

ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗУ В СЕЛЕКЦІЇ РОСЛИН

Васько В. О., Гудим О. В., Рожак О. Г.

Харківський національний аграрний університет імені В. В. Докучаєва, Україна

У статті наведено огляд літературних джерел із застосування експериментального мутагенезу як одного з методів, що дозволяє отримувати в короткі терміни різноманітний за багатьма ознаками вихідний матеріал. Основними перевагами індукованого мутагенезу в порівнянні з традиційними методами селекції є більш швидке розширення діапазону вихідного матеріалу для подальшого використання в селекції як за одним, так і за рядом якісних і кількісних ознак. З метою поглибленого вивчення дії супермутагенів у Харківському національному аграрному університеті ім. В. В. Докучаєва (ХНАУ) проведено дослідження на самозапильних лініях соняшнику (диметилсульфат – ДМС, нітрозоетилсечовина – НЕС, γ -промені – джерело опромінення Co^{60}) та сортах амаранту (Co^{60}).

Ключові слова: мутант, селекція, інбредна лінія соняшнику, амарант, фізичний і хімічний мутагенез, супермутаген, ДМС, НЕС, Co^{60}

Вступ. За словами Гуго Де Фріза (1901) «знання законів мутування, ймовірно, призведе до штучного отримання мутацій і тим самим до створення рослин і тварин з абсолютно новими властивостями». З тих пір, як людина зайнялася землеробством, вона безперервно прагне покращувати властивості корисних для себе рослин. Довгий час для цього застосовували лише стихійний добір, пізніше – цілий арсенал засобів і методів селекції. Зокрема, широко використовували можливості генетики [1]. Але створення сорту потребує багатьох років роботи селекціонерів, тому актуальним є прискорення цього процесу.

Сучасний і майбутній прогрес селекції рослин залежить від розвитку на новому методичному рівні її класичних методів: гібридизації, експериментального мутагенезу та добору.

В експериментальному мутагенезі основною проблемою є підвищення його ефективності. У зв'язку з цим дослідження спрямовано на вивчення теоретичних і практичних шляхів підвищення ефективності індукування мутаційної мінливості в селекції, а також створення нових практично цінних ліній і сортів рослин [2, 3].

Аналіз літературних джерел, постановка проблеми. Серед ефективних методів створення вихідного матеріалу для генетичних, еволюційних і селекційних досліджень належне місце займає експериментальний мутагенез. Основним у ньому є підвищення ефективності індукування мутацій шляхом збільшення частоти і розширення їх спектра [4, 5]. М. І. Вавілов вважав мутагенез одним з фундаментальних розділів генетики [6]. А. М. Harten, V. C. Broerties [7] вважали, що метод індукованого мутагенезу має безсумнівні переваги перед деякими новими, але складними і трудомісткими методами генетичної маніпуляції у випадку вдосконалення сортів рослин. Найбільший ефект може бути одержано при раціональному поєднанні відповідних методів селекції [8, 9]. До того ж, як вказував D. R. Marshall [10], можливості селекції рослин деяких культур різко обмежені через звуження генетичної основи при використанні недостатньої колекції цінних вихідних форм.

Сторіччями люди помічали спонтанну появу нових форм у живій природі, а вперше думку про різку стрибкоподібну зміну організмів висловлював французький біолог Е. Жофруа Сент-Ілер [11]. Дещо пізніше Ч. Дарвін [9] дав зведення прикладів такої різкої мінливості (пова в 1791р. квіткових змін троянд і хризантем, гладенький і неопушений персик і інші).

Такі ідеї в різний час виказували в своїх роботах прихильники мутаціонізму, зокрема А. Kölliker у 1864 р. [12] у гіпотезі гетерогенного розмноження, S. Mivart в 1871 р. [13] в уявленнях про стрибкоподібне видоутворення, ботанік С. І. Коржинський [14] у 1899 р. у гіпотезі гетерогенезиса (стрибкоподібного виникнення нових видових форм), Гуго де Фріз [15] в мутаційній теорії. Проте вони негативно ставилися до теорії еволюції шляхом природного добору і поступового накопичення малих змін, визнаючи лише стрибкоподібний характер еволюції.

Фактично творцем теорії мутаційної мінливості є С. І. Коржинський [14]. У своїй книзі “Гетерогенезис і еволюція” він посилався на погляди А. Kölliker [12]. Але історично склалося так, що автором мутаційної теорії вважається голландський ботанік Гуго де Фріз [15], який у своїй книзі “Мутаційна теорія” в 1901 р., пославшись на С. І. Коржинського з детальним викладом його поглядів, рекомендував сам термін “мутація” як спадкову мінливість на відміну від неспадкової модифікаційної мінливості.

Існування спонтанної мутаційної мінливості, яка виникає у вихідній дикої форми незалежно від рекомбінації ознак, було підтверджено згодом рядом досліджень W. Johannsen у квасолі [16], Н. Nilsson-Ehle у вівса, ячменю і пшениці [17], Е. Bauer у ротиків садових [18], С. И. Жегалова у вівса [19], Г. А. Надсона у гібридів дріжджів [20]. Проте відносно низька частота виникнення спонтанних мутацій була перешкодою для планового їх використання в селекції. Все ж ряд дослідників одержали цим шляхом цінні форми рослин. Зокрема, відомий сорт яблуні Антонівка півторафунтова одержав ще в 1888 р. І. В. Мічурін, коли виявив гілку з великими плодами [21].

Перші спроби одержання експериментальних мутацій під дією фізичних факторів після відкриття радіоактивності променів Рентгена і гамма-променів радіо було зроблено в 1906-1908 рр. в дослідях L. Blaringhem з кукурудзою [22], Ch. S. Gager з енотерою [23], в яких хоч і було відмічено вплив опромінення на виникнення хромосомних змін, але не було впевненості в мутаційній, а не гібридній, природі одержаних генотипово нових форм.

