeva; ed. by P. Busch; «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH. Vienna, 2016. P. 3–15.

130. Nazarenko M., Kharytonov M. Characterization of wheat mutagen depression after gamma-rays irradiated. *Agriculture and Forestry*. 2016. Vol. 62, №4. P. 267–276.
131. Nazarenko M. Parameters of winter wheat growing and development after mutagen action. *Bulletin of Transilvania University of Brasov – series II – Forestry, Wood Industry, Agricultural, Food Engineering*. 2016. Vol. 9 (58). № 2. P. 109–116.
132. Nazarenko M. M., Izhboldin O. O. Chromosomal rearrangements caused by gamma-irradiation in winter wheat cells. *Biosystems Diversity*. 2017. Vol. 25, №1. P. 25–28.
133. Nazarenko M. Influence of nitrosoalkylureas on winter wheat plants at first generation after mutagen action. *Agriculture and Forestry*. 2017. Vol. 63, №1. P. 319–328.
134. Nazarenko M. Optimal doses and concentrations of mutagens for winter wheat breeding purposes. Part I. Grain productivity / M. Nazarenko, Y. Lykholat, I. Grigoryuk, N. Khromykh. *Journal of Central European Agriculture*. 2018. Vol. 19, 1. P. 194–205. DOI: /10.5513/JCEA01/19.1.2037
135. 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. Режим доступу до статті: DOI: 10.17707/AgricultForest.65.3.06 (Scopus).
136. Nazarenko M., Solohub I., Izhboldin O. Winter wheat variability according to local conditions. *Acta agriculturae Slovenica*. 2019. Vol. 114, № 1. P. 113–129. Режим доступу до статті: doi:10.14720/aas.2019.114.1.13
137. Nazarenko M. Induction of Winter Wheat Plant Structure Mutations by Chemomutagenesis. *Agrology*. 2020. Vol. 3 (2). P. 57–65. Режим доступу до статті: doi: 10.32819/020008
138. Nazarenko M., Semenchenko O., Izhboldin O., Hladkikh Y. French winter wheat varieties under ukrainian north steppe condition. *Agriculture and Forestry*. 2021. Vol. 67 (2). P. 89–102. Режим доступу до статті: doi: DOI: 10.17707/AgricultForest.67.2.07

139. Nazarenko M. M. Comparative analysis of winter wheat varieties and lines adaptability under climate changes conditions. *Optimization of the fruit plants species composition and improving the quality of plant materials under climate change*. LIRA, 2022. P. 167–203.
140. Nageem K. A., Sivasung M., Nagarajan S. Induced Pusa Dwarfing Genes in *Triticum turgidum* and their inheritance. *Plant Mutation Reports*. 2006. Vol. 1, №2. P. 17–20.
141. Navid S., Soufizadeh S., Jahansuz M. Eskandari A. Gamma radiation influence on germination characteristics of barley. *DYSONA-Applied Science*. 2021. Vol. 2(1). P. 8–12. doi: 10.30493/DAS.2020.244207
142. Ntsefong G. N., Ernest F. P., Kinsley T.M., Hervé Z. A., Noelle M.H., Martin B. J. Gamma Ray Induced Mutagenesis for Crop Improvement: Applications, Advancements, and Challenges. 2023. doi: 10.5772/intechopen.1002997
143. Okamura M., Yasuno N., Ohtsuka M. Wide variety of flower-color and -shape mutants regenerated from leaf cultures irradiated with ion beams. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. 2003. № 206. P. 574–578.
144. Oladosu Y., Rafii M.Y., Abdullah N., Hussin G., Ramli A. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology and Biotechnology Equipment*. 2016. Vol. 30, 1. P. 1–6. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1087333>
145. OlaOlorun B., Shimelis H., Mathew I. Variability and selection among mutant families of wheat for biomass allocation, yield and yield-related traits under drought stressed and non-stressed conditions. *Journal of Agronomy and Crop Sciences*. 2021. Vol. 207(3). P. 404-421. doi: 10.1111/jac.12459.
146. OlaOlorun B., Shimelis H., Laing M., Mathew I. Development of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Populations for Drought Tolerance and Improved Biomass Allocation Through Ethyl Methanesulphonate Mutagenesis. *Frontiers in Agronomy*. 2021. Vol. 3, 655820. doi: 10.3389/fagro.2021.

