Казахский агротехнический исследовательский университет им. С.Сейфуллина

| УДК 633.17:631.52 (574.2) (043.3)  З-47 | Направахрукописи |
| --- | --- |

**ЗЕЙНУЛЛИНА АЙЫМ ЕРБОЛКЫЗЫ**

**Создание исходного материала проса (*Panicum miliaceum* L.)**

**с хозяйственно-ценными признаками на основе индуцированного химического мутагенеза в условиях Северного Казахстана**

8D08101-Генетика и селекция сельскохозяйственных культур

Диссертация на соискание степени

доктора философии (PhD)

|  | Научный консультант  кандидат биологических наук,  ассоциированный профессор  А.Б. Рысбекова  Зарубежный научный консультант  доктор биологических наук  Ж.М. Мухина |
| --- | --- |

Республика Казахстан

Астана, 2024

| **СОДЕРЖАНИЕ**  **НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**.................................................................. | 4 |
| --- | --- |
| **ОПРЕДЕЛЕНИЯ**........................................................................................ | 5 |
| **ОБОЗНАЧЕНИЯИ СОКРАЩЕНИЯ.**.................................................... | 7 |
| **ВВЕДЕНИЕ**................................................................................................. | 8 |
| **1 ОБЗОРЛИТЕРАТУРЫ**.......................................................................... | 12 |
| 1.1 История происхождения, народно-хозяйственное значение и морфо-биологические особенности проса посевного............................................ | 12 |
| 1.2 История мутагенеза в селекции растений............................................. | 15 |
| 1.3 Химический мутагенез в селекции растений....................................... | 21 |
| 1.3.1 Применение азида натрия в растениеводстве................................... | 25 |
| 1.3.2 Колхицин как мутаген в селекции...................................................... | 27 |
| 1.4 Молекулярные маркеры в селекции проса.......................................... | 29 |
| **2 УСЛОВИЯ, ПРОГРАММА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**.......... | 32 |
| 2.1 Климатические условия Северного Казахстана.................................... | 32 |
| 2.2 Погодные условия в годы проведения исследований.......................... | 34 |
| 2.3 Объекты и материалыисследований.................................................... | 36 |
| 2.4 Методикаисследований........................................................................ | 38 |
| **3 ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МУТАГЕНОВ НА ОБРАЗЦЫ ПРОСА ПО МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ И ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫМ ПРИЗНАКАМ**............................................................................................ | 46 |
| 3.1 Модельные опыты по изучению влияния концентрации и экспозиции обработки химических мутагенов.......................................... | 46 |
| 3.1.1 Влияние азида натрия на спектр морфофизиологических параметров проростков проса..................................................................... | 46 |
| 3.1.2 Морфофизиологическая реакция проростков проса на действие колхицина..................................................................................................... | 50 |
| 3.2 Эффект азида натрия на хозяйственно-ценные признаки полученных мутантных форм М1-М2 поколений...................................... | 55 |
| 3.2.1 Мутагенное действие азида натрия на хозяйственно-ценные признаки М1 растений в полевых условиях | 55 |
| 3.2.2 Влияние азида натрия на хозяйственно-ценные признаки М2 растений в полевых условиях...................................................................... | 60 |
| 3.3 Влияние колхицина на хозяйственно-ценные признаки полученных мутантных форм М1-М2 поколений............................................................... | 67 |
| 3.3.1 Оценка влияния колхицина на хозяйственно-ценные признаки М1растений....................................................................................................... | 67 |
| 3.3.2 Оценка влияния колхицина на хозяйственно-ценные признаки М2 растений........................................................................................................ | 73 |
| 3.4 Активность фотосинтетических пигментов растений проса под воздействием мутагенов в поколениях М1-М2........................................... | 80 |
| 3.4.1 Эффект азида натрия на активность фотосинтетических пигментов М1и М2 растений........................................................................ | 80 |
| 3.4.2 Влияние колхицина на содержание фотосинтетических пигментов М1 и М2 растений............................................................................................. | 85 |
| 3.5 Характеристика хлорофилл-дефицитных изменений у растений под действием химических мутагенов.................................................................. | 89 |
| 3.5.1 Характеристика хлорофилл-дефицитных изменений в поколении М1 у *Panicummiliaceum*L. под действием азида натрия............................ | 89 |
| 3.5.2 Характеристика хлорофилл-дефицитных изменений в поколении М1-М2 у *Panicummiliaceum*L. под действием колхицина......................... | 91 |
| **4ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ISSR МАРКЕРОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ПРОСА**......................... | 94 |
| 4.1 Влияние различных концентрации азида натрия на генетическую вариабельность мутантных форм проса..................................................... | 94 |
| 4.2 Влияние различных концентрации колхицина на генетическую вариабельность мутантных форм проса..................................................... | 100 |
| **5МУТАЦИОННАЯ И МОДИФИКАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МУТАНТНЫХ ФОРМ М3 РАСТЕНИЙ**................ | 107 |
| 5.1 Изменчивость количественных признаков под влиянием мутагенов | 107 |
| 5.2 Оценка физиологических параметров М3 растений............................... | 115 |
| **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**.......................................................................................... | 118 |
| **ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ МУТАЦИОННОЙ СЕЛЕКЦИЙ**..................... | 121 |
| **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**................................ | 122 |
| **ПРИЛОЖЕНИЕА**...................................................................................... | 145 |
| **ПРИЛОЖЕНИЕ Б**...................................................................................... | 146 |
| **ПРИЛОЖЕНИЕ В**...................................................................................... | 147 |
| **ПРИЛОЖЕНИЕ Г**...................................................................................... | 149 |

**НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 7.32-2001. Межгосударственный стандарт. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 10469-90. Государственный стандарт на посевные качества семян. Просо.

ГОСТ 12038-84. Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести.

**ОПРЕДЕЛЕНИЯ**

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

**Азид натрия** – неорганическое вещество с формулой NaN3. Как самый доступный азид используется для получения других азидов.

**Вегетационный период** –это время, необходимое для прохождения полного цикла развития растений от фазы всходов до уборки урожая, заканчивающегося образованием зрелых семян.

**Генетическая вариабельность** – изменчивость, обусловленная взаимодействием и различным проявлением генетических факторов (в отличие от не генетической модификационной изменчивости).

**Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)** – это длинная закрученная молекула, находящаяся в хроматине каждой клетки, которая является носителем генетической информацтт, записанной в виде последовательности нуклеотидов с помощью генетического кода.

**ДНК-ма́ркеры (ДНК-маркеры), или молекулярно-генетические маркеры** – полиморфный признак, выявляемый методами молекулярной биологии на уровне нуклеотидной последовательности ДНК для определенного гена или для любого другого участка хромосомы при сравнении генотипов различных особей, пород, сортов, линий.

**Индуцированный мутагенез** – искусственное получение мутаций путем воздействия радиационного излучения или химических веществ.

**Исходный материал** – это линии, сорта, виды, роды культурных или диких растений, обладающих ценными хозяйственными качествами, используемые для выведения новых сортов.

**Каротиноиды (*car*)** – природные органические [пигменты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5_%D0%BF%D0%B8%D0%B3%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%8B), синтезируемые [бактериями](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D1%8F), [грибами](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D1%80%D0%B8%D0%B1%D1%8B), [водорослями](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B8), [высшими растениями](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D1%8B%D1%81%D1%88%D0%B8%D0%B5_%D1%80%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F)и[коралловыми полипами](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D1%80%D0%B0%D0%BB%D0%BB%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B5_%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BF%D1%8B), окрашены в [желтый](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%96%D1%91%D0%BB%D1%82%D1%8B%D0%B9), [оранжевый](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%80%D0%B0%D0%BD%D0%B6%D0%B5%D0%B2%D1%8B%D0%B9)или[красный](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D1%80%D0%B0%D1%81%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D1%86%D0%B2%D0%B5%D1%82)[цвета](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A6%D0%B2%D0%B5%D1%82).

**Колхицин** – алкалоид трополонового ряда, основной представитель семейства колхициновых алкалоидов (гомоморфинанов).

**Мутабельность** – способность генной структуры к изменчивости, способность к мутации.

**Мутагенез** – процесс возникновения мутаций.

**Мутация** – внезапно возникающие естественные (спонтанные) или вызываемые искусственно (индуцированные) стойкие изменения наследственных структур живой материи, ответственных за хранение и передачу генетической информации.

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР)** – экспериментальный метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе).

**Продуктивностьрастений**– это средняя урожайность с единицы площади.

**Просо (*Panicummiliaceum*L.)** – однолетнее [травянистое растение](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%B2%D1%8F%D0%BD%D0%B8%D1%81%D1%82%D1%8B%D0%B5_%D1%80%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F), [вид](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D0%B2%D0%B8%D0%B4) [рода](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%BE%D0%B4_(%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F)) [Просо](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BE) (*Panicum*), [семейства](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%B9%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%BE) [Злаки, или Мятликовые](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%97%D0%BB%D0%B0%D0%BA%D0%B8) (*Poaceae*).

**Селекция** – наука о создании новых и улучшении существующих пород животных, сортов растений, штаммов микроорганизмов.

**Скороспелость** – определяется скоростью достижения состояния спелости (биологической и хозяйственной).

**Сорт** – совокупность исходных по хозяйственно-ценным морфологическим признакам или биологическим свойствам растений одного вида, родственных по происхождению, отобранных и размноженных для возделывания в определенных условиях.