Радіаційну мутагенну селекцію було започатковано L. J. Stadler [24] в Університеті Міссурі. В дослідях дії рентгенівського опромінення піддавали кукурудзу і ячмінь, у результаті одержали хлорофільні мутації.

За даними ФАО/МАГАТЕ, у 2014 р. у всьому світі вирощували понад 1000 мутантних сортів основних культур [25]. Мутаційна селекція звичайно застосовується для створення ознаки, якої не існує у природі або ж яку було втрачено в процесі еволюції, як то більш крупне насіння, нове забарвлення, солодші плоди і т. п. У соняшнику методи мутаційної селекції перш за все застосовуються для створення ліній з видозміненим жирно кислотним складом. Застосування хімічних мутагенів (НЕС, НМС, ДМС, ЕМС та ін.) розширює можливості використання інцухт-ліній [26, 27].

Велике теоретичне і практичне значення мав доказ закономірного одержання мутацій під дією променів Рентгена і точна методика розрахунку частоти рентгено-мутацій у дрозофіли в 1927 р. Н. J. Muller [28]. Це підтвердили в 1927-1929 рр. Ch. S. Gager, A. F. Blakeslee в дослідях з дурманом [29], L. J. Stadler – з кукурудзою [24], Т. Н. Goodsped, A. R. Olson [30] – з тютюном, Л. М. Делоне [31] і А. Сапегин [32] – з пшеницею, А. С. Сребровський [33], М. П. Дубинин [34] та Н. Тимофіїв-Ресовський [35] на інших організмах.

Ще в 30-ті роки ХХ сторіччя М. І. Вавілов указував на необхідність вивчення закономірностей дії мутагенів, особливостей природи мутантів, методів мутаційної селекції [36].

Висновки щодо практичного значення мутацій, до яких прийшли різні дослідники, були далеко неоднакові: песимістичні L. J. Stadler [24] і оптимістичні з одержання нового вихідного матеріалу для селекції пшениці Л. М. Делоне [31] та А. А. Сапегина [32], ячменю – В. І. Дідуся [37], картоплі – Т. В. Асеевой, М. Благовидовой [38], жита – Л. П. Бреславец [39].

У дослідженнях з одержання мутацій ячменю і інших культур значного результату досягла група дослідників у Швеції [41]. Систематичні пошуки хімічних мутагенів розгорнулися в 30-х роках ХХ ст. в Інституті експериментальної біології, де в 1932 р. В. В. Сахаровим [41] було показано мутагенну дію йоду, а в 1934 р. М. Е. Лобашевым [42] – аміаку.

Але високоактивні хімічні мутагени було відкрито лише в 40-х роках минулого століття. Так, Й. А. Рапопорт установив високу активність і “агресивність” алкілюючих речовин етилені міну (ЕІ), диметилсульфату (ДМС), диетилсульфату (ДЕС), diazometanu (ДАМ), епоксидів, нітрозоетилсечовини (НЕС), нітрозометилсечовини (НМС) та інших [43].

Виникла необхідність у розробленні нових розділів генетики та методів селекції – радіаційного і хімічного мутагенезу. Узагальнення їх досягнень наведено в ряді оглядів Л. П. Бреславец в 1946 р. [39], М. П. Дубинин в 1961-1971 рр. [34], Й. А. Рапопорт в 1966-1982 рр. [43], Ch. Auerbach [44] в 1966-1978 рр. і багато інших учених.

Іонізуючі випромінювання і хімічні мутагени індукують мутації з частотою, що перевищує рівень спонтанної мінливості в десятки і сотні разів. Дослідження М. Р. Козаченка показали, що частота радіаційних мутацій у ячменю в 122-157 разів вища за спонтанну [8]. Кількість мутацій, викликаних радіацією, залежить від її типу, дози, потужності і способу опромінення і різних супроводжуючих модифікуючих факторів до, під час чи після обробки насіння.

Стосовно хімічних мутагенів, то найширше практичне застосування в світі мають алкілюючі агенти, зокрема нітро- та діазосполуки.

Як вказує Ch. Auerbach [44], поява мутації не є простим актом дії хімічної речовини на ДНК, а результатом складного багатоступеневого процесу проникнення, розподілення і реакції мутагену з компонентами клітини при виникненні активних агентів, з білками і, зрештою, з ДНК хромосом, причому на різних стадіях взаємодії з останніми і при стабілізації первинної мутаційної зміни в момент синтезу генетичного матеріалу. Тобто, мутаційний процес включає комплекс процесів первинної зміни, її розвитку, відновлення і реалізації в генеративному потомстві.

Порівняльний аналіз кінцевих ефектів застосування різних методів, у тому числі і γ -опромінення, показує, що вони однотипні. Застосування будь-якого з них при несприятливих умовах збільшує врожай на 10–12 % [8].

На основі радіаційного мутагенезу в рослинництві успішно вирішуються питання отримання високоврожайних, стійких до несприятливих умов середовища і дії патогенних чинників нових сортів сільськогосподарських рослин. Селекціонери майже в п'ять разів скоротили термін створення нових сортів ячменю і пшениці завдяки мутагенному ефекту γ -опромінення. У різних країнах зареєстровано понад 400 сортів мутаційної селекції, що надійшли у виробництво. Частка сортів найважливіших сільськогосподарських культур становить понад 50 %, з них отримано з використанням радіації 93 % мутантів, а за допомогою хімічного мутагенезу – 7 % [8, 25, 27].