147. Oney-Birol S., Balkan A. Detection of cytogenetic and genotoxic effects of gamma radiation on M1 generation of three varieties of *Triticum aestivum* L. *Pakistan Journal of Botany*. 2019. Vol. 51(3). P. 887–894. doi: 10.30848/PJB2019-3
148. Pane F., Lopez S., Cantamutto M., Domenech M., Castro-Franco M. Effect of different gamma irradiation doses on the germination and seedling growth of wheat and triticale cultivars. *Australian Journal of Crop Science*. 2018. Vol. 12. P. 1921–1926. doi: 10.21475/ajcs.18.12.12.p1251
149. Pekol S., Baloglu M., Celik A. Evaluation of genotoxic and cytologic effects of environmental stress in wheat species with different ploidy levels. *Turkish Journal of Biology*. 2016. Vol. 40. P. 580–588. doi: 10.3906/biy-1506-6
150. Prabhu L. The Green Revolution and Crop Biodiversity. *Biological Extinction. New Perspectives*. Cambridge, Cambridge University Press, 2019. P. 175-192.
151. Ram H., Soni P., Salvi P., Gandass N., Sharma A., Kaur A., Sharma T. Insertional mutagenesis approaches and their use in rice for functional genomics. *Plants*. 2019. Vol. 8(9), article number 310. doi: 10.3390/plants8090310.
152. 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. Vol. 22(10), article number 5314. doi: 10.3390/ijms22105314.
153. Rozman L. The effect of gamma radiation on seed germination of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Acta Agriculturae Slovenica*. 2015. Vol. 103(2). P. 307-311. doi: 10.14720/aas.2014.103.2.15
154. Sala F., Herbei M. Interdependence relationships between the productivity elements in wheat ear and the photosynthetic pigments in leaves in relation to their position on the stem. *Agriculture and Forestry*. 2023. Vol. 69(2). P. 139-154. doi: 10.17707/AgricultForest.69.2.11.
155. Sathiyaraj S. Radiation-Tolerant *Fibrivirga* spp. from Rhizosphere Soil: Genome Insights and Potential in Agriculture. *Genes*. 2024. Vol. 15, 8, doi: 104810.3390/genes15081048.

156. Semenov A., Korotkova I., Sakhno T., Marenych M., Hanhur V., Liashenko V., Kaminsky V. Effect of UV-C radiation on basic indices of growth process of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds in pre-sowing treatment. *Acta agriculturae Slovenica*. 2020. Vol. 116(1). P. 49–58. doi: 10.14720/aas.2020.116.1.1563
157. Senapati N., Semenov M. Large genetic yield potential and genetic yield gap estimated for wheat in Europe. *Global Food Security*. 2020. Vol. 24, 100340. doi: 10.1016/j.gfs.2019.100340
158. Shabani M., Alemzadeh A., Nakhoda B., Razi H., Houshmandpanah Z., Hildebrand D. Optimized gamma radiation produces physiological and morphological changes that improve seed yield in wheat. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2022. Vol. 28(8). P. 1571-1586. doi: 10.1007/s12298-022-01225-0.
159. Sneh M., Scheibler C., Mordukhovich I., McNeely E., Nagel Z.D., Cosmic Ionizing Radiation: A DNA Damaging Agent That May Underly Excess Cancer in Flight Crews. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25, 14, 7670. doi:10.3390/ijms25147670,.
160. 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. Vol. 36(5). P. 357-366. doi: 10.1080/02571862.2019.1610808.
161. Shirasawa K., Hirakawa H., Nunome T., Tabata S., Isobe S. Genome-wide survey of artificial mutations induced by ethyl methanesulfonate and gamma rays in tomato. *Plant Biotechnology Journal*. 2016. Vol. 14, 1. P. 51–60. doi: 10.1111/pbi.12348
162. Shu Q. Y., Forster B. P., Nakagava H. *Plant Mutation breeding and Biotechnology*. CABI publishing. Vienna, Austria, 2011. 840 p.
163. Spencer-Lopes M., Forster B., Jankuloski L., Eds. *Manual on mutation breeding*. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018.
164. Spisak N., de Manuel M., Milligan W., Sella G., Przeworski M. The clock-like accumulation of germline and somatic mutations can arise from the interplay of