**Фотосинтез** – образование органических веществ зелеными растениями и некоторыми бактериями с использованием энергии солнечного света.

**Хлорофилл** – зеленый пигмент растений, с помощью которого они улавливают солнечную энергию и осуществляют фотосинтез.

**Хлорофилл *a*** – особая форма [хлорофилла](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%B8%D0%BB%D0%BB), используемая для оксигенного[фотосинтеза](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%BE%D1%82%D0%BE%D1%81%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B5%D0%B7).

**Хлорофилл *b*** – форма [хлорофилла](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%B8%D0%BB%D0%BB), один из [вспомогательных пигментов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D1%81%D0%BF%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D0%B3%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%BF%D0%B8%D0%B3%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%8B)фотосинтеза у [высших растений](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%92%D1%8B%D1%81%D1%88%D0%B8%D0%B5_%D1%80%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F), [зеленых водорослей](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%97%D0%B5%D0%BB%D1%91%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D0%B8)и[эвгленовых](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%B2%D0%B3%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D1%8B%D0%B5), а также у цианобактерий группы [прохлорофит](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D1%85%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%B8%D1%82%D1%8B).

**Цитогенетика** – раздел [генетики](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0), изучающий закономерности наследственности во взаимосвязи со строением и функциями [органоидов](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B8%D0%B4%D1%8B), в особенности[хромосом](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D1%81%D0%BE%D0%BC%D1%8B).

**ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

| АН | –Азиднатрия |
| --- | --- |
| АСХОС | –Актюбинская сельскохозяйственная опытная станция |
| ВИР | –Всероссийский Институт Растениеводства им. Н.И. Вавилова |
| ДНК | –дезоксирибонуклеиноваякислота |
| МАГАТЭ | –Международное агентство по атомной энергии |
| НПЦЗХ | –Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А.И. Бараева |
| ПЦР | –полимеразнаяцепнаяреакция |
| ФАО | –Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (FoodandAgricultureOrganization) |
| г | –грамм |
| гг. | –годы |
| г/м2 | –граммнаметрквадратный |
| ГТК | –гидротермическийкоэффициент |
| мкл | –микролитр |
| млн | –миллион |
| мм | –миллиметр, единица измерения количества выпавших осадков |
| МНМ | –метилнитрозомочевина |
| нм | –нанометр |
| см | –сантиметр |
| Т0С | –показатель температуры по градуснику Цельсия |
| % | –процент |
| ТАЕ | –трис-ацетатныйбуфер |
| ТОО | –товарищество с ограниченной ответственностью |
| СТАВ | –цетилтриметиламмонийбромид |
| ЭДТА | –этилдиаминтетрауксуснаякислота |
| ЭМС | –этилметансульфонат |
| ddH2O | –бидистиллированнаявода |
| М1, М2, М3 | –поколениямутантов |
| NGS | –секвенирование ДНК следующегопоколения |
| SNP | –однонуклеотидныйполиморфизм |
| TILLING | –нацеливание на индуцированные локальные повреждения геномов |

**ВВЕДЕНИЕ**

**Актуальность темы.** В послании президента Республики Казахстан от 1 сентября 2023 года К.К. Токаев отметил о высшей степени актуализации проблемы изменения климата и продовольственной безопасности страны продуктами питания[1]. Эффективной стратегией выращивания сельскохозяйственных культур в условиях дефицита воды является возделывание культур, адаптированных к засухе, вместо культур, требующих большего количества воды [2, 3]. Просо часто рассматривается как одно из наиболее подходящих растений для сельского хозяйства на маргинальных участках с низкой плодородностью почвы. Выращивание проса возможно на неплодородных участках и в условиях экономичного сельского хозяйства, что особенно актуально в случаях, когда основные зерновые культуры дают низкие урожаи [4]. Выращивание проса может быть успешным даже в суровых климатических и почвенных условиях[5]. Поскольку просо приспособлено к засушливым условиям, оно может быть основной культурой для предотвращения нехватки продовольствия и голода в мире [4, 6]. По данным ФАО, мировое производство проса составляет 89,17 млн тонн на площади 74 млн га [7]. Крупнейшим и мировым лидером по производству проса в мире является Индия [8]. Просо возделывается в более засушливых регионах Азии, Африки, Европы, Австралии и Северной Америки [9].

В Казахстане просо является одним из основных видов крупяных культур, отличающимся высокой устойчивостью к засухе, соли и неприхотливостью к срокам посева в условиях сухого климата степной зоны. На пике освоения целинных земель в стране площадь посевов проса достигала 1,7 миллиона гектаров[10], однако с тех пор эта площадь сократилась в 32 раза, составляя на сегодняшний день лишь 52 тысячи гектаров. Посевы проса в Казахстане концентрируются преимущественно на 52 тысячах гектаров, при этом более половины этой площади располагается в Павлодарской области (27 тысяч гектаров), Костанайской области (9 тысяч гектаров) и Актюбинской области (6 тысяч гектаров), которые являются лидерами по посевным и убранным площадям проса. Площади под просом почти удвоились в Костанайской, Акмолинской, Западно-Казахстанской и Восточно-Казахстанской областях. Увеличение потенциала урожайности всегда было и остается ключевым аспектом в селекционных программах[10, 11].

Увеличение потенциала урожайности всегда было и остается фундаментально важным в селекционных программах. Основной задачей селекции проса является создание новых высокоурожайных сортов с повышенным качеством зерна, устойчивых к болезням и вредителям, засухе и внедрение их в производство. Как показывает практика, при повышении урожайности растений всегда существует опасность снижения качества продукции. В селекционном плане комбинирование в одном сорте всех перечисленных признаков создает большие трудности [12, 13]. Большинство сортов проса были выведены с применением традиционных методов селекции. Это подчеркивает важность разработки новых подходов для расширения генетического разнообразия этой культуры, что остается предметом постоянного внимания ученых. Один из наиболее результативных методов в селекционном процессе - индуцированный мутагенез. Преимущества химического индуцированного мутагенеза включают более быстрое улучшение исходного материала для последующей селекции как по отдельным, так и по нескольким хозяйственно-ценным признакам [14, 15]. Замечено, что индуцированные мутации в локально адаптированных генотипах способны повышать хозяйственно-ценныепризнаки, а также другие количественные показатели растений [16].

Ежегодно высевается более 9 миллионов гектаров мутантных сортов, что дает около 1,5 миллиона тонн урожая в год с оценочной стоимостью около 500 миллионов долларов [17]. В Казахстане до настоящего времени не проводились исследования с использованием метода химического мутагенеза,в основном селекция ведется методами массового отбора и гибридизации.

Эффективность метода мутационной селекции подтверждена широким его применением во многих странах мира для решения различных задач в области селекции растений. Полученные мутанты с полезными признаками и свойствами непосредственно используются в качестве продуктивных доноров при подборе родительских пар в программе гибридизации. Роль мутации в увеличении генетической изменчивости и возможности при отборе по ценным признакам, таких как урожайность, скороспелость, количество зерен с метелки и растения, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, качества зерна были проработаны с различными сельскохозяйственными культурами.Мутанты часто обладают значительной селекционной ценностью, поскольку они могут проявлять новые, ранее неизвестные полезные характеристики. Кроме того, метод мутагенеза позволяет преодолеть технические сложности, возникающие при скрещивании мелкозерновых культур, таких как просо [18-20].В связи с этим, использование метода химического мутагенезаявляется актуальным направлением в селекции проса. Индуцированный мутагенез позволит за короткий срок создать ценный исходный материал с разнообразными морфологическими, генетическими и хозяйственно-ценными признаками, что в свою очередь позволит увеличить частоту и спектр оригинальных мутаций.

**Цель исследований.**

Применение индуцированного химического мутагенеза при создании исходного материала проса, характеризующихся комплексом хозяйственно-ценных признаков, адаптированных к условиям Северного Казахстана.

**Задачи исследований:**

-модельные опыты по изучению влияния различных концентраций и экспозиции азида натрия и колхицина на спектр морфометрических и цитогенетических изменений в стадии прорастания семян и подбор эффективных концентрации и продолжительности обработки;

-оценка влияния различных концентрации и экспозиции обработки азида натрия и колхицина на количественное содержание фотосинтетических пигментов: хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, соотношение хлорофилла (*a+b*) и каротиноидов (*car*) в М1-М3 поколений проса;

-характеристика спектра хлорофилл-дефицитных изменений и определение их частоты в поколении М1-М2 под действием азида натрия и колхицина;

-оценка полученных мутантных форм М1-М2 поколений по хозяйственно-ценным признакам в полевых условиях;

-фрагментный анализ генетической вариабельности ДНК исходных и отобранных мутантных форм с использованием ISSR маркеров методом капиллярного электрофореза;

-анализэффективности мутагенных факторов на мутационную и модификационную изменчивостьи отбор М3 поколений по хозяйственно-ценным признакам в условиях Северного Казахстана для включения их в селекционный процесс.

**Объекты исследования:** химические мутагены, сортообразцыпросо и мутантные формы, ISSR маркеры.

**Предмет исследования:**химические мутагены, концентрации и экспозиции обработки, хозяйственно-ценные признаки.

**Методы исследования.** При проведении исследований применялись полевые, лабораторные и физиологические опыты, молекулярно-генетические и статистические анализы.