В останні десятиріччя у багатьох країнах світу розгорнуто роботи з отримання індукованих мутантів. Індуковані рентгеновими і γ -променями мутанти було виділено у багатьох зернових (ячменю, пшениці, жита та ін.). Вони відрізняються не тільки підвищеною врожайністю, але і укороченим стеблом. Такі рослини стійкі проти вилягання, мають помітні переваги при механізованому збиранні. Крім того, наявність короткої і міцної соломини дозволяє вести подальшу селекцію по збільшенню довжини колоса і маси зерна без побоювання, що підвищення врожаю призведе до вилягання.

Цінні сорти пшениці створено російськими селекціонерами П. П. Лукьянєнком (Безостая-1, Аврора, Кавказ). А. П. Шехурдиным, В. Н. Мамонтовой (Саратовська-29, Саратовська-36, Альбідум-43 і ін.), які відрізняються високою врожайністю, стійкістю проти вилягання, хорошими хлібопекарськими і борошномельними якостями в різних кліматичних зонах [за 8].

Використання мутагенезу в селекції соняшника. Російський академік В. С. Пустовойт всього за 25 років домогся збільшення олійності різних сортів соняшнику на 20 %. Ним створено сорти, олійність яких становить 54–59 %. Крім того, за ці роки врожай сім'янок виріс в три рази, а збір олії – у чотири [за 8, 27]. Методом експериментального мутагенезу К. І. Солдатовим створено низькорослі мутанти, скоростиглі, а також генотипи з підвищеним вмістом олеїнової кислоти [45]. У ВНІМК ім. В. С. Пустовойта і далі ведуть

дослідження з удосконалення та підвищення ефективності мутагенезу. Так, А. А. Калайджян [46] в залежності від виду, дози мутагену (НЕС, ДМС) та способу обробки встановив частоту та спектр хлорофільних і фізіологічних мутацій, тривалість вегетаційного періоду, висоту рослин, олійність насіння та ін.

Широко застосовується мутагенез для створення ліній соняшнику з різними властивостями у Болгарії [47]. Так, стійкість до *Orobanche cumana* одержують шляхом радіаційного мутагенезу [48].

Вивчення генетичних особливостей мутанта Первенець із вмістом олії у насінні понад 65 % проводили французькі вчені S. Lacombe, A. Berville [49]. Вони встановили PFLP, пов'язані з високим вмістом олеїнової кислоти, але природу домінуючої мутації Первенця ще до кінця не в'яшено.

Дію γ -променів (Co^{60}), швидких нейтронів та ЕМС на M_1 насіння п'яти інбредних ліній соняшнику вивчали у Сербії S. Svejic, S. Bado [50]. Результати досліджень показали, що найбільший мутаційний ефект мали γ -промені, за ними – швидкі нейтрони і потім – ЕМС урізних дозах.

Група дослідників з США (Університети в Джорджії і Орегоні) та Німеччини встановили, що хімічно індукована домінуюча мутація соняшнику *Ol* значно підвищує вміст олеїнової кислоти і корелює із зниженням експресії в насінні FAD2-1. Ними розроблено SSR і INDEL маркери для визначення наявності чи відсутності *Ol*-мутації. Це спрощує підбір вихідного матеріалу в селекції високоолеїнового соняшника [51].

Вплив різних доз ЕМС досліджувала група вчених із Індії, Франції, Аргентини, Ірландії [52]. На платформі технології TILLING (Targeting Induced Local Lesion In Genome), за допомогою якої можна виявити навіть рідкісні рецесивні мутації, проведено скринінг мутацій у двох генах (FatA, SAD). Ці гени беруть участь у біосинтезі жирних кислот. У результаті було виявлено 26 індукованих мутацій.

Важливим внеском до мутаційної селекції соняшнику є дослідження J. M. Fernandez-Martinez et al. [53]. Зокрема, створення мутанту CAS-12 з високим вмістом пальмітинової кислоти ($\approx 30\%$), пальмітоолеїнової ($\approx 7\%$) на фоні високого вмісту олеїнової кислоти. Мутант було створено методом рентгенівського опромінення сухого насіння інбредної лінії з нормальним вмістом пальмітинової ($\approx 3\%$) і високим – олеїнової ($\approx 88\%$) кислоти.

Широко розгорнуто мутаційну селекцію соняшнику в Україні. Мутагенез як хімічний, так і фізичний застосовувався В. В. Кириченком із співробітниками [27]. Ними створено понад 97 мутантних високоолеїнових (75–92 %), високопальмітинових (25 %), низькопальмітинових і низькостеаринових (із сумою цих кислот не більше 8 %) форм. При цьому найкращим вихідним матеріалом було визнано самозапилені лінії.

Мутаційну мінливість двох ліній соняшника при дії ЕМС вивчав А. І. Сорока [54]. Розчином ЕМС 0,02 % обробляли недозрілі сім'янки, що впливало на експресію морфологічних і фізіологічних ознак рослин M_1 – вони зацвітали з істотним запізненням, відрізнялися за висотою. У результаті обробка ЕМС призвела до появи в M_2 широкого спектра мутацій, серед них – «тютюноподібна» рослина.

Подібні дослідження було проведено В. А. Васінім. Розчином ЕМС різної концентрації обробляли зріле і недозріле насіння соняшника для вивчення генотипової мінливості [55]. У результаті було виявлено спектр мутацій із 19 типів та встановлено тип успадкованості мутантних ознак.

Таким чином, встановлення закономірностей мутаційної мінливості потребує вирішення проблеми контролювання мутаційним процесом.

Мета і задачі дослідження. Метою нашого першого огляду є оцінка глибини опрацювання і вивчення недостатньо опрацьованих тематик даного напрямку.

Задачами нашої дослідницької роботи є створення нових форм амаранту з комплексом цінних господарських ознак та аналогів існуючих високоврожайних гібридів соняшнику, які будуть відрізнятися високим вмістом (80–95 %) олеїнової кислоти.