DNA damage and repair. *PLOS Biology*. 2024. Vol. 22, 6, e3002678. doi: 10.1371/journal.pbio.3002678.

165. Tomlekova N. B., Kozgar M. I., Wani M. R. Development of improved varieties of native grains through radiation-induced mutagenesis. *Mutagenesis : exploring novel genes and pathways*. Wageningen Academic Publishers, 2014. P. 105–124.

166. Turaeva S., Kurbanova E., Mamarozikov U., Nurmakhmadova P., Khidirova N., Juraev D., Shoymuradov A., Bakhranova N., Aynakulova Z. Efficiency of the biostimulant in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*. 2024. Vol. 56(5) P. 1982–1993. doi: 10.54910/sabrao2024.56.5.21.

167. Udage A. Introduction to plant mutation breeding: different approaches and mutagenic agents. *Journal of Agricultural Sciences – Sri Lanka*. 2021. Vol. 16. P. 466. doi: 10.4038/jas.v16i03.9472

168. Vesali F., Omid M., Mobli H., Kaleita A. Feasibility of using smart phones to estimate chlorophyll content in corn plants. *Photosynthetica*. 2017. Vol. 55. P. 603–610. doi: 10.1007/s11099-016-0677-9

169. Weisfeld L. I. About cytogenetic mechanism of chemical mutagenesis. Ecological consequences of increasing crop productivity. *Plant breeding and biotic diversity*. Toronto – New Jersey : Apple Academic Press, 2015. P. 249–269.

170. Von Well E., Fossey A., Booyse M. Efficiency of energy conversion and growth of gamma irradiated embryos and young seedlings of *Triticum monococcum* L. cultivar Einkorn. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2018. Vol. 11. P. 75–82. doi:10.1016/j.jrras.2017.09.004

171. Von Well E., Booyse M., Fossey A. Gamma Irradiation as Tool for Mutation Breeding in Wheat. *IntechOpen*. 2023. doi: 10.5772/intechopen.111713

172. Von Well E., Fossey A., Booyse M. Effect of gamma irradiation on nucleolar activity, an indicator of metabolic activity, in root tip cells of tetraploid *Triticum turgidum* ssp. *durum* L. *Protoplasma*. 2022. doi: 10.1007/s00709-021-01684-

173. Von Well E., Fossey A., Booyse M. The relationship of the efficiency of energy conversion into growth as an indicator for the determination of the optimal dose for mutation breeding with the appearance of chromosomal abnormalities and incomplete mitosis after gamma irradiation of kernels of *Triticum turgidum* ssp. *durum* L. *Radiation and Environmental Biophysics*. 2023. Vol. 62. P. 195–212. doi: 10.1007/s00411-023-01026-3

174. Voss-Fels K., Stahl A., Hickey L. Q&A: modern crop breeding for future food security. *BMC Biology*. 2019. Vol. 17, 1. 18. doi: 10.1186/s12915-019-0638-4

175. Wu J., Zhang J., Lan F., Fan W., Li W. Morphological, cytological, and molecular variations induced by gamma rays in ground-grown chrysanthemum ‘Pinkling’. *Canadian Journal of Plant Science*. 2019. Vol. 100. P. 68–77. doi: 10.1139/cjps-2019-006

176. Wu N., Lei Y., Pei D., Wu H., Liu X., Fang J., Guo J., Wang C. Predominant wheat-alien chromosome translocations in newly developed wheat of China. *Molecular Breeding*. 2021. Vol. 41. P. 1–6.