**Научная новизна.**

Впервые в условиях Северного Казахстана получены мутантные формы проса на основе использования химического индуцированного мутагенеза и молекулярно-генетического анализа. Применение азида натрия и колхицина позволило выделить константные мутантные формы с хозяйственно-ценными признаками и со спектром оригинальных мутаций.

**Теоретическая и практическая значимость.**

По результатам проведенных исследований даны теоретические основы создания исходного материала просо, полученных на основе химического индуцированного мутагенеза и молекулярно-генетического анализа. На основе степени чувствительности культуры проса к мутагенам определены эффективные градации концентрации и экспозиции обработки семян. Применение метода индуцированного мутагенеза снизил длину вегетационного периода мутантных форм проса по сравнению с исходным материалом, это в свою очередь позволяет получить раннеспелые формы в селекционных программах.

**Положения, выносимые на защиту:**

-подобраны оптимальные концентрации и экспозиции обработки водного раствора азида натрия и колхицина при воздействии на семена проса;

-изучено влияние мутагенов на модификационные и мутационные изменения;

-получен исходный материал мутантных форм проса с хозяйственно-ценными признаками.

**Апробация работы.**

По результатам проведенных исследований опубликовано 8 научных работ, из них: 3 публикации - в журналах КОКНВО РК, 2 публикации в журналах входящих в базы данных «WebofScience» и Scopus («Agronomy» - Q1, процентиль 79%; «BulgarianJournalofAgriculturalScience» - Q3, процентиль 41%), а также 3 публикации былиопубликованыи доложены на международныхнаучно-практических конференциях (Приложение А):

-Mutagenic effect of colchicine on photosynthetic pigments of proso millet M2 generation. The 29th International scientific and practical conference«Modern scientific trends and youth development» (July 25 – 28, 2023) Warsaw, Poland. International Science Group. 2023. 244 p. ISBN – 979-8-89074-568-2

-Influence of colchicine on seeds germination and coleoptile length of proso millet genotypes / V International Scientific and Practical Conference «World science priorities», August 10 – 11, 2023, Vienna. Austria. 122 p. ISBN 978-92-44513-62-0

-Mutagenic effect of colchicine on photosynthetic pigments of two proso millet genotypes / International Conference «scientific research of the sco countries: synergy and integration», July 12, 2023. Beijing, PRC. 189 p. ISBN 978-5-905695-82-7.

**Связь диссертации с госпрограммами.**

Исследования проводились в рамках научного проекта №AP14870014 «Применение ДНК-технологий в селекционно-генетических исследованиях культуры проса при создании новых отечественных засухоустойчивых сортов» (2022-2024 гг.), грантового финансирования научно-исследовательских работ ГУ «Комитет науки Министерства науки и высшего образования РК».

Диссертация проведена в полевых и лабораторных условиях. Полевые опыты заложены в коллекционном питомнике ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства имени А.И. Бараева».Молекулярно-генетические и цитогенетические исследования были проведены в Научно-исследовательской платформе сельскохозяйственной биотехнологии (НИПСБ) при Казахском агротехническом исследовательском университете имени С. Сейфуллина, в ТОО «Казахский НИИ земледелия и растениеводства», в лаборатории биотехнологии, физиологии, биохимии растений и оценки качества продукции (Приложение Б).

Научная стажировка на тему "Использование белковых и молекулярных маркеров в создании исходного материала в селекции сельскохозяйственных культур" в рамках докторской диссертации пройдена в ТОО "Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства" в г.Алматы в период с 12 апреля по 6 мая 2021 года (Приложение В).

**Внедрение результатов исследования.**

Полученные мутантные формы проса М3 поколения при проведении диссертационной работы включены в селекционные исследования в ТОО «Актюбинская СХОС» и ТОО «НПЦ ЗХ имени А.И. Бараева» (Приложение Г).

**Объем и структура диссертации.**

Диссертационная работа изложена на 159 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты исследований, заключение и список использованных источников, 4приложения. Список использованных источников состоит из 320 наименований отечественных и зарубежных авторов. Работа содержит 36 таблиц, 32 рисунка.

**1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

**1.1 Народно-хозяйственное значение, морфо-биологические особенности проса**

Просо обыкновенное (*Panicum miliaceum* L.) известно как тетраплоидный злак (2n=4×=36) и предположительно является аллотетраплоидом, поскольку обнаружено, что в ходе мейоза происходит исключительно бивалентное образование [21]. Дикие тетраплоидные предки одомашненного *P. miliaceum* пока не идентифицированы.

Для химического состава просо, характерно следующее: углеводы 69,8%, белки 6-16% (N×6,25), жиры 4,1-9,0%, минеральные вещества 1,5-4,2% [22]. Компактная метелка ее свисает наверху, как старая метла, отсюда и название метельчатая кукуруза. Его круглые семена шириной около 1/8 дюйма покрыты гладкой блестящей оболочкой. Семена могут быть кремового, желтого, оранжево-красного или коричневого цвета. Из зерна после шелушения получается питательная и вкусная каша для пресного или приготовленного хлеба. Это просо в исторические времена выращивалось в России, Китае, балканских странах и Северной Индии, а позже в большинстве регионов его заменили рисом и другими злаками.

Зерна проса по средниму химическому составу на 100 грамм навески состоит: углеводов - 54,6 г,воды - 13,5 г, белоки - 11,2 г, жиров - 3,9 г, пищевых волокон - 13,9 г, золы - 2 г [23-26]. Существуют различные методы обработки проса, включая получение шлифованного пшена (пшено-дранец) и дробленого пшена. В определенных регионах, например, в Республике Тыва и других, применяется специфический метод обработки, включающий варку, прожарку и обдирку проса в горячем виде. Этот процесс придает пшену сладковатый вкус, известный как «тара», который популярен среди детей. Семена проса также используется в ограниченных количествах для солодового производства в пивовареннойиспиртовой промышленности. Продукты перероботки также подходят для кормления домашней птицы, а в размолотом виде - корма свиней. Данный продукт также находит применение в комбикормовой промышленности [27, 28].

По работам Р.Дюкина[29] было видно, что просо является культурным растением, богатым энергией в сухом веществе, что делает его ценным компонентом для создания комбикормов. Солома проса обладает высокой калорийностью и хорошо переваривается различными животными. В зерновке проса присутствуют уникальные биохимические итехнологические свойства. Так, химический состав зерна проса достаточно разнообразен: по содержанию белка оно составляет около 12%, жирности варьируется от 2,8% до 5,7%, а углеводов, в большинсве случаев, представлены крахмалом (от 74% - 82%). Содержание сахаровварьруются до 0,16%, а клетчатки - 1,05%. Помимо этого, зерно проса богато микро- и макроэлементами. Поскольку оно содержит высокоеколичество крахмала, оно находит применение в винодельческой и пивоваренной промышленности.

Продукты переработки зерен проса также используется для производства муки, которая может применяться как самостоятельно, так и в смеси с ржаной мукой для улучшения пищевых качеств мучных изделий. Пшенная крупа, получаемая из проса, обладает высокими питательными качествами и может быть использована для изготовления муки[28, 30-32].

Установлено, что белок проса содержит более 10 аминокислот, включая важные для организма, такие как треонин, лейцин с изолейциномиметионин с валином, и их содержание превышает содержание в белке пшеницы. Содержание неподлежащих в замене аминокислот в белке проса составляет: триптофана - 2,2%, метионина - 2,3%, лизина - 1,6%, треонина - 2,8%, изолейцина - 3,4%, валина - 5,2%, лейцина - 11,4%, фенилаланина - 5,2%, аргинина - 3,2%, гистидина - 1,8%. Качество пшена,согласно методике,оценивается 5-бальной шкалой, по характеристике крупы: структуре и цвете сваренной крупы,цвете, консистенции ядра, а также показателю коэффициента развариваемости. По многочисленным данным по исследованиею химичеких показателей зернабыло показано, что в зависимости от сорта и условий выращивания, зерно проса содержит в среднем около 16,3% сырого протеина и 1% общего азота (небелкового) [33-35].

Соловьев А.В. полагал, что,основываясь на проведенных исследованиях, пшено является щелочным и легкоусваиваемым продуктом, способным бытьполноценным пребиотиком. Европейские ученые недавно обнаружили, что просо имеет уникальную способность полностью удалить антибиотики из организма, восстановить микрофлору и укрепить иммунитет. На основании этого рекомендуется включать в рацион пшенную кашу ежедневно и продолжать употреблять ее после завершения курса антибиотиков на протяжении еще 7 суток[36, 37].