Матеріали і методи. У 2014 році на дослідних полях ІР ім. В. Я. Юр'єва НААН та ХНАУ ім. В. В. Докучаєва було закладено досліди з експериментального мутагенезу соняшнику та амаранту.

Вихідним матеріалом у дослідженнях із соняшником були 12 самозапильних ліній селекції Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН, попередньо оброблених розчином хімічних супермутагенів (0,01 % та 0,05 % концентрації) та 12 самозапильних ліній, оброблених гама-променями (доза 120 та 150 Грей). Метою було вивчення дії нітрозоетилсечовини (НЕС), диметилсульфату (ДМС) та гама-променів в залежності від концентрації розчину, дози та експозиції обробки. Контрольним варіантом було насіння, замочене у воді протягом 18 годин.

Вихідним матеріалом у дослідженнях з амарантом (*Amaranthus hypochondriacus*) були три сорти – Сем, Харківський 1, Студентський. З метою одержання цінних у господарському відношенні форм амаранту проводили обробку насіння фізичними мутагенами (гама-опромінення). Джерело випромінювання – Co^{60} . Дози випромінювання – 10 Гр, 15 Гр, 30 Гр. Дистанційна гама-установка Theratron Elit-80. Також насіння піддавали дії високих доз опромінення 400 Гр та 700 Гр для визначення летальної дози для рослин амаранту. Установа – ДЕГУ 12-05-02.

Обговорення результатів. У результаті проведення досліджень буде встановлено особливості дії нітрозоетилсечовини (НЕС), диметилсульфату (ДМС) та гама променів на насіння і рослини соняшнику в залежності від концентрації розчину, дози мутагену та експозиції обробки. Кінцевим результатом досліджень буде одержання цінних для селекції вихідних форм соняшнику з новими властивостями і якостями, а також – одержання цінних у господарському відношенні форм амаранту.

Висновки. Метод експериментального мутагенезу використовують для різних селекційних цілей: одержання макромутаций і мікрмутаций якісних та кількісних ознак для добору чи прямого практичного використання, подолання несхрещуваності віддалених форм, вплив на кросинговер у гібридів, пригнічення реакції самонесумісності у рослин-перехресників, викликання поліплоїдії і інших. На сучасному етапі дослідження спрямовано на підвищення ефективності індукування різноманітних оригінальних і селекційно-цінних мутантів, важливих для генетико-селекційних і наукових досліджень, а також створення принципів джерел рослин з високими продуктивністю, урожайністю та стійкістю до біотичних та абіотичних чинників.

Список використаних джерел

1. Петров, Д. Ф. Основные преимущества методов селекции, основанные на новейших достижениях генетики [Текст] / Д. Ф. Петров // Труды Биол. Ин-та СО АН СССР. – 1980. – № 45. – С. 3–26.
2. Химические супермутагены в селекции [Текст]. – М.: Наука, 1975. – 360 с.
3. Эффективность химических мутагенов в селекции [Текст]. – М.: Наука, 1976. – 352 с.
4. Густафссон, О. Мутационная теория и ее применение в селекции растений [Текст] / О. Густафссон // С.-х. биология. – 1968. – № 1. – С. 26–39.
5. Густафссон, О. Индивидуальный мутагенез у с.-х. растений [Текст] / О. Густафссон // М.: Наука, 1977. – С. 64–85.
6. Вавилов, Н. И. Избранные сочинения (Генетика и селекция) [Текст] / Н. И. Вавилов. – М.: Колос, 1966. – 559 с.
7. Harten, A. M. Mutation breeding: a Stepping-stone between Gregor Mendel and genetic manipulation (a treatise for vegetative propagated crops) [Text] / A. M. Harten, V. C. Broertjes // Gen. Manipulat. Plant Breed. Proc. 1st. Symp., Berlin (West), Sept. 8-13, 1985. – Berlin, New York, 1986. – P. 8–15.
8. Козаченко, М. Р. Експериментальний мутагенез в селекції ячменю: монографія [Текст] / М. Р. Козаченко. – Х., 2010. – 296 с.