177. Xicun D., Xia Y., Wenjian L. Plant Mutation Breeding with Heavy Ion Irradiation at IMP. *Journal of Agricultural Science*. 2016. Vol. 8(5). P. 34–41. doi: 10.5539/jas.v8n5p34.

178. Xiong H., Guo H., Xie Y., Zhao L., Gu J., Zhao S., Li J., Liu L. 2018. Enhancement of dwarf wheat germplasm with high-yield potential derived from induced mutagenesis. *Plant Genet Resources*. 16, 1. P. 74–81. doi:10.1017/S1479262116000459

179. Yakymchuk R. A., Valyuk V. F., Sobolenko L. Y., Sorokina S. I. Induction of useful mutations in *Triticum aestivum* in the conditions of the radionuclide-contaminated alienation zone of the Chernobyl Power Plant. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12(3). P. 506–512. doi:10.15421/022169

180. Yali W., Mitiku T. Mutation Breeding and Its Importance in Modern Plant Breeding. *Journal of Plant Sciences*. 2022. Vol. 10(2). P. 64–70. doi: 10.11648/j.jps.20221002.13

181. Yang G., Luo W., Zhang J., Yan X., Du Y., Zhou L., Li W., Wang H., Chen Z., Guo T. Genome-wide comparisons of mutations induced by carbon-ion beam and gamma-rays irradiation in rice via resequencing multiple mutants. *Frontiers in Plant Science*. 2019. Vol. 10, 1514. doi: 10.3389/fpls.2019.01514
182. Zhao H., Zhuang Y., Li R., Liu Y., Mei Z., He Z., Zhou F., Zhou Y. Effects of different doses of X-ray irradiation on cell apoptosis, cell cycle, DNA damage repair and glycolysis in HeLa cells. *Oncology Letters*. 2019. Vol. 17. P. 42–45. doi: 10.3892/ol.2018.9566
183. Zaidi S. S., Vanderschuren H., Qaim M., Mahfouz M. M., Kohli A., Mansoor S., Tester M. New plant breeding technologies for food security. *Science*. 2019. Vol. 363. P. 1390–1391. doi: 10.1126/science.aav6316
184. Živković L., Topalović D., Đelić N., Popović P., Marković M., Gunjić I., Spremo-Potparević B. The basic principles of DNA damage detection by the alkaline comet assay. *Arhiv za farmaciju*. 2024. Vol. 74, 4, . 556–568. doi: 10.5937/arhfarm74-50506.
185. Zulfiqar, S., Rahman, Mu., Bukhari, S.A.R., Till B., Gu R., Liu D. Dreisigacker S. Genotyping by sequencing; a strategy for identification and mapping of induced mutation in newly developed wheat mutant lines. *Functional & Integrative Genomics*. 2024. Vol. 24, 191. doi: 10.1007/s10142-024-01424-w
186. Yadav S., Modi P., Dave A., Vijapura A., Patel D., Patel M. Effect of abiotic stress on crops. *Sustainable Crop Production*. 2020. Vol. 17, 17. P. 5–16.
187. Yuan Y., Bayer P., Batley J., Edwards D. Current status of structural variation studies in plants. *Plant Biotechnology Journal*. 2021. Vol. 19, 11. P. 2153–2163. doi: 10.1111/pbi.13646

ДОДАТКИ

Додаток А
СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

Статті в наукових фахових виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз даних Scopus та Web of Science:

1. Beiko V., Nazarenko M. Occurrence of cytogenetic effects under the action of epimutagen in winter wheat. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022. Vol. 13 (3). P. 294–300. Режим доступу: <https://doi.org/10.15421/022238> (Scopus) (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

Статті в наукових фахових виданнях України:

2. Beiko V., Nazarenko M. Early depressive effects of epimutagen in the first generation of winter wheat varieties. *Agrology*. 2022. Вип. 5. С. 43–48. Режим доступу: <https://doi.org/10.32819/021106> (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті)

3. Бейко В. С., Назаренко М. М. Мутаційна мінливість при дії Тритон-305Х у пшениці озимої. *Таврійський науковий вісник*. 2024. Вип. 135. С. 26–33. Режим доступу до статті: <https://doi.org/10.32782/2226-0099.2024.135.1.4> (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті)

Тези наукових доповідей:

4. Beiko V., Nazarenko M. Influence of epimutagen (Triton x-305) on first stage of winter wheat plant vegetation. *Матеріали Всеукр. науково-практ. конф. здобувачів, молодих учених та спеціалістів* (Харків, 3 грудня 2021). Харків, 2021. С. 7–8. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, аналіз результатів, підготовка та написання статті).

5. Beiko V., Nazarenko M., Izhboldin O. SPAD activity as index of winter wheat plant mutagen depression. *Зб. матеріалів Міжнар. науково-практ. конф. «Селекція агрокультур в умовах змін клімату: напрями та пріоритети»*. Одеса : ІКОСГ НААН, 2022. С. 169–170. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

6. Beiko V., Nazarenko M., Izhboldin O. Cytogenetic effects under the epimutagen (Triton-X-305) action on winter wheat. *Захист і карантин рослин у XXI столітті: проблеми і перспективи* : матеріали Міжнар. науково-практ. конф., присвяченої ювілейним датам від дня народження видатних вчених-фітопатологів д-рів біол. наук, проф. В. К. Пантелеєва та М. М. Родігіна (м. Харків, 20–21 жовтня 2022 р.). Харків, 2022. С. 230–231. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

7. Nazarenko M., Beiko V. Rate of chromosomal aberrations induced by epimutagen Triton-X-305. *Матеріали VI Міжнар. науково-практ. конф. «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур»* (м. Дніпро, 16–17 листоп. 2022 р.). Дніпро : ДДАЕУ, 2022. С. 71–72. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

8. Бейко В. С., Назаренко М. М. Негативна дія епімутагену на сорти пшениці озимої у першому поколінні як фактор мінливості ініціального матеріалу. *Матеріали VII Міжнар. науково-практ. конф. «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур»* (м. Дніпро, 21–22 листоп. 2023 р.). Дніпро : ДДАЕУ, 2023. С. 35–36. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

9. Beiko V., Nazarenko M. Mutation changeability under the action of Triton-305X for winter wheat varieties. *Наукові основи адаптивного землеробства* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. з нагоди 100-річчя від дня народження д-ра с.-г. наук, проф., акад. Федора Трохимовича Моргуна, 90-річчя Агрономічного ф-ту Дніпровського держ. аграр.-екон. ун-ту та Міжнар. дня здоров'я рослин (м. Дніпро, 16-17 трав. 2024 р.) / МОН України ; ДДАЕУ. Дніпро : ДДАЕУ, 2024. С. 255–257. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті).

10. Бейко В. С., Назаренко М. М. Спадкова мінливість у пшениці озимої за дії Тритон-305X. *Хімія, біотехнологія, екологія та освіта* : зб. матеріалів VIII

Міжнар. науково-практ. інтернет-конф. (м. Полтава, 15-16 травня 2024 року).
Полтава, 2024. С. 191–195. (*Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка та написання статті*).

