

КУЛІШ О.Ю.<sup>1</sup>✉, ПОГРЕБЛЮК М.В.<sup>1</sup>, КОВАЛЬЧУК З.В.<sup>3</sup>, БАБИЧ В.О.<sup>1,3</sup>, ПАРИЙ Я.Ф.<sup>2</sup>, СИМОНЕНКО Ю.В.<sup>3</sup>, ПАРИЙ М.Ф.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Національний університет біоресурсів і природокористування України, Україна, 03041, м. Київ, вул. Героїв оборони, 15, e-mail: olyakulish@ukr.net

<sup>2</sup> Всеукраїнський науковий інститут селекції, Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 30

<sup>3</sup> Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

✉ olyakulish@ukr.net, (096) 402-11-74

## ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗУ ДЛЯ ОВОЧЕВОЇ КУКУРУДЗИ

В останні роки зросла популярність овочевої кукурудзи в Україні. Качани кукурудзи відрізняються прекрасними смаковими і поживними властивостями. Овочева кукурудза, на відміну від інших підвидів, має унікальний склад легкозасвоюваних вуглеводів (до 20%): фруктоза, цукроза, глюкоза, мальтоза, рафіноза; містить 12–15% крохмалю, близько 3% протеїну, у тому числі незамінні амінокислоти лізин і триптофан, 1% жирів, а також вітаміни С, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, РР, мінеральні солі Са, К, Mg, Fe, Na, P, Cl, S. Усе це робить її цінним харчовим продуктом. У 2015 році до Реєстру сортів, дозволених для поширення в Україні, занесено 67 сортів овочевої кукурудзи [7].

Мутації є джерелом розширення генетичного різноманіття кукурудзи, які, у свою чергу, є вихідним матеріалом у селекційній практиці цієї культури. Для отримання штучних мутацій кукурудзи використовують радіаційне опромінення та хімічні мутагени [4].

До найбільш сильних хімічних мутагенів (супермутагенів), що підвищують частоту мутацій у сотні разів, належать етиленамін, діетилсульфат, диметилсульфат, нітрозоетилсечовина, нітрозометилсечовина, пероксид водню, іприт тощо. Другу групу складають речовини, які подібні за будовою до азотистих основ нуклеїнових кислот і діють на них: 5-бромурацил, 5-фтор-диоксиуредин, 5-бромоксиурацил. До третьої групи відносять акридини та їх похідні, до четвертої – азотисту кислоту, формальдегід, гідроксиламін. Кожний із хімічних мутагенів може викликати як хромосомні розриви, так і генні мутації [3].

Хімічний мутаген натрійозидум (NaN<sub>3</sub>) широко використовується для мутагенезу ячменю; відомо, що він спричиняє стійкий мутагенез у послідовності ДНК геному цієї культури [6].

Для виділення мутантів у бактерій часто використовують класичний мутаген 5-бромурацил (5BrUra) [1–5]. 5BrUra викликає точкові мутації, зокрема транзиції включення і реплікації у бактеріофагів, бактерій і деяких вищих організмів, проте в опрацьованій нами науковій літературі немає відомостей щодо використання 5-бромурацилу на рослинах [1].

Метою роботи було отримання ліній овочевої кукурудзи з генетичними мутаціями, які можуть бути використані для поліпшення властивостей овочевої кукурудзи, з використанням хімічних мутагенів.

### Матеріали і методи

У дослідженнях використовували лінію кукурудзи ПЯ-3 (батьківський компонент гібридів) Всеукраїнського наукового інституту селекції та зразки 727 G, 708 A, 308 E, 725 A, 725 B (з колекції Maize Genetics Cooperation Stock Center) [8].

Як мутагенний фактор застосовували 5-бромурацил (BrU) у концентраціях 0,0191, 0,0955, 0,191, 0,573 і 1,91 г/л відповідно та натрій озидум (NaN<sub>3</sub>) – 1,95, 2,6 і 3,25 г/л [2, 3].

Насіння кукурудзи пророщували за температури +24 °С на зволоженому фільтрувальному папері до появи перших корінців довжиною до 0,4 см. Далі відбирали вісім зразків по 100 насінин і замочували у розчинах хімічних мутагенів BrU та NaN<sub>3</sub> у вказаних вище концентраціях. Час експозиції – дві години. Як контроль використовували лінію ПЯ-3, насіння якої не оброблялося мутагенами [2].