9. Дарвин, Чарлз. Сочинения [Текст] / Чарлз Дарвин. Т. 1-9. Происхождение видов. – М.: Изд-во АН СССР, 1935–1959. – 608 с.
10. Marshall, D. R. The advantages and hazards of genetic homogeneity [Text] / D. R. Marshall // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1977. – No 287. – P. 1–20.
11. Жофруа Сент-Илер, Э. О степени влияния окружающей среды на изменение животных форм. Избр. труды [Текст] / Э. Жофруа Сент-Илер. – М.: Наука, 1970. – 205 с.
12. Kölliker, A. Über die Darwin'sche Schöpfungstheorie [Text] / A. Kölliker // Zeitschr. Wiss. Zoologie. – 1864. – V. 14. – S. 114.
13. Mivart, S. On the genesis of species [Text] / S. Mivart. – London, 1871. – 70 p.
14. Коржинский, С. И. Гетерогенезис и эволюция [Текст]. Ч. 1. К теории происхождения видов / С. И. Коржинский. – С.-Петербург: Зап. Имп. Акад. наук, 1899. – Серия 8–9. – С. 1–94.
15. Де Фриз, Гуго. Избранные произведения [Текст] / Гуго Де Фриз; пер. с нем. – М.: Гос. мед.изд-во, 1932. – С. 74–87.
16. Johannsen, W. Über Knospenmutationen bei Phaseolus [Text] / W. Johannsen // Zeitschr. f. ind. Abstr. u. Vererb. – Lehre, 1908. – Bd. 1. – S. 1.
17. Nilsson-Ehle, H. Einige Beobachtungen über erliche Variationen der Chlorophylleingenschaft bei den Getreidearten [Text] / H. Nilsson-Ehle // Zeitschr. f. ind. Abstr. u. Vererb. – Lehre, 1913. – Bd. 9. – S. 19.
18. Bauer, E. Mutationen von *Antirrhinum majus* [Text] / E. Bauer // Zeitschr. f. ind. Abstr. u. Vererb. – Lehre, 1918. – Bd. XIX. – S. 56.
19. Жегалов, С. И. Случаи мутаций у овса [Текст] / С. И. Жегалов // Научные известия. – М.: Гос. Изд-во, 1922. – Сб. 4.– С. 197–209.
20. Надсон, Г. А. О действии радия на дрожжевые грибки в связи с общей проблемой влияния радия на живые вещества [Текст] / Г. А. Надсон // Вестник рентгенологии и радиологии. – 1920. – № 12. – С. 45–137.
21. Мичурин, И. В. Мечта моей жизни [Текст] / И. В. Мичурин // Правда. – 18 сентября 1934.
22. Blaringhem, L. Mutation et traumatismas. Etude au l'evolution des forms vegetales [Text] / L. Blaringhem. – Paris, 1908. – P. 15.
23. Gager, Ch. S. Effects of the Rays of Radium on Plants [Text] / Ch. S. Gager // Met. New York. Bot. Gart. – 1908. – No 4. – P. 4.
24. Stadler, L. J. Genetic effects of X-rays in maize [Text] / L. J. Stadler // Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. – 1928. – V. 14. – P. 16.
25. Plant Breeding and Genetics Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture [Text]. Retrieved 31 July 2014.
26. Кириченко, В. В. Хімічні мутагени та поліпшення ліній соняшнику [Текст] / В. В. Кириченко, В. І. Порякало // Селекція і насінництво, 1988. – Вип. 80. – С. 19–22.
27. Кириченко, В. В. Селекция и семеноводство подсолнечника (*Heliathus annuus* L.) [Текст] / В. В. Кириченко. – Х.: Ин-т растениеводства им. В. Я. Юрьева, 2005. – 386 с.
28. Muller, H. J. Artificial transmutation of the gene [Text] / H. J. Muller // Science, N.S., 1927. – V. 66. – № 1699. – P. 84–87.
29. Gager, Ch. S. Chromosome and gene mutation in *Datura* following exposure to radium rays [Text] / Ch. S. Gager, A. F. Blakeslee // Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. – 1927. – V. 13. – P. 75–79.
30. Goodsped, T. H. The production of variations in *Nicotiana* Species by X-ray treatment of Sex Cells [Text] / T. H. Goodsped, A. R. Olson // Proc. Nat. Acad. Sei. U.S.A. – 1928. – V. 14. – P. 66–69.
31. Делоне, Л. Н. О методе радиационной селекции [Текст] / Л. Н. Делоне // Селекция и семеноводство. – 1957. – № 4. – С. 23–27.
32. Сапегин, А. А. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции [Текст]. Т. 11 / А. А. Сапегин. – М.: ВАСХНИЛ, 1935. – С. 11.

33. Serebrovskiy, A. S. A general scheme for the origin of mutations [Text] / A. S. Serebrovskiy // Am. Nat. – 1929. – V. 63. – P. 374.
34. Дубинин, Н. П. О некоторых узловых вопросах современной теории мутаций [Текст] / Н. П. Дубинин // Генетика. – 1966. – Т. 2, № 7. – С. 3–20.
35. Timofeeff-Ressovsky, O. W. The effect of X-rays in producing somatic genovariations of a definite locus in different directions [Text] / O. W. Timofeeff-Ressovsky // Am. Nat. – 1929. – V. 63. – P. 118–124.
36. Вавилов, Н. И. Генетика и сельское хозяйство [Текст] / Н. И. Вавилов. М.: Знание, 1967. – 61 с.
37. Дідусь, В. І. Експериментальне одержання мутацій і спонтанна мутабільність у чистих лініях ячменю [Текст]: дис. ... канд. с.-г. наук / В. І. Дідусь. – Х., 1937. – 130 с.
38. Асеева, Т. В. Искусственные мутации у картофеля [Текст] / Т. В. Асеева, М. Благовинова // Соц. Растениеводство. – 1935. – № 15. – С. 15.
39. Бреславец, Л. П. Растения и лучи рентгена [Текст] / Л. П. Бреславец. – М.-Л.: АН СССР, 1946. – 194 с.
40. Gustafsson, A. Induced mutations and barley improvement [Text] / A. Gustafsson, A. Hagberg, G. Persson, K. Wiklund // Theoretical and Applied Genetics. – 1971. – V. 41. – P. 239–248.
41. Сахаров, В. В. Специфичность действия мутагенных факторов [Текст] / В. В. Сахаров // Биологический журнал. – 1937. – Т. 7, № 1. – С. 107.
42. Лобашев, М. Е. К природе действия химических агентов на мутационные процессы у *Drosophila melanogaster*. 2. Действие аммиака на возникновение летальных трансгенаций [Текст] / М. Е. Лобашев, А.Ф. Смирнов // ДАН. – 1934. – Т. 3. – С. 174–178.
43. Рапопорт, И. А. Особенности и механизм действия супермутагенов. Супермутагены [Текст] / И. А. Рапопорт. – М.: Наука, 1966. – С. 9–23.
44. Auerbach, Ch. Mutagen specificity [Text] / Ch. Auerbach // Trans. Rans. Acad. Sci. – 1969. – V. 72, № 1–4. – P. 273–285.
45. Soldatov, K. I. Chemical mutagenesis in sunflower breeding [Text] / K. I. Soldatov // Proceeding 7th Internat. Sunflower Conf. – 1976. – P. 352–357.
46. Калайджян, А. А. Химический мутагенез в селекции подсолнечника [Текст]: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.05 / А. А. Калайджян; [Краснодарский с.-х. биотехнологический центр и ВНИИМК им. В. С. Пустовойта]. – Краснодар, 1998.
47. Application of classical methods as sunflower breeding program in Dobrudja Agricultural Institute General-Toshevo [Text] / J. Encheva, Ga. Georgiev, N. Nenova, D. Valkova, Ge. Georgiev, P. Peevska, V. Encheva // Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences. – 2014. – Special Issue. – No. 1. – P. 673–681.
48. Encheva, J. Creating sunflower mutant lines (*Helianthus annuus* L.) using induced mutagenesis [Text] / J. Encheva // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2009. – 15, No. 2. – P. 109–118.
49. Lacombe, S. A dominant mutation for high oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed oil is genetically linked to a single oleate-desaturase RFLP locus [Text] / S. Lacombe, A. Berville // Molecular Breeding. – 2001. – V.8, Issue 2. – P. 129–137. DOI 10.1023/A:1013358711651.
50. Cvejic, S. Radio sensitivity of sunflower restorer lines to different mutagenic treatments [Text] / S.Cvejic, S. Bado // Proceed. 5th confer. of young scientists and specialists, Krasnodar, 2009. – P. 255–259.
51. The sunflower high-oleic mutant *Ol* carries variable tandem repeats of FAD2-1, a seed-specific oleoyl-phosphatidyl choline desaturase [Text] / G. F. Shuppert, Sh. Tang, M. B. Slabaugh, S. J. Knapp // Molecular Breeding. – 2006. – V. 17, Issue 3. – P. 241–256. DOI 10.1007/S11032-005-5680-y.
52. SMART – Sunflower Mutant population And Reserve genetic Tool for crop improvement [Text] / A. PK. Kumar, A. Boualem, A. Bhattacharya, S. Parikh, N. Desai, A. Zambelli,