Додаток В
Спектр епімутацій під дією ТХ-305

Таблиця В.1

Спектр епімутацій під дією ТХ-305. Сорт Співанка

№	Ознака	Варіант										
		Контроль		ТХ-305 0,01 %		ТХ-305 0,05 %		ТХ-305 0,1 %		ТХ-305 0,5 %		
		шт	%	шт	%	шт	%	шт	%	шт	%	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	Товсте стебло	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Тонке стебло	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Високостеблова	1	0,2	2	0,4	3	0,6	3	0,6	2	0,4	
4	Низькостеблова	1	0,2	1	0,2	2	0,4	2	0,4	2	0,4	
5	Напівкарлик	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2	
6	Карлик	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7	Інтенсивна воскова поволока	0	0	2	0,4	1	0,2	2	0,4	0	0	
8	Слаба воскова поволока	0	0	2	0,4	2	0,4	2	0,4	3	0,6	
10	Відсутність	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,6	
12	Діжкоподібне	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
13	Велике зерно	0	0	0	0	1	0,2	0	0	0	0	
14	Дрібне зерно	0	0	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	
15	Остистий колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
16	Безостий колос	0	0	0	0	1	0,2	0	0	1	0,2	
17	Довгий колос	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2	2	0,4	
18	Рихлий колос	0	0		0		0		0		0	

Закінчення табл. В.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
19	Щільний колос	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2	1	0,2
20	Великий колос	0	0	1	0,2	1	0,2	2	0,4	1	0,2
21	Дрібний колос	0	0	1	0,2	1	0,2	2	0,4	3	0,6
22	Напівостистий	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2
23	Ригідний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	Булавоподіний	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	Загострений колос	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
26	Подвійний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	Антоціанові ості	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
28	Стерильність	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	Ранньостиглість	0	0	2	0,4	2	0,4	2	0,4	1	0,2
31	Пізньостиглість	0	0	1	0,2	2	0,4	3	0,6	4	0,8
32	Стійкість	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	0	0
33	Скверхедний	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	Спельтоїдний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
35	Субкомпактоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	Компактоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	Сферококоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	Продуктивні	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2

Таблиця В.2

Спектр епімутацій під дією TX-305. Сорт Altigo

№	Ознака	Варіант										
		Контроль		TX-305 0,01 %		TX-305 0,05 %		TX-305 0,1 %		TX-305 0,5 %		
		шт	%	шт	%	шт	%	шт	%	шт	%	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	Товсте стебло	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Тонке стебло	0	0	0	0	0	0	1	0,2	0	0	0
3	Високостеблова	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Низькостеблова	1	0,2	2	0,4	2	0,4	2	0,4	3	0,6	0,6
5	Напівкарлик	0	0	0	0	1	0,2		0	2	0,4	0,4
6	Карлик	0	0	0	0	0	0	2	0,4	0	0	0
7	Інтенсивна воскова поволока	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Слаба воскова поволока	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	Відсутність	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	2	0,4	0,4
12	Діжкоподібне	0	0	2	0,4	2	0,4	2	0,4	2	0,4	0,4
13	Велике зерно	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	Дрібне зерно	0	0	0	0	0	0	1	0,2	0	0	0
15	Остистий колос	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2	0,2
16	Безостий колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	Довгий колос	0	0	0	0	1	0,2	0	0	1	0,2	0,2
18	Рихлий колос	0	0	1	0,2	0	0	2	0,4	1	0,2	0,2

Закінчення табл. В.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
19	Щільний колос	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2
20	Великий колос	1	0,2	1	0,2	0	0	1	0,2	2	0,4
21	Дрібний колос	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	2	0,4
22	Напівостистий	0	0	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2
23	Ригідний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	Булавоподіний	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	Загострений колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	Подвійний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	Антоціанові ості	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	Стерильність	0	0	0	0	0	0	3	0,6	0	0
29	Ранньостиглість	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	2	0,4
31	Пізнньостиглість	0	0	1	0,2	1	0,2	2	0,4	2	0,4
32	Стійкість до	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2	2	0,4
33	Скверхедний	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	Спельтоїдний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
35	Субкомпактоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	Компактоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	Сферококоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	Продуктивні	1	0,2	1	0,2	1	0,2	1	0,2	1	0,2