Рослини, отримані в поколіннях M<sub>0</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, самозапильовали. У поколінні M<sub>1</sub> висівали 272 сім'ї.

### Результати та обговорення

У поколінні  $M_0$  спостерігалось очікуване зниження схожості насіння. Зі збільшенням концентрації мутагенного фактора знижувалася схожість.

У подальшому розвитку у всіх варіантах досліду були виявлені фенотипові зміни рослин кукурудзи (зігнуте стебло, карликовість, відсутність генеративних органів) (рис. 1).

Отримані дані свідчать, що фенотиповий ефект мутагену 5-бромурацилу вищий порівняно з ефектом, що спостерігається за дії  $NaN_3$ . Найвищий рівень пригнічення зафіксовано у випадку застосування BrU у концентрації 1,91 г/л. Для рослин було характерне відставання у розвитку з подальшим відмиранням. Серед рослин, оброблених  $NaN_3$ , такого ефекту не спостерігали. Отже, ми можемо припустити, що використані нами концентрації цього хімічного чинника не

є летальними, а тому порівнювати фенотиповий ефект ми не можемо (табл. 1).

Частота виникнення фенотипових змін з використанням BrU у середньому становила 59,5%, а  $NaN_3$  – 13,4%.

У  $M_1$  поколінні визначали частоту мутацій. При проведенні фенотипових спостережень із 272 сімей мутації було виявлено в 42. Із 84 сімей, оброблених BrU, лише 5 мали мутації, а з 198 сімей, для обробки яких було використано  $NaN_3$ , 36 мали мутантні форми.

Частота мутацій у  $M_2$  поколінні для сімей, оброблених BrU, становить 6%, при використанні  $NaN_3$  – 18,2%.

Досліджені 272 сімі мали такі мутації: забарвлення рослин – альбіноси; антоціанове стебло і листки, форма стебла – зігнуте стебло в 2–3 міжвузлях; вкорочені міжвузля, форма листових пластин – лінійні листки шириною до 2 см; зростлі і закручені листки, структура суцвіть – розга-

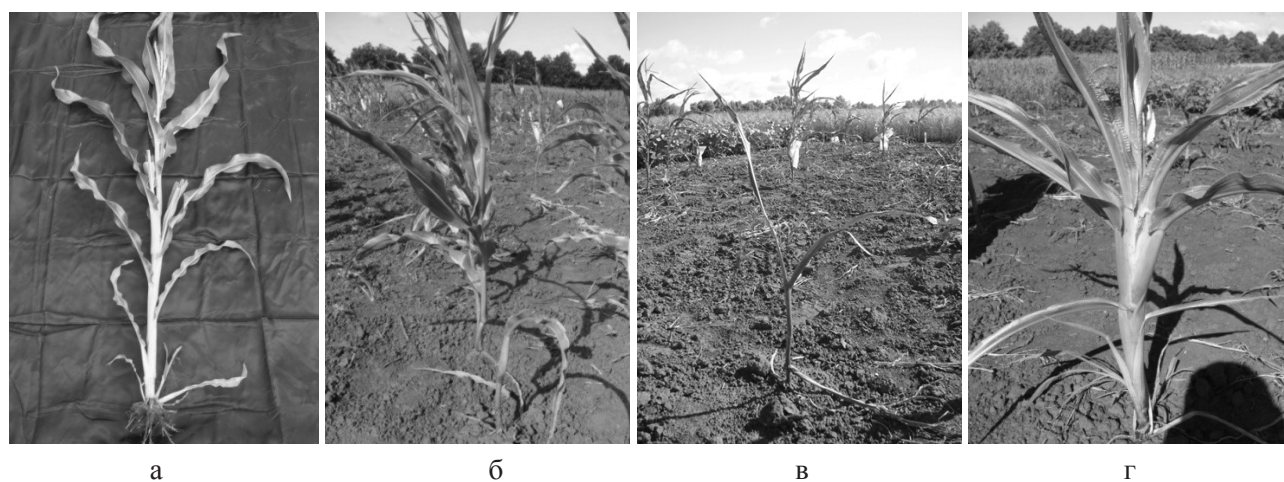


Рис. 1. Фенотиповий ефект хімічних мутагенів у  $M_0$  поколінні (а – контроль; б – зігнуте стебло за дії 3,25 г/л  $NaN_3$ ; в – відсутність генеративних органів за дії 1,91 г/л BrU; г – карликовість за дії 0,191 г/л BrU)