ффективной стратегией в условиях дефицита воды является выбор и выращивание сельскохозяйственных культур, адаптированных к засухе. Такие культуры обычно имеют механизмы, позволяющие им более эффективно использовать воду и выдерживать стрессовые условия. Например, они могут обладать глубокими корнями, что помогает добывать влагу из более глубоких слоев почвы, или же имеют специализированные физиологические процессы, такие как CAM-фотосинтез, позволяющие минимизировать потери воды [2, 38]. Просо является перспективной культурой для маргинальных земель. Оно обладает высокой устойчивостью к засухе и неблагоприятным климатическим условиям, что делает его идеальным для регионов с ограниченными ресурсами. Кроме того, просо требует меньше удобрений и пестицидов по сравнению с другими зерновыми культурами, что способствует более устойчивому сельскому хозяйству.Кроме того, просо обладает высокой питательной ценностью: оно богато белками, витаминами и минералами. Это делает его важным компонентом продовольственной безопасности, особенно в странах с низким уровнем продовольственной обеспеченности. Использование проса может помочь разнообразить рацион питания и улучшить здоровье населения, а также повысить устойчивость к климатическим изменениям[4]. Просо отлично подходит для малоплодородных участков, поскольку оно адаптировано к трудным условиям. Его можно выращивать с минимальными затратами, что делает его привлекательным выбором для фермеров, особенно в развивающихся регионах. Поскольку традиционные зерновые культуры, такие как пшеница или кукуруза, могут не давать стабильных урожаев в условиях засухи или плохой почвы, просо становится отличной альтернативой. Оно быстро растет и может давать урожай даже в условиях недостатка влаги, что особенно важно для обеспечения продовольственной безопасности в условиях климатических изменений. Кроме того, просо можно использовать не только в пищу, но и для кормления скота, что расширяет его применение и способствует устойчивости сельскохозяйственных систем [5]. Просо может быть продуктивным даже в суровых условиях выращивания. В условиях засухи и отсутствия ирригации просо продолжает быть жизнеспособной культурой, способной предотвращать нехватку продовольствия и голод[4].

Его значимость среди растениеводов обусловлена коротким периодом вегетации, и некоторые сорта дают зерно всего через 60 дней после посева. Низкая потребность в воде делает его более эффективным, чем многие другие зерновые культуры, в использовании почвенной влаги[39]. Просо требует среднегодового количества осадков менее 600 мм. Для нормального роста ему необходима среднесуточная температура выше 17°С в течение вегетационного периода [40]. Этот вид демонстрирует значительную морфологическую изменчивость, но изменчивость изоферментов или микросателлитныхмолекулярных маркеров низкая [41], что, вероятно, отражает двойное узкое место - как полиплоидизации, так и доместикации. Просо является растением C4 и может эффективно связывать углерод в условиях засухи, высоких температур и ограниченного количества азота, и углекислого газа.

Исследование и комплексная оценка агротехнических и качественных признаков, богатства и разнообразия генов, а также корреляций между этими признаками способствуют не только сохранению и дальнейшему исследованию высококачественной гермоплазмы, но и также важны для его генетического улучшения. В процессе сбора керна и оценки его разнообразия Ху и др. (2012) оценили зародышевую плазму ядра риса с помощью индекса генетического разнообразия, стандартного отклонения, распределения частот и коэффициента вариации [42]. Лю и др. (2006) проанализировали разнообразие ресурсов маша (*Vignaradiata*), рассчитав частоту распространения, качественных признаков, а также максимальных, минимальных и средних значений, стандартного отклонения и коэффициента вариации количественных признаков [43]. Ху и др. (2008) также использовали аналогичный метод для проса [44].

В последние годы изучение коллекций проса постепенно возросло, при этом исследования в основном были сосредоточены на фенотипических признаках [45, 46], качественных признаках [47, 48], устойчивость к засухе и соли [49-52], а также устойчивость к полеганию, болезням [53, 54].

Вен и др. (2014) и Ван и др. (2017) измерили содержание белка, жира и лизина в зерне и другие характеристики[47, 48]. После этого было просмотрено 342 экземпляра высокого качества. Ван (2015) и Хэ (2016) выявили устойчивость к засухе более чем 500 ресурсов и отобрали 11 экземпляров, устойчивых к засухе I степени [49, 52]. Ван и др. (2007) и Лю и др. (2015) выявили солеустойчивость более чем 6 000 ресурсов проса и проверили 22 солеустойчивые и 3 устойчивые к фосфитной соли копии [50, 51]. Ван Л и др. (2016) отсеяли 71 ресурс, устойчивый к полеганию, из 1192 сортов. Ван и др. (2008) выявили устойчивость к головне более 6000 копий путем исследования заболеваемости и определения активности защитных ферментов [53, 54].

Просо действительно имеет богатую историю культивирования. Это мелкосемянное злаковое растение, как вы правильно отметили, отличается прямостоячим стеблем и широкими листьями. Соцветия в виде метелки являются характерной чертой этого растения[55]. Археологические находки подтверждают, что просо начали культивировать более 10 000 лет назад, и его родина считается Азия, особенно Китай. С тех пор просо распространилось по всему миру и стало важной частью рациона многих народов[56].

Просо играет ключевую роль в продовольственной безопасности и питании миллионов людей по всему миру. Существует множество видов проса, и среди них наиболее известными являются сорго, паникум и другие. Просо занимает шестое место среди зерновых культур и является основным источником энергии и белка для более чем трети населения планеты. В странах Азии и Африки его производство особенно высоко, поскольку он адаптирован к условиям засухи и неплодородных почв.В таких регионах, как Индия, Непал и страны Африки, просо часто является базовым продуктом питания, обеспечивая не только калории, но и важные питательные вещества. Для жителей жарких и засушливых районов, где другие культуры могут не выживать, просо становится жизненно важным ресурсом.Кроме того, его можно легко хранить и перерабатывать, что делает просо удобным для использования в различных кулинарных традициях. Таким образом, оно остается важным элементом устойчивого сельского хозяйства и продовольственной безопасности в глобальном масштабе, где его выращивание проводится ежегодно на примерно полумиллионе акров земли [4, 55].

Чаще всего его выращивают как позднюю яровую культуру. Растение низкорослое, около 30–100 см высотой, с небольшим количеством побегов [58]. Корневая система мочковатая, корни могут приникать в почву на глубину и ширину до 1 м. У основных корней хорошо развиты водопроводящие ткани, которые имеют большое значение при засухе и сухих жарких ветрах. Листья состоят и пластинки, и влагалища, охватывающего междоузлие и прикрепленного основанием к узлу стебля. Листья имеют очередное расположение. Стебель неветвистый или ветвистый, внутри полый, имеющий от 4 до междоузлий в зависимости от условий роста и мощности растения. Соцветие проса – метелка длиной от 7-10 до 30-40 см. Плод – зерновка, покрытая пленками, без продольной бороздки, по форме шаровидная, овальная или удлиненная. Окраска цветочных пленок плода служит одним из основных показателей при выделении разновидностей проса [59, 60].

Таким образом, имеется много трудов и публикаций о народно-хозяйственном значении, морфо-биологических особенностях проса, что подтверждает важность проведения дальнейших исследований о хозяйственно-ценных, биохимических и физиологических признаках с целью расширения генетического разнообразия и создании новых высокопродуктивных, качественных и конкурентоспособных сортов и образцов.Так более высокая засухоустойчивость проса, чем других культур, выдвигает его на первое место для возделывания в условиях изменения климата и требует расширения площади посевов под данной культурой.

**1.2 История открытия мутагенеза и его роль в растениеводстве**

Селекция растений началась еще за 10 тысяч лет до н.э. во время неолитической революции, когда племена охотников-собирателей начали переход к оседлому и аграрному обществу [61]. Первые опыты по селекции растений, скорее всего, сводились к отбору наиболее жизнеспособных экземпляров из каждого урожая для последующего посева [62].

Современная селекция растений опирается не только на естественные мутации, но и на методы экспериментального мутагенеза. Как указывал В.В. Моргун, мутагенез может активировать скрытые мутации, что открывает новые возможности для селекционной работы. Экспериментальный мутагенез позволяет вводить изменения в геном растений с целью получения новых признаков, таких как устойчивость к болезням, засухе или улучшенные питательные характеристики. Это особенно важно для культур, таких как просо, которые выращиваются в сложных условиях и требуют адаптации к изменяющимся климатическим условиям.С применением мутагенеза селекционеры могут ускорить процесс получения новых сортов, что позволяет быстрее реагировать на вызовы, стоящие перед сельским хозяйством, такие как изменение климата или потребности в увеличении продовольственного производства. Таким образом, методы экспериментального мутагенеза становятся важным инструментом в арсенале современных агрономов и генетиков[63].

Существует 125-летняя история исследований индуцированных мутаций. После открытия рентгеновских лучей Рентгеном в 1895 году, радиоактивности Беккереля в 1896 году и радиоактивных элементов Марией и Пьером Кюри в 1898 г. было установлено, что источниками излучения являются рентгеновские, альфа, бета и гамма-лучи. После этих открытий Де Фриз в 1904 году предположил, что их можно применять для искусственного индуцирования мутаций. В период с 1897 по 1908 годы были проведены первые исследования по изучению действия радиации на растения. В 1901 и 1911 годах было доказано, что мутации могут быть вызваны химическими веществами. Сто лет назад, в 1900 году, Хуго Де-Фриз в Нидерландах, Карл Франц Йозеф Корренс в Германии и Эрих фон Чермак в Австрии одновременно и независимо заново открыли и подтвердили законы наследования Менделя. Де-Фриз (1901, 1903), которому приписывают открытие мутаций, описывал их как внезапно возникающие изменения в организмах, которые передавались по наследству и оказывали сравнительно большое влияние на фенотип. Он ввел термин «мутация» и представил целостную концепцию возникновения внезапных, шоковых изменений (скачков) существующих признаков, которые приводят к возникновению новых видов и вариаций [65]. В своих экспериментах с примулой вечерней (*Oenotherala marckiana*) Де-Фриз наблюдал множество аберрантных типов, которые он назвал мутантами. Идея мутации, которую Де-Фриз использовал для обозначения внезапных генетических изменений как основной причины эволюции, быстро утвердилась. Ранние менделисты, в том числе Де-Фриз, отвергали непрерывную изменчивость как возможный источник эволюции. В последующие годы возникновение спонтанных мутаций было общепринятым, но было показано, что большинство мутаций не вызывают значительных фенотипических эффектов. Напротив, крупные мутации или резкие прерывистые скачки, которые, по предположению Де Фриза, ответственны за возникновение новых видов, оказались довольно редкими. Мутации играют важную роль в эволюции, поскольку изменения в генетическом материале, унаследованном организмами, приводят к фенотипическим инновациям [66].