- A. Leon, M. Chatterjee, A. Bendahmane // BMC Plant Biology. – 2013. – V. 13. – P. 38. DOI 10.1186/1471-2229-13-38.
53. Sunflower mutant containing high levels of palmitic acid in high oleic background [Text] / J. M. Fernandez-Martinez, M. Mancha, J. Osorio, R. Garces // Euphytica. – 1997. – V. 97. – P. 113–116.
54. Сорока, А. И. Мутационная изменчивость у подсолнечника при воздействии мутагеном на незрелые зародыши [Текст] / А. И. Сорока // Наук.-техн. Бюл. Институт олійних культур. – 2013. – № 18. – С. 19–24.
55. Васін, В. А. Генетична мінливість соняшника при обробці етилметансульфонатом зрілого та незрілого насіння [Текст]: дис. ... канд. біол. наук / В. А. Васін. – К.: 2008.

References

1. Petrov, DF. The main advantages of breeding methods, based on the latest achievements of genetics. Trudy Biologicheskogo In-te Sibirskogo otdeleniya Academiyy nauk USSR. 1980; 45:3–26.
2. Chemical super mutagens in breeding. Moscow: Nauka, 1975. 360 p.
3. The effectiveness of chemical mutagens in breeding. Moscow: Nauka, 1976. 352 p.
4. Gustafsson, O. Mutations theory and its application in plant breeding. Selskokhozyastvennaya biologiya. 1968; 1:26–39.
5. Gustafsson, O. Individual mutagenesis of agriculture plants. Moscow: Nauka, 1977. P. 64–85.
6. Vavilov, NI. Selected works (Genetics and breeding). Moscow: Kolos; 1966. 559 p.
7. Harten AM, Broerties VC. Mutation breeding: a Stepping-stone between Gregor Mendel and genetic manipulation (a treatise for vegetative propagated crops). Gen. Manipulat. Plant Breed. Proc. 1st. Symp., Berlin (West), Sept. 8-13, 1985. Berlin, New York, 1986. P. 8–15.
8. Kozachenko, MR. Experimental mutagenesis in barley breeding. Kharkiv; 2010. 296 p.
9. Darwin, Ch. Tractates. The origin of species. Moscow: Izdatelstvo Academy of Science of USSR; 1935–1959. 608 p.
10. Marshall, DR. The advantages and hazards of genetic homogeneity. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1977; 287:1–20.
11. Sent-Iler, JE. On the extent of environmental impact on changes in animals. Selected works. Moscow: Nauka; 1970. 205 p.
12. Kölliker, A. Über die Darwin'sche Schöpfungstheorie. Zeitschr. Wiss. Zoologie. 1864; 14:114.
13. Mivart, S. On the genesis of species. London, 1871. 70 p.
14. Korzhinskiy, SI. Heterogenesis and evolution. On the theory of the origin of species. Sankt-Peterburg: Zapadnaia Imperatorskaya Akademiya Nauk; 1899. P. 1-94.
15. De Frise, H. Selected works. Moscow: Gosudarstvennoie meditsinskoie izdanelstvo; 1932. P. 74-87.
16. Johannsen, W. Über Knospenmutationen bei Phaseolus. Zeitschr. f. ind. Abstr. u. Vererb. 1908; 1:1.
17. Nilsson-Ehle, H. Einige Beobachtungen über erliche Variationen der Chlorophylleingenschaft bei den Getreidearten. Zeitschr. f. ind. Abstr. u. Vererb. 1913; 9:19.
18. Bauer, E. Mutationen von *Antirrhinum majus*. Zeitschr. f. ind. Abstr. u. Vererb. 1918; XIX:56.
19. Zhegalov, SI. Cases of mutations at oats. In: Scientific news. Collection 4. Moscow: Gosudarstvennoie Izdatelstvo, 1922. P. 197–209.
20. Nadson, GA. On the effects of Radium on yeast fungi in relation to the overall problem of the influence of Radium on living substances. Vestnik rentgenologii i radiologii. 1920; 12:45–137.
21. Michurin, IV. The dream of my life. Pravda. 1934 Sept. 18.
22. Blaringhem, L. Mutation et traumatismas. Etude au l'evolution des forms vegetales. Paris, 1908. P. 15.