Таблиця 1

#### Фенотиповий ефект у $M_0$ поколінні

Мутаген	Концентрація, г/л	К-сть обробленого насіння	К-сть отриманих з насіння рослин	К-сть рослин без фенотипових змін	К-сть рослин із змінами у фенотипі	Фенотиповий ефект, %
$NaN_3$	1,95	100	76	69	7	9,2
	2,6	100	73	63	10	13,7
	3,25	100	69	57	12	17,4
BrU	0,0191	100	58	22	36	62,1
	0,0955	100	52	35	17	32,7
	0,191	100	34	13	21	61,8
	0,573	100	25	5	20	80
	1,91	100	23	9	14	60,9

лужена волоть; гілкування качана, відсутність чоловічих генеративних органів – озернена волоть.

Серед усього різноманіття отриманих мутацій для практичного застосування і впровадження у виробництво, на нашу думку, найбільш перспективною є мутація гілкування качана та волоті. За фенотипом отримана нами мутантна лінія кукурудзи подібна до фенотипового прояву рецесивного гена *gamose* (*ga*). Відомо три гени гілкування качана:  $ga_1$ ,  $ga_2$ ,  $ga_3$ . Гомозигота за геном  $ga_1$  має гілкуватий качан, який зазвичай погано зав'язує насіння. Волоть відрізняється великою кількістю гілочок, які відходять від центральної осі майже під прямим кутом. У гомозигот за геном  $ga_2$  гілкується лише верхівка качана, а його основа залишається цілою. Часто качани закінчуються гілочками з пиляками. Волоть відрізняється від нормальної волоті і від гомозигот  $ga_1$ . Качани гомозигот  $ga_3$  формують невеликі додаткові добре озернені качанчики, які ростуть від основи головного стрижня [4].

У поколінні  $M_0$  не було виявлено фенотипових змін гілкування качана. Фенотипові зміни качана та волоті спостерігали у  $M_1$  поколінні, в якому розщеплення відповідало 3:1. Самозапилення дозволило визначити, чи закріплюється ця ознака. Так, у поколінні  $M_2$  всі рослини мали гіллясті качани і волоть. Таким чином, отримана мутантна лінія може бути включена до селекційного процесу і використовуватись як потенційний донор зазначеної фенотипової ознаки.

Отриману мутантну лінію було охарактеризовано за комплексом господарсько-цінних ознак.

Мутантна лінія характеризувалася такими показниками: довжина стрижня варіювала в межах від 11 до 12,5 см. Качани складались у середньому з 53 гілок, з яких 36 були продуктивними і формували повноцінне насіння. Кожна окрема гілка може мати гілочки другого порядку. Гілки на стрижні відрізнялися за розміром, тому ми віднесли їх до чотирьох типів (великі – 5–9 см; середні – 4–5 см; малі – 2–4 см; дуже малі – менше 2 см (рис. 2)).

За кількістю гілок на волоті першого та другого порядків спостерігалась істотна відмінність (табл. 2).

### Висновки

Таким чином, нами отримана мутантна лінія цукрової кукурудзи, яка за формою качана відрізняється від зернової кукурудзи.

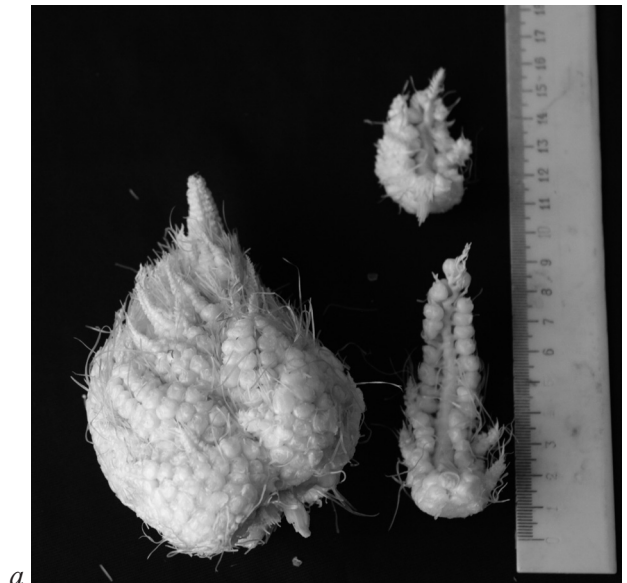


Рис. 2. Порівняння початка мутантної лінії (а) і початка зернової кукурудзи (б)