В 1910 году Томас Хант Морган провел свои первые эксперименты по мутации с *Drosophila melanogaster*[67].

Важные вехи в истории мутагенеза. Н.К. Кольцов действительно стал одним из первых ученых, которые использовали рентгеновские лучи для получения мутаций, хотя его исследования не получили должного развития из-за внешних обстоятельств.Работы Г.А. Надсона и Г.С. Филиппова в 1925 году также сыграли ключевую роль в становлении мутационной селекции[69]. Они первыми описали, как радиация, в частности от радия, может использоваться для создания мутаций у дрожжей. Это стало основой для дальнейших исследований и применения мутагенеза в селекции различных организмов, включая растения.Развитие методов мутагенеза открыло новые горизонты в генетике и селекции, позволяя получать сорта с желаемыми характеристиками, такими как устойчивость к заболеваниям, улучшенные агрономические свойства и другие ценные признаки. Эти достижения положили начало современным подходам в селекции и биотехнологии.

Этот исследовательский прорыв открыл новые пути для изучения и модификации генетического материала, что стало ключевым элементом в развитии современной генетики и селекции [69].В 1928 году Л.Д.Стадлерполучил мутанты кукурузы и ячменя и в 1930 году мутантные формы пшеницы под воздействием рентгеновских лучей [70, 71].

В начале 1930-х годов работы Л.Н. Делоне и А.А. Сапегина стали важным этапом в развитии мутационной селекции в СССР. Их исследования продемонстрировали, что ионизирующее излучение, в частности, может эффективно использоваться для индукции мутаций в зерновых культурах, таких как мягкая и твердая пшеница.Эти эксперименты подтвердили, что искусственно индуцированные мутанты могут служить ценным исходным материалом для селекции, предоставляя новые генетические вариации с желаемыми характеристиками. В результате их работы возникли новые сорта, обладающие повышенной устойчивостью к заболеваниям, улучшенной продуктивностью и другими агрономическими преимуществами.Это открытие положило начало активному использованию методов мутагенеза в сельском хозяйстве, что в дальнейшем стало основой для разработки современных сортов, адаптированных к различным условиям выращивания и потребностям рынка.Этот прорыв в генетике и селекции зерновых открыл новые перспективы для улучшения сортов и повышения урожайности [72].

В 1927 году Мюллер точно доказал мутагенное действие рентгеновских лучей на плодовую муху (*Drosophila melanogaster*) [71, 73]. Этими первоначальными открытиями, за которые Мюллер был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине в 1946 году, была заложена основа для многолетней успешной селекции мутаций. С тех пор радиационно-индуцированные мутанты были созданы и широко изучены для анализа функции генов, создания новых признаков, имеющих сельскохозяйственное значение, и изучения механизмов репарации ДНК [74]. Эти открытия послужили созданию программ улучшения сельскохозяйственных культур посредством индуцированных мутаций около семи десятилетий назад и привели к практическому выделению некоторых хозяйственно полезных мутантов пшеницы [75-79]. Примечательно, что ранний полезный индуцированный мутант табака нашел свое применение в производстве гибрида F1, где новый мутант, *chlorina*, придал некоторые особые качества продаваемому листу. После Tollenaar усовершенствовал первый коммерческий сорт табака под названием «Хлорин», и этот сорт был выпущен в Индонезии [80]. Позднее Фрейслебен и Лейн (1942) [81] сообщили о индукции у ячменя устойчивости к милдью под действием рентгеновского облучения.Исследования В.В. Дидуся в 1935-1937 годах стали важным вкладом в генетику и селекцию растений. Применение рентгеновских лучей для мутационной селекции открыло новые возможности в получении новых сортов ячменя. Получение до 8% мутантных семян, среди которых половина имела хлорофилл-дефицитные мутации, демонстрирует, насколько эффективным может быть использование радиации для создания генетического разнообразия. Эти работы стали основой для дальнейших исследований в области мутационной селекции и привели к улучшению сельскохозяйственных культур[82].

Главным стимулом для большей части более поздних работ по мутационной селекции стала классическая статья Густафссона (1947) [83], в которой было показано, что очень большое количество мутаций ячменя, особенно в отношении свойств хлорофилла и жесткости соломы, реагирует по-разному. путей у разных генотипов и в разных внешних средах. Обработка двухрядного ячменя рентгеновскими лучами, проведенная Нильссоном-Эле (1948) [84] в Швеции, привела к образованию мутантов с характеристиками плотных початков и очень жесткой соломы, которые могли выдерживать высокие дозы удобрений и давать высокий урожай. Шведская программа охватывала несколько видов сельскохозяйственных культур и предоставила много информации о мутационной селекции [85].

Ауэрбах (1941) [86] первым сообщил, что иприт, как известный химический мутаген, действительно вызывает мутации у дрозофилы, и его действие похоже на мутагенный эффект рентгеновских лучей на другие организмы, такие как растения. Исследования Дж. Робсона, выявившего сходство между ожогами, вызванными ипритом и рентгеновским облучением, подчеркивают общий механизм повреждения клеток.

Оба агента вызывают изменения в ДНК, что может приводить к мутациям и, в некоторых случаях, к канцерогенезу. Ожоги, возникающие при воздействии иприта, аналогичны повреждениям, которые наблюдаются при радиационном облучении, что указывает на важность изучения этих мутагенов для понимания их воздействия на организмы и возможные последствия для здоровья [87].

В 1942 году появился первый мутант, устойчивый к индуцированным болезням (устойчивость ячменя к плесени), а в 1944 году был придуман термин «мутационная селекция». Первое сообщение о мутации, вызванной химическим путем, было в 1944 году, а первое сообщение об индукции мутации гамма-лучами было в 1949 году. В 1954 году был получен первый мутантный сорт тюльпана Фарадея, размножаемого вегетативно [88].

Впервые применение химического мутагенеза в селекции растений в СССР предложил И.А. Рапопорт. В 40-е года 20 века Рапопорт изучил действие формалина как мутагена (12,2 % индуцированных мутаций) и этиленимина (в 5-6 раз большая частота мутаций, чем от гамма облучений), за что был номинирован на Нобелевскую премию [89]. Рапопорт [90] интенсивно развивал исследования, связанные с поиском новых химических мутагенов и применением их в селекции сортов и гибридов культурных растений. Высокая эффективность метода подтверждена широкомасштабными испытаниями и полученными результатами [63, 91-93].

Эксперименты, проводимые под руководством И.А. Рапопорта, сыграли важную роль в развитии селекции сельскохозяйственных культур в Советском Союзе. Использование химических мутагенов позволяло создавать новые генетические вариации, что значительно расширяло возможности для селекции и улучшения сортов. Эти работы способствовали повышению устойчивости растений к болезням, улучшению их урожайности и адаптивных свойств.Сотрудничество с научно-исследовательскими учреждениями по всей стране также укрепило обмен опытом и знаниями, что дало возможность реализовать более комплексный подход к решению задач сельскохозяйственного производства. Такие исследования и инновации в области генетики оставили заметный след в агрономии и обеспечили развитие научной базы для селекции, что способствовало распространению знаний о мутационной селекции и расширению возможностей для селекции в различных агроклиматических условиях. Результаты этих исследований стали основой для дальнейшего развития агрономической науки и практики[94].

В начале 1960-х годов И.А. Рапопорт сделал важные открытия в области мутагенеза, изучая N-нитрозо-N-метилмочевину и N-нитрозо-N-этилмочевину. Эти вещества продемонстрировали исключительно высокую мутагенную активность, что и стало основанием для их классификации как "супермутагены". Их влияние на ДНК привело к значительному числу мутаций, что сделало их важными объектами для исследований в области генетики и токсикологии. Эти открытия также поспособствовали более глубокому пониманию механизмов, лежащих в основе мутагенеза, и их роли в развитии рака [95].

В.П. Никифоров в 1965 году сделал значительный вклад в изучение химических мутагенов, систематизировав их на основе различных механизмов действи, выделив пять групп:ингибиторы предшественников нуклеиновых кислот, аналоги азотистых оснований, алкилирующие соединения, восстановители и окислители, свободные радикалы, акридиновые красители [96].

Широко используются различные мутагенные факторы, включая рентгеновское и гамма-излучение, альфа- и бета-частицы, нейтроны, химические вещества (например, колхицин, нитрозометилмочевина, азид натрия и другие), ультрафиолетовое и лазерное излучение [97].