23. Gager, ChS. Effects of the Rays of Radium on Plants. Met. New York. Bot. Gart. 1908; 4:4.
24. Stadler, LJ. Genetic effects of X-rays in maize. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 1928; 14:16.
25. Plant Breeding and Genetics Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Retrieved 31 July 2014.
26. Kyrychenko VV, Poviakalo VI. Chemical mutagens and improving the lines of sunflower. Seleksiya I nasinnitstvo. 1988; 80:19–22.
27. Kyrychenko, VV. Breeding and seed production of sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.). Kharkiv: Plant production Institute nd. a VYa Yuriev, 2005. 386 p.
28. Muller, HJ. Artificial transmutation of the gene. Science, N.S. 1927; 66(1699):84–87.
29. Gager, ChS, Blakeslee AF. Chromosome and gene mutation in *Datura* following exposure to radium rays. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 1927; 13:75–79.
30. Goodspeed, TH, Olson AR. The production of variations in *Nicotiana* Species by X-ray treatment of Sex Cells. Proc. Nat. Acad. Sei. U.S.A. 1928; 14:66–69.
31. Delone, LN. On the method of radioselection. Seleksiya I semenovodstvo. 1957; 4:23-27.
32. Sapegin, AA. Works on applied botany, genetics and breeding. Moscow: All-Union Agrarian Academy nd. a Lenin (UAAL); 1935. P. 11.
33. Serebrovskiy, AS. A general scheme for the origin of mutations. Am. Nat. 1929; 63:374.
34. Dubinin, NP. On some key issues of the modern theory of mutations. Genetics. 1966; 2(7):3-20.
35. Timofeoff-Ressovsky, OW. The effect of X-rays in producing somatic genovariations of a definite locus in different directions. Am. Nat. 1929;63:118–124.
36. Vavilov, NI. Genetics and agriculture. Moscow: Znanye; 1967. 61 p.
37. Didus, VI. Experimental obtainment of mutations and spontaneous mutability in pure barley lines [dissertation]. Kharkiv; 1937. 130 p.
38. Aseeva TV, Blagovidova M. Artificial mutations in potatoes. Sotsialisticheskoye rastenyevodstvo. 1935; 15:15.
39. Breslavets, LP. Plants and X-rays. Moscow-Leningrad: Academy of Science of USSR; 1946. 194 p.
40. Gustafsson A, Hagberg A, Persson G, Wiklund K. Induced mutations and barley improvement. Theoretical and Applied Genetics. 1971; 41:239–248.
41. Sakharov, VV. The specificity of action of mutagenic factors. Biologicheskyyi Jurnal. 1937; 7(1):107.
42. Lobashev ME, Smirnov AF. On the nature of action of chemical agents on mutational processes in *Drosophila melanogaster*. The action of ammonia on the occurrence of lethal genovariations. DAS; 1934. P. 174-178.
43. Rapoport, IA. Properties and mechanism of action of super mutagens. Moscow: Nauka; 1966. P. 9-23.
44. Auerbach, Ch. Mutagen specificity. Trans. Rans. Acad. Sci. 1969; 72(1–4):273–285.
45. Soldatov, KI. Chemical mutagenesis in sunflowerbreeding. In: Proceeding 7th International Sunflower Conference; 1976. P. 352–357.
46. Kalaydjian, AA. Chemical mutagenesis in breeding of sunflower [dissertation]. [Krasnodar agricultural biotechnology Center and the all-Russian Research Institute of oil-bearing crops nd. a VS Pustovoyt (Russia)]. Krasnodar; 1998.
47. Encheva J, Georgiev Ga, Nenova N, Valkova D, Georgiev Ge, Peevska P, Encheva V. Application of classical methods as sunflower breeding program in Dobrudja Agricultural Institute General-Toshevo. Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences. 2014; Special Issue (1):673–681.
48. Encheva, J. Creating sunflower mutant lines (*Helianthus annuus* L.) using induced mutagenesis. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2009; 15(2):109–118.
49. Lacombe S, Berville A. A dominant mutation for high oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed oil is genetically linked to a single oleatedesaturase RFLP locus. Molecular Breeding. 2001; 8(2):129–137. DOI 10.1023/A:1013358711651.

50. Cvejic S, Bado S. Radio sensitivity of sunflower restorer lines to different mutagenic treatments. In: Proceed. 5th confer. the jungs scientists and specialists. Krasnodar, 2009. P. 255–259.
51. Shuppert GF, Tang Sh, Slabaugh MB, Knapp SJ. The sunflower high-oleic mutant *Ol* carries variable tandem repeats of FAD2-1, a seed-specific oleoyl-phosphatidyl choline desaturase. *Molecular Breeding*. 2006; 17(3):241–256. DOI 10.1007/S11032-005-5680-y.
52. Kumar APK, Boualem A, Bhattacharya A, Parikh S, Desai N, Zambelli A, Leon A, Chatterjee M, Bendahmane A. SMART – Sunflower Mutant population And Reserve genetic Tool for crop improvement. *BMC Plant Biology*. 2013; 13:38. DOI 10.1186/1471-2229-13-38.
53. Fernandez-Martinez JM, Mancha M, Osorio J, Garces R. Sunflower mutant containing high levels of palmitic acid in high oleic background. *Euphytica*. 1997.;97:113–116.
54. Soroka, AI. Sunflower mutational variability when exposed to mutagen on immature embryos. *Naukovo-tekhnichnyi buleten Institute oliynykh kultur*. 2013;18:19–24.
55. Vasin, VA. Genetic variability of sunflower processing of etilmetansulfonat mature and immature seeds. [dissertation]. Kyiv, 2008.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗА В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

Васько В. А., Гудим О. В., Рожак О. Г.

Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева, Украина

Цель и задачи исследования. Целью обзора является оценка глубины проработки и изучение недостаточно проработанных тематик данного направления.

Материалы и методы. В 2014 г. на опытных полях Института растениеводства им. В. Я. Юрьева и Харьковского национального аграрного университета им. В. В. Докучаева были заложены опыты по экспериментальному мутагенезу подсолнечника и амаранта.

Исходным материалом в исследованиях по подсолнечнику были 12 самоопыленных линий селекции Института растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН, предварительно обработанных раствором химических супермутагенов (0,01 % та 0,05 % концентрации) и 12 самоопыленных линий, обработанных гамма-лучами (доза 120 та 150 Грей). Целью было изучение действия нитрозозэтилмочевины (НЭМ), диметилсульфата (ДМС) и гамма-лучей в зависимости от концентрации раствора, дозы и экспозиции обработки. Контрольным вариантом были семена, замоченные в воде на протяжении 18 часов.

Исходным материалом в исследованиях по амаранту (*Amaranthus hypochondriacus*) были три сорта – Сем, Харьковский 1, Студенческий. С целью получения ценных в хозяйственном отношении форм амаранта проводили обработку семян физическими мутагенами (гамма-облучением). Источник облучения – Co^{60} , дозы – 10 Гр, 15 Гр, 30 Гр. Также облучали семена высокими дозами 400 Гр та 700 Гр для определения летальной дозы для растений амаранта.

Обсуждение результатов. В результате проведения исследований будут установлены особенности действия нитрозозэтилмочевины (НЭМ), диметилсульфата (ДМС) и гамма-лучей на семена и растения подсолнечника в зависимости от концентрации раствора, дозы мутагена и экспозиции обработки. Конечным итогом исследований будет получение ценных для селекции исходных форм подсолнечника с новыми свойствами и качествами, а также – получение ценных в хозяйственном отношении форм амаранта.

Выводы. Одним из методов, позволяющим получать в краткие сроки разнообразный по многим признакам исходный материал, является индуцированный мутагенез.

Метод экспериментального мутагенеза используют с различными целями: получение макро- и микромутаций качественных и количественных признаков для отборов или прямого практического использования, преодоления нескрещиваемости в отдаленной гибридиза-

ции, влияния на кроссинговер у гибридов, угнетение реакции самонесовместимости у растений-перекрестников, вызывание полиплоидии и т. п. На современном этапе исследования направлены на повышение эффективности индуцирования оригинальных и селекционно-ценных мутантов, а также создания принципиально новых источников высокой продуктивности, урожайности и устойчивости к био- и абиотическим факторам.

Ключевые слова: мутант, селекция, инбредная линия подсолнечника, амарант, физический и химический мутагенез, супермутаген, ДМС, НЭМ, Co^{60}

APPLICATION OF EXPERIMENTAL MUTAGENESIS IN PLANT BREEDING

Vasko V. O., Gudym O. V., Rozhak O. G.

Kharkiv National Agrarian University nd. a V. V. Dokuchaev, Ukraine

The aim and tasks of the study. The purpose of the review is to assess the depth of studies and to overview subjects that are insufficiently explored in this field.

Material and methods. Experiments on experimental mutagenesis of sunflower and amaranth were laid out in the experimental fields of the Plant Production Institute nd. a V. Ya. Yuriev and the Kharkiv National Agrarian University nd. a V.V. Dokuchaev in 2014.

The source material in the sunflower studies was 12 self-pollinated lines bred at the Plant Production Institute nd. a V.Ya. Yuriev of NAAS, which were pretreated with chemical supermutagen solution (at the concentrations of 0.01% and 0.05%) and 12 self-pollinated lines, gamma-irradiated (120 and 150 Gray). The aim was to study effects nitrosoethylurea (NEU), dimethyl sulfate (DMS) and gamma-rays as a function of solution concentration, dose and exposure. The control was seeds watered for 18 hours.

The source material in the amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) studies was three varieties – Sem, Kharkovskiyy 1 and Studencheskiy. In order to obtain economically valuable forms of amaranth, seeds were treated with physical mutagens (gamma irradiation). The source of radiation was Co^{60} ; the doses were 10 Gy, 15 Gy and 30 Gy. In addition, seeds were irradiated with the high doses of 400 Gy and 700 Gy to determine the lethal dose for amaranth.

Results and discussion. The study will establish peculiarities of nitrosoethylurea (NEU), dimethyl sulfate (DMS) and gamma-ray action on sunflower seeds and plants, depending on solution concentration, mutagen dose and exposure. The final study results will be source forms of sunflower with new features and properties that are valuable for breeding as well as economically valuable forms of amaranth.

Conclusions. One method that enables obtaining source material, which would be diverse by many traits, in the short term is induced mutagenesis.

Experimental mutagenesis is used for various purposes: obtainment of macro- and micromutations of qualitative and quantitative traits for selection or for direct practical use, negotiation of incapacity for distant hybridization, influence on crossingover in hybrids, suppression of the self-incompatibility reaction in cross-pollinated plants, induction of polyploidy, etc. At present, the research is focused on raising the efficiency of induction of original and breeding-valuable mutants as well as on the creation of fundamentally new sources of high productivity, yield capacity and resistance to biological and abiotic factors.

Key words: mutant, breeding, inbred line of sunflower, amaranth, physical and chemical mutagenesis, supermutagen, DMS, NEU, Co^{60}