Таблиця 2

Кількість гілок на волоті

Тип гілки	ПЯ-3	Мутантна лінія
Першого порядку	11	40
Другого порядку	3	15

Встановлено можливість використання 5-бромурацилу як хімічного мутагену на рослинах. Точкові мутації, які проявляються за дії цього мутагену, є цінними донорами генетичного матеріалу в селекційній практиці.

Отже, нами отримано новий підвид кукурудзи за ознакою гілкування качана, що є перспективним для подальших досліджень та впровадження у виробництво як нового покоління бекі-корн кукурудзи.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2016 році [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://vet.gov.ua/node/919>.
2. Мику В.Е. Генетические исследования кукурузы. – Кишинев: Штиинца, 1981. – 231 с.
3. Малюта С.С. Мутагенез / Екологічна енциклопедія: у 3-х т. / А.В. Толстоухов (гол. ред.). – К.: ТОВ «Центр екологічної освіти та інформації», 2007. – 2. – С. 321.
4. Olsen O., Wang X., Von Wettstein D. Sodium azide mutagenesis: preferential generation of A.T-> G.C transitions in the barley ant18 gene // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1993. – 90, № 17. – P. 8043–8047.
5. Пішак В.П., Бажора Ю.І., Брагін Ш.Б., Воробець З.Д., Дубінін С.І., Жегунов Г.Ф., Ковальчук Л.Є., Корольов В.О., Костилюв О.В., Кулікова Н.А., Піскун Р.П., Романенко О.В., Слесаренко О.Г., Стеблюк М.В., Федченко С.М. Медична біологія: Підручник / За ред. В.П. Пішака, Ю.І. Бажори. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 656 с.
6. Броварець О.О., Говорун Д.М. Новий фізико-хімічний механізм мутагенної дії 5-бромурацилу // Ukrainica Bioorganica Acta. – 2009. – № 2. – С. 19–23.
7. Map Data In MaizeGDB [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://archive.maizegdb.org>.
8. Зоз Н.Н. Методика использования химических мутагенов в селекции сельскохозяйственных культур // Мутационная селекция. – М.: Наука, 1968. – С. 23–27.

**KULISH O.YU.<sup>1</sup>, POGREBLJUK M.V.<sup>1</sup>, KOVALCHUK Z.V.<sup>3</sup>, BABYCH V.O.<sup>1,3</sup>, PARIJ YA.F.<sup>2</sup>, SYMONENKO YU.V.<sup>3</sup>, PARIJ M.F.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Ukraine, 03041, Kyiv, Heroyiv Oborony str., 15, e-mail: [olyakulich@ukr.net](mailto:olyakulich@ukr.net)

<sup>2</sup> Ukrainian Science institute of plant breeding, Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 30

<sup>3</sup> Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnoho str., 148

**EXPERIMENTAL MUTAGENESIS OF THE VEGETABLE MAIZE**

**Aim.** Mutation is the expansion of the genetic diversity of corn, which is the original material selection in the practice of this culture. The purpose of our work was getting lines of vegetable maize with genetic mutations, which can be used to improve the properties of vegetable corn, using chemical mutagens. **Methods.** In the research used a line of corn PA-3 and samples 727 G, 708 A, 308 E A, B, 725. As a mutagen applied 5-bromuracil in 0.0191, 0.0955, 0.191, 0.573 and 1.91 g/l, respectively, and sodium ozidium (NaN<sub>3</sub>) – 1.95, 2.6 and 3.25 g/l. **Results.** It was obtained a new mutant line of vegetable corn and it is characterized by complex economic and valuable features. **Conclusions.** We received a new subspecies of the vegetable corn, which is promising for further research and production as a new generation of baby corn.

**Keywords:** Vegetable maize/corn, mutagenesis, mutations, baby corn.