Индуцированный мутагенез действительно успешно используется для улучшения таких основных сельскохозяйственных культур, как пшеница, рис, ячмень, хлопок, арахис и другие. Этот метод позволяет селекционерам создавать новые сорта с желательными характеристиками. Этот метод позволяет создавать новые сорта с желаемыми свойствами, такими как высокая урожайность, устойчивость к болезням и стрессовым условиям, улучшенное качество продукции и другие характеристики, способствующие повышению производительности и улучшению сельскохозяйственного производства [98].

Несколько стран взялись за улучшение сельскохозяйственных культур за счет использования мутационного метода в своих классических селекционных программах, а также с помощью молекулярных подходов. В 1950–1960 гг. лишь немногие страны, такие как Соединенные Штаты Америки и Япония, начали использовать мутационную селекцию для улучшения сельскохозяйственных культур с помощью мутационных методов селекции, особенно после создания Международного агентства по атомной энергии (МАГАТЭ), которое начало координировать программы по использованию метода мутационной селекции на большом количестве сельскохозяйственных культур в ряде стран мира. В 1964 году было создано Объединенное подразделение ФАО/МАГАТЭ с целью использования ядерных технологий для обеспечения продовольственной безопасности, включая индукцию мутаций и скрининг мутаций для селекции растений. В 1966 году появился первый химически индуцированный мутантный сорт: ячменя Лютер.

До 1995 года Acquaah [99] сообщили о 77 сортах, которые были выведены путем мутагенеза. В 1995 году количество коммерчески выпущенных сортов увеличилось до 484. С тех пор это число резко возросло, и на разных континентах постоянно регистрируются новые мутантные разновидности.

В 1993 году Объединенная ФАО/МАГАТЭ создала базу данных по мутантным сортам [100], в настоящее время в ней насчитывается более 3500 мутантных сортов, принадлежащих к >240 видам растений, включая зерновые, бобовые, масличные культуры, овощи, фрукты, волокна и декоративные растения, которые были выведены и выпущены к 2022 году, свидетельствуют об успешном использовании мутационного метода в селекции растений [101].

Авторский коллектив под руководством Н.С. Эйгеса получил сорта озимой пшеницы с высокой адаптивной способностью путем отдаленной гибридизации и химического мутагенеза [102]. Л.А. Кротова и ее коллеги провели важные исследования, посвященные влиянию химических мутагенов на всхожесть семян, сохранность и продуктивность растений первого поколения (М1)в зависимости от типа мутагена, его концентрации, времени экспозиции, а также видовой принадлежности и генотипа исследуемых растений [103-106].

Мутагенез – это процесс, при котором в генетической информации организма могут возникнуть наследственные изменения, не вызванные генетической сегрегацией или рекомбинацией, а индуцированные химическими, физическими или биологическими агентами [80, 107, 108].

В мутационной селекции используются три типа мутагенеза. Это индуцированный мутагенез, при котором мутации возникают в результате облучения (гамма-лучи, рентгеновские лучи, ионный пучок и др.) или обработки химическими мутагенами; сайт-направленный мутагенез, который представляет собой процесс создания мутации в определенном сайте молекулы ДНК; и инсерционный мутагенез, который обусловлен вставками ДНК либо посредством генетической трансформации и вставки Т-ДНК, либо активации мобильных элементов [109, 110].

Использование мутагенеза в селекционных программах основано на выборе биологического материала, несущего интересующие мутантные гены, а также мутагенного агента и дозы мутагена, при которых достигается оптимальная частота мутаций с наименьшим возможным повреждением [111]. После применения мутагенеза очень важным в выявлении новых источников изменчивости является отбор из большой мутировавшей популяции отдельных форм, несущих нужные признаки, с последующей переоценкой выбранных форм в контролируемой среде, на больших выборках [110].

Однако во многих случаях множественные мутантные аллели являются источником генетического разнообразия для селекции сельскохозяйственных культур, а также для функционального анализа целевого гена. Ключевым моментом в селекции мутаций является процесс идентификации особей с целевой мутацией, который включает в себя два основных этапа: скрининг мутантов и подтверждение мутантов [112]. Скрининг мутантов – это процесс, включающий отбор особей из большой мутировавшей популяции, отвечающих определенным критериям отбора, например: раннее цветение, устойчивость к болезням по сравнению с родителем. Однако эти варианты часто рассматриваются как предполагаемые мутанты или ложные мутанты. Подтверждение мутанта, с другой стороны, представляет собой процесс повторной оценки предполагаемых мутантов в контролируемой и воспроизводимой среде с использованием больших выборок. Благодаря этому процессу многие предполагаемые мутанты оказываются ложными мутантами. В целом, мутации, которые важны для улучшения сельскохозяйственных культур, обычно затрагивают отдельные основания и могут влиять или не влиять на синтез белка [113].

Наследственные вариации сельскохозяйственных культур являются важным условием генетического улучшения сельскохозяйственных культур [114]. Различные части растений, такие как семена, меристема, каллус, пыльник, листья можно использовать в исследованиях индуцированных мутаций. Исследования мутаций начинаются с начальной фазы, называемой М0, на которой используются различные растительные материалы. Мутационная селекция состоит из трех основных этапов: (I) индукция мутаций, (II) скрининг перспективных кандидатов-мутантов и (III) тестирование мутантов (проверка мутантов) и официальный выпуск. Первый шаг – индукция мутаций – осуществляется путем воздействия на размножение растения физического, химического или биологического мутагена [115]. Второй этап, скрининг мутантов, представляет собой процесс отбора желаемых особей из большой популяции обработанных мутантов. Самооплодотворение культур поколения М1 дает потомство, известное как поколение М2. В этом процессе следует учитывать возможность выбора не «предполагаемых мутантов», что означает, что они не являются истинными мутантами, т. е. может существовать выбранный мутантный индивидуум, который проявляет устойчивость к заболеванию, но на самом деле индивидум не инфицирован вирусом. заболевание вследствие отсутствия возбудителя [116]. Каждое поколение мутации продолжается в форме М1, М2, М3,…Мn. Основной процесс программы мутационной селекции показан на рисунке 1 [117, 118].

Широкий спектр признаков, включая урожайность, продолжительность цветения и спелости, архитектуру растений, качество и устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, был улучшен у мутантных сортов, выведенных к настоящему времени. Согласно документам МАГАТЭ, большинство этих мутантных разновидностей были выведены и созданы как прямые мутанты, остальные были выпущены путем скрещивания с мутантами. Большинство мутантных разновидностей были выведены с использованием физических мутагенов, причем только гамма-лучи являются причиной развития большинства мутантных разновидностей. В связи с тем, что индуцированный мутагенез приобретает все большее значение в молекулярной биологии растений как инструмент идентификации и изоляции генов, изучения их структуры и функций, интерес к методам мутаций и мутационной селекции в последнее время возрос в ряде областей биологических исследований [119].

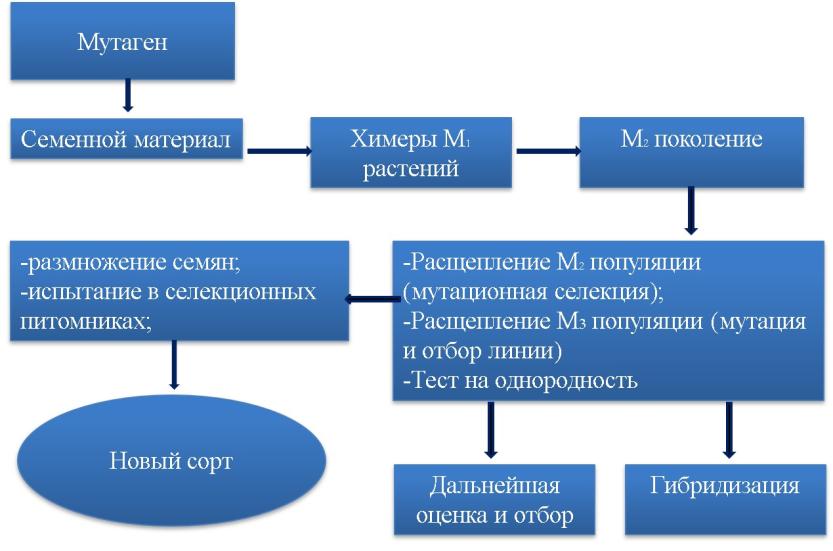


Рисунок 1 – Основные этапы метода мутационной селекции [112]

Широко масштабное применение мутационных методов селекции внесло существенный вклад в экономику национальных хозяйств ряда стран. В Казахстане метод мутагенеза широко не применяется на сельскохозяйственных культурах. В связи с этим, данные исследования имеют огромный потенциал для будущих селекционных программ по улучшению сельскохозяйственных культур. Для того, чтобы изменить наши сельскохозяйственные культуры, поместив важные признаки на генетические карты и снабдив их генами и атрибутами, которые могли бы решить огромные проблемы производства продовольствия, существует острая необходимость в использовании комбинации молекулярных и индуцированных мутационных методов.

**1.3 Применение химических мутагенов в селекции растений**

В этом разделе диссертации рассматриваются широко используемые химические мутагены растений, с особым вниманием к алкилирующим агентам, азиду натрия и колхицину. Существуют несколько основных классов химических мутагенов, которые широко применяются для практического улучшения сельскохозяйственных культур или для экспериментального мутагенеза растений.