Таблиця В.3

Спектр епімутацій під дією ТХ-305. Сорт Flamenko

№	Ознака	Варіант										
		Контроль		ТХ-305 0,01 %		ТХ-305 0,05 %		ТХ-305 0,1 %		ТХ-305 0,5 %		
		шт	%	шт	%	шт	%	шт	%	шт	%	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	Товсте стебло	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Тонке стебло	0	0	0	0	0	0	1	0,2	0	0	0
3	Високостеблова	0	0	0	0	2	0,4	0	0	1	0,2	0
4	Низькостеблова	1	0,2	1	0,2	2	0,4	3	0,6	4	0,8	0
5	Напівкарлик	0	0	1	0,2	0	0	2	0,4	2	0,4	0
6	Карлик	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2	0
7	Інтенсивна воскова поволока	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Слаба воскова поволока	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	Відсутність	0	0	1	0,2	2	0,4	0	0	0	0	0
12	Діжкоподібне	0	0	1	0,2	2	0,4	0	0	0	0	0
13	Велике зерно	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0
14	Дрібне зерно	1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	Остистий колос	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2	0
16	Безостий колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	Довгий колос	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	2	0,4	0
18	Рихлий колос	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	2	0,4	0

Закінчення табл. В.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
19	Щільний колос	0	0	0	0	0	0	2	0,4	0	0
20	Великий колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	Дрібний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	Напівостистий	0	0	1	0,2	1	0,2	2	0,4	2	0,4
23	Ригідний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
24	Булавоподіний	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
25	Загострений колос	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2	1	0,2
26	Подвійний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	Антоціанові ості	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
28	Стерильність	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
29	Ранньостиглість	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	2	0,4
31	Пізнньостиглість	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	3	0,6
32	Стійкість до	1	0,2	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2
33	Скверхедний	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	Спельтоїдний колос	0	0	0	0	0	0	1	0,2	2	0,4
35	Субкомпактоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	Компактоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	Сферококоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	Продуктивні	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2	1	0,2

Таблиця В.4

Спектр епімутацій під дією ТХ-305. Сорт Подолянка

№	Ознака	Варіант									
		Контроль		ТХ-305 0,01 %		ТХ-305 0,05 %		ТХ-305 0,1 %		ТХ-305 0,5 %	
		шт	%	шт	%	шт	%	шт	%	шт	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Товсте стебло	0	0	1	0,2	0	0	0	0	1	0,2
2	Тонке стебло	1	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Високостеблова	1	0,2	2	0,4	2	0,4	2	0,4	3	0,6
4	Низькостеблова	0	0	1	0,2	1	0,2	2	0,4	2	0,4
5	Напівкарлик	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Карлик	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	Інтенсивна воскова поволока	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Слаба воскова поволока	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	3	0,6
10	Відсутність	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	2	0,4
12	Діжкоподібне	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	Велике зерно	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2	1	0,2
14	Дрібне зерно	0	0	0	0	1	0,2	2	0,4	1	0,2
15	Остистий колос	0	0	1	0,2	1	0,2	2	0,4	2	0,4
16	Безостий колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	Довгий колос	0	0	0	0	1	0,2	1	0,2	1	0,2
18	Рихлий колос	0	0	0	0	0	0	1	0,2	0	0

Закінчення табл. В.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
19	Щільний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	Великий колос	0	0	0	0	0	0	1	0,2	0	0
21	Дрібний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	Напівостистий	0	0	1	0,2	0	0	1	0,2	0	0
23	Ригідний колос	0	0	1	0,2	0	0	0	0	0	0
24	Булавоподіний	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	Загострений колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	Подвійний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	Антоціанові ості	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	Стерильність	0	0	0	0	1	0,2	0	0	1	0,2
29	Ранньостиглість	0	0	2	0,4	2	0,4	2	0,4	3	0,6
31	Пізнньостиглість	0	0	1	0,2	2	0,4	2	0,4	3	0,6
32	Стійкість до	0	0	0	0	2	0,4	1	0,2	1	0,2
33	Скверхедний	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,2
34	Спельтоїдний колос	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,4
35	Субкомпактоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	Компактоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	Сферококоїд	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	Продуктивні	1	0,2	1	0,2	1	0,2	1	0,2	1	0,2