Химический мутагенез в генетике переживает возрождение с начала 2000-х годов благодаря технологическим инновациям. Химически индуцированный мутагенез способствует созданию в короткие сроки ценного исходного материала с разнообразием морфологических и физиологических характеристик, биохимических показателей, увеличением частоты и расширением спектра исходных мутаций [120-122].

На различных сельскохозяйственных культурах изучена роль мутации в повышении генетической изменчивости и возможности отбора по таким ценным признакам, как урожайность, скороспелость, количество зерен на метелке и растении, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, качество зерна (таблица 1).

Таблица 1 – Мутантные популяции различных культурных видов растений

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Культура, вид, сорт | Год | Мутагены | Методскрининга | Источники |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*) | 2000 | ЭМС | дВЭЖХ, ПААГ, Li-Cor | McCallum и др. (2001)[123] |
| 2003 | ПААГ, Li-Cor | Tillидр. (2003)[124] |
| Рис  (*Oryza sativa*) | 2001 | ДЭБ, ГЛ, БН | Фенотип (стресс) | Leung и др. (2001)[125] |
| Ячмень  (*Hordeum vulgare*) | 2004 | ЭМС | дВЭЖХ | Caldwell и др. (2004)[126] |
| 2008 | АН | Li-Cor | Talamè и др. (2008)[127] |
| 2009 | ЭМС | Li-Cor | Gottwald и др. (2009)[128] |
| 2018 | ЭМС | - | Gaoидр. (2018)[129] |
| Кукуруза  (*Zea mays*) | 2004 | ЭМС | ПААГ, Li-Cor | Till и др. (2004)[130] |
| Твердаяпшеница  (*Triticum durum*) | 2005 | ЭМС | Li-Cor | Slade и др. (2005)[131] |
| 2016 | - | - | Azadидр. (2021) [132] |
| Мягкаяпшеница  (*Triticum aestivum*) | 2005 | ЭМС | Li-Cor | Slade и др.(2005)[131] |
| 2008 | ЭМС | ЭАГ | Dong и др. (2009)[133] |
| 2004 | ЭМС | Мутагенез, гибридизация и индивидуальныйотбор | Рутц и др. (2003)[134] |
| Рис  (*Oryza sativa*) | 2005 | ЭМС | Li-Cor | Till и др. (2007)[135] |
| 2007 | ЭМС,  Az-MNU |  |  |
| Сорт  Binadhan 14 | 2013 | - | - | Azadидр. (2021) [132] |
| Binadhan 19 | 2017 | - | - |
| Горох  (*Pisum sativum*) | 2007 | ЭМС | Li-Cor | Cooper и др. (2008)[136] |
| Соя  (*Glycine max*) | 2008 | ЭМС, НММ | Li-Cor |
| Сорго  (*Sorghum*) | 2008 | ЭМС | Li-Cor | Xin и др. (2008)[137] |
| 2016 | - | - | Humanидр. (2021) [138] |
| Люцерна  (*Medicagosativa*) | 2009 | ЭМС | КЭ, Li-Cor | LeSignor и др. (2009)[139] |

Продолжение таблицы 1

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Капуста  (*Brassicaoleracea*) | 2010 | ЭМС | КЭ | Stephenson (2010)[140] |
| Арахис  (*Arachishypogaea*) | 2011 | ЭМС | Li-Cor | Knoll и др. (2011)[141] |
| 2018 | - | - | Abdallaидр. (2021)[142] |
| Подсолнечник  (*Helianthusannuus L.*) | 2011 | ЭМС | Li-Cor | Sabetta и др. (2011)[143] |
| Фасоль  (*Phaseolusvulgaris*) | 2010 | АН | ЭАГ | Jeng и др. (2011) [144] |
| Помидор  (*Solanumlycopersicum*) | 2019 | - | - | Sarsuидр. (2021)[145] |
| Лук  (*Alliumcepa*) | 2018 | - | - | FAO/IAEA Mutant Variety Database (2022)[101] |
| Чечевица  (*Lensculinaris*) | 2017 | - | - |
| ЭМС (этилметансульфонат), Ан-МНМ (азиднатрияплюсметилнитрозомочевина), АН (азиднатрия), ДЭС (диэтилсульфат), ГЛ (обработкагамма-лучами), БН (обработкабыстрыминейтронами) и ДЭБ (диэпоксибутан), КЭ (капиллярныйэлектрофорез), ЭАГ (электрофорез в агарозномгеле) и ЭПААГ (электрофорез в полиакриламидномгеле), дВЭЖХ (денатурирующаявысокоэффективнаяжидкостнаяхроматография), Li-Cor (геномныйгель-анализатор) | | | | |

Мутанты часто имеют превосходную ценность, поскольку могут обладать новыми, ранее неизвестными полезными признаками [18-20]. Кроме того, с помощью мутагенеза можно преодолеть технические трудности, возникающие при скрещивании мелкоцветковых культур, например проса [146].

Многие люди пытались вызвать мутации химическими агентами в течение длительного периода, но не было четких или убедительных положительных результатов до 1939 года, когда Том и Штейнбергер обнаружили, что азотистая кислота эффективна в вызывании мутаций у *Aspergillus*. Работы [147,148]. убедительно свидетельствуют в пользу мутации, связанной с изменением уже существующего гена. Было использовано несколько маркеров, которые позволяют надежно оценивать мозаичных или дробных особей. Было обнаружено, что химические мутагены весьма эффективны в индукции истинных генных мутаций, и специфичность действия можно исследовать путем анализа их реакции с различными основаниями ДНК.

Химический мутагенез стал широко распространенным подходом, поскольку он не требует специального оборудования, а возникающие в результате мутации представляют собой в основном SNP. Некоторые мутации могут вызывать новые свойства, которых раньше не было или которые были утрачены в результате длительного культивирования [109]. В качестве мутагенных агентов широко используются такие химические вещества, как колхицин, нитрозометилмочевина, азид натрия и многие другие. Эти соединения эффективно индуцируют мутации в геноме растений, что позволяет создавать новые сорта с желаемыми характеристиками[149].

Этилметансульфонат (ЭМС) в настоящее время является наиболее часто используемым химическим мутагеном, но свою эффективность также доказали метилнитрозомочевина, азид натрия, диэтилсульфат и диэпоксибутан [150]. Способы действия химического вещества могут влиять на вызванные мутации. Например, ЭМС избирательно алкилируетгуаниновые основания, что приводит в первую очередь к переходам GC в AT [151]. Таким образом, даже одно изменение в геномных кодирующих последовательностях изменит экспрессию гена, вызывая изменения в продуктах транскрипции и трансляции. Tillи другие и Greeneс соавторами создали две мутантные популяции риса, используя этилметансульфонат (ЭМС) и комбинацию азида натрия и метилнитрозомочевины (Ан-МНМ)[135, 152].

Многие авторы сообщали, что путем введения 0,3% EMS в цветки сорта Huayu 16 и последующей селекции удалось получить высокоурожайный сорт арахиса - Huayu 40. Кроме того, в работе Ван и др. (2010) также сообщалось, что содержание воды в листьях, содержание хлорофилла a и b у Huayu 40 было значительно выше, чем у Huayu 16 [153, 154]. Мутагенез с использованием ЭМС обеспечил значительно высокую частоту появления мутантов для внутривидовой дифференциации арахиса [155]. Увеличение урожайности семян и их составляющих вследствие индуцированных мутаций также наблюдалось у нута и вигны лучистой [156, 157]. У сортообразца «Золотой» улучшение проявилось в увеличении размера семяни стручков с растения. Крупносемянные мутантные селекционные линии были также обнаружены у сорта арахиса «Джорджия Браун» [158]. Ряд исследователей [159]. сообщили о роли химических мутагенов в повышении генетической изменчивости, поскольку она является фундаментальной характеристикой успешных программ селекции вегетативным и половым путями [160].

В ряде работ с различными химическими мутагенами у растений риса (*Oryzasativa*L.) под воздействием 2,5 mM концентрации метилжасмоната[161], при концентрации 2 мМ салициловой кислоты [162], при действии ультрафиолетового излучения [163]; у фасоли при 0,5 Mm концентрации гибберелловой кислоты GA3 [164]; у растений боб садовый (*Viciafaba*L.) при 2% of CaCl2 [165], 10µM абсцизовая кислота *(*АБК) [166] отмечено повышение хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов.

В исследовании Кима и др. [167] в рисе были созданы изогенные мутантные линии, устойчивые к 5-метилтриптофану (5МТ). В аналогичном исследовании на рисе также были созданы мутанты, устойчивые к 5-метилтриптофану (5МТ). При этом количество белка и девяти свободных незаменимых аминокислот значительно увеличилось по сравнению с исходным сортом [168]. В другом исследовании на рисе с применением мутагенеза invitro и гамма-облучения был получен новый мутантный генотип с высоким содержанием токоферола. Было обнаружено, что мутантные особи обладали более высокой жизнеспособностью семян по сравнению с контрольной группой, а также рост сеянцев был более быстрым на ранней фазе развития [169]. Обработка индуцированной мутации привела к повышению кислотности и засухоустойчивости чечевицы и риса [170-172]. Опять же, при исследовании риса путем индукции мутаций были получены солеустойчивые сорта [173]. Как видно из всех этих исследований, было применено множество использовании мутагенеза с целью улучшения характеристик растений и создания генетического разнообразия, и были достигнуты успешные результаты.

Мутагены имеют первостепенное значение для индукции мутаций растений, поэтому выбор подходящего мутагена имеет большое значение при селекции мутаций, поскольку разные мутагены обладают разными мутагенными свойствами [174, 175].

1.3.1 Применение азида натрия в селекции растений

Азид натрия является мощным мутагеном, который используется во всем мире для индуцирования генетических изменений в сельскохозяйственных растениях. Это соединение в процессе метаболизма растении нарушает нормальную деятельность клеток, влияя на внутриклеточный уровень кальция и впоследствии снижая уровень кальмодулина и выработку АТФ. Низкий уровень АТФ нарушает организацию веретенообразных волокон и движение хромосом во время митоза. Кроме того, азид натрия вмешивается в дыхательные процессы в клетках, ингибируя различные ферментативные активности, которые включают пероксидазу, каталазу, включая цитохромоксидазу, а также протонную помпу и ингибирование клеточного цикла [176].

Азид натрия, хорошо известный ингибитор дыхательных путей, каталазы и пероксидазы, как было показано, является мощным химическим мутагеном как для высших, так и для низших организмов [177]. Это распространенный бактерицид, пестицид и промышленный генератор азота, который известно, что обладает высокой мутагенностью для некоторых организмов [178, 179]. Мутагенность, создаваемая азидом натрия, опосредуется образованием органического метаболита азида, предположительно азидо аланина. Было обнаружено, что продукция этого метаболита зависит от фермента О-ацетилсеринсульфгидрилазы [180]. Азид натрия является мутагенным механизмом, используемым для улучшения экономических показателей риса, пшеницы, ячменя и сорго [181].

Исследования стручкового перца показали, что азид натрия полезен для создания изменчивости при низкой концентрации. Снижается процент всхожести, содержание хлорофилла, высота растений, длина корней, длина побегов при высокой концентрации. Однако при более высокой концентрации увеличивается содержание сахара и общее содержание белка [182, 183]. Синтез вторичных метаболитов был увеличен по сравнению с необработанными семенами *P. odontadeniu*s с более важным синтезом фенольных соединений [184]. Высокие ингибирующие эффекты вторичного метаболита в отношении роста важных с медицинской точки зрения паразитов позволяют предположить использование азида натрия в селекции растений для увеличения продукции вторичного метаболита, имеющего медицинское и фармацевтическое значение. В другой работе также сообщалось, что азид натрия снижает процент всхожести, длину корня и длину побегов; однако при низкой концентрации ситуация не отличалась от контроля [185]. Величина генотипической и фенотипической изменчивости, наследственности и генетической выгоды для различных полигенных признаков также уменьшалась с увеличением концентрации азида натрия. Однако признаки, определяющие урожайность, показали как положительный, так и отрицательный сдвиг в среднем, чем у контрольной группы.

Аналогичным образом, увеличение высоты сеянцев, количества листьев, высокой частоты парацитных устьиц, более высокого устьичного индекса и плотности на абаксиальной поверхности листа и больших устьиц у сеянцев, индуцированных азидом натрия у ятрофы [186].

Азид натрия (NaN3; SA) – неорганическое высокотоксичное соединение и единственный химический мутаген, помимо алкилирующих агентов, который часто применяется для улучшения сельскохозяйственных культур. Этот вещественный мутаген хорошо известен своим действием как ингибитор клеточных респираторных процессов в живых клетках [187]. Он оказался эффективным мутагеном для многих видов сельскохозяйственных культур, таких как ячмень, рис, соя и кукуруза, однако не подходит для других растений, таких как *Arabidopsis thaliana* [188].

Азид натрия является безопасным в обращении, недорогим, не канцерогенным и очень эффективным химическим мутагеном. Именно поэтому он широко используется для улучшения агрономических характеристик различных сельскохозяйственных растений, таких как рис, кукуруза, пшеница, ячмень, горох, овес, сахарный тростник, салат, подсолнечник, рапс, помидоры, соя, молотый, перец чили и многие другие.В клетках млекопитающих азид натрия был менее мутагенным продуктом, поскольку он не способен производить достаточное количество мутагенного продукта. Тем не менее, потенциал воздействия азида натрия возрастает среди населения в целом из-за его широкого и обширного использования в качестве консерванта и в качестве топлива в подушках безопасности автомобилей для обеспечения безопасности во время аварий, тем самым вызывая последствия для здоровья людей [176].

Мутагенный эффект азида натрия во многом зависит от pHобрабатывающего раствора. [177]. Мутаген следует использовать при низком pH (менее 4). Например, для мутагенеза ячменя его растворяют в фосфатном буфере с pH 3 [189].

Азид натрия, как и другие химические мутагенные вещества, вызывает у растений существенно более высокую частоту мутаций по сравнению с уровнем случайных мутаций, которые возникают в обычных условиях и довольно редки [135]. Перспективность использования азида натрия была показана не только в селекции растений, но и в фундаментальных исследованиях таких важных сельскохозяйственных растений (таблица 2), как кукуруза [190], рис[191], пшеница [192],нут [193], пажитник [194], подсолнечник [195], рапс [196], томаты [197]идругие.

Таблица 2 –Использование азида натрия для индукции мутаций [198]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Культура | Рекомендованные методы обработки | Материал |
| Ячмень *(Hordeum vulgare)* | 1,5 mM в течении 3 часов (оценкацитотоксического и мутагенногодействияподвоздействием МНУ) | семена |
| 1 мМ в течение 3 часов (оценкацитотоксического и мутагенногодействия) | семена |
| 1 мМ в течение 2 часов (определениетиповмутаций) | семена |
| 0,1; 1 мМ в течение 6 часов (получениеандрогенныхдвойныхгаплоидныхмутантов) | пыльник |
| 0,1; 0,5; 1; 5 мМ в течение 20 часов (оценкавлиянияконцентрацийнамутагенныйэффект) | семена |
| рис  *(Oryza sativa)* | 1 мМ в течение 3 часов (определениечастотымутаций; в сочетании с 15 мМ MNU) | семена |
| 0,1; 1; 5; 10; 50 мМ (оценкацитотоксического и мутагенногодействия) | семена |
| Горох*(Pisum sativum)* | 2 мМ в течение 3 часов (развитиемутантовазотфиксации) | семена |
| Сахарный тростник*(Saccharum officinarum)* | 0,07; 0,15; 0,46; 0,77 мм в течение 10 мин. (оценкамутагенногодействия) | каллус листьев |
| сорго*(Sorghumbicolor)* | 0,5; 1; 2; 4 мМ в течение 4 часов (оценкамутагенногодействия) | семена |
| пажитник  *(Trigonella*  *foenumgraecum)* | 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5% в течение 6 часов (оценкаскоростицитогенетическихизменений) | семена |
| Мягкаяпшеница  *(Triticumaestivum)* | 5 мМ в течение 6 часов (развитиетермотолерантныхмутантов) | семена |
| кукуруза*(Zeamays)* | 0,1; 1; 10 мМ в течение 1 часа (индукциямутации) | незрелыйэмбрион |

Исходя из литературных источников, большое количество исследований показало, что азид натрия действует как промутаген, который превращается в промежуточный продукт, опосредующий различные клеточные процессы в организме хозяина и способствующий изменениям в ДНК растения-хозяина. Все эти метаболические нарушения в конечном итоге способствуют развитию аберраций в хромосомах, которые влияют на один или несколько желательных признаков в растениях и, в конечном счете, улучшают продуктивность, качественные признаки и защиту от биотических и абиотических стрессов.

1.3.2 Использование колхицина как мутагена для селекции растений

Важно отметить, что изменения, вызванные полиплоидизацией, имеют генетическую основу и, следовательно, важное значение для формо- и видообразования. Среди различных химических мутагенов, применяемых в культуре тканей и клеток, часто используется колхицин, в основном с целью полиплоидизации растений.

Колхицин извлекается из луковиц и семян безвременника или лугового шафрана (*Colchicumautumnale*) и обладает чрезвычайно ядовитыми алкалоидными свойствами. Он хорошо растворяется в холодной воде, хлороформе или спирте, но плохо растворяется в горячей воде [199].

Обработку колхицином меристем, содержащих пропагулы или ткани, можно проводить разными способами, используя концентрации в диапазоне от 0,005 до 1,5 процента [64]. Обычные методы удвоения хромосом включают замачивание семян в растворе колхицина, нанесение колхицина кистью на верхушки растущих побегов или культивирование (*invitro*) проростков в среде, содержащей колхицин [200]. Основное применение колхицина – обработка гаплоидов с целью получения удвоенных гаплоидов, которые являются полностью гомозиготными, то есть генетически чистыми. Практические методы получения удвоенных гаплоидов у широкого спектра видов растений доступны у Maluszynski и др. [201]. Удвоение набора хромосом может происходить спонтанно вовремя митоза или индуцироваться, например при обработке колхицином [202]. Так, обработку колхицином применяли для получения полиплоидных форм лука [203], нектарина [204], котовника [205], отдаленных гибридов тритикале и ячменя [206, 207].

Литературные данные показывают, что у различных видов растений применялся широкий диапазон концентраций колхицина. Например, самая низкая концентрация, 0,00001%, использовалась у кампионов (*Lychnicsenno*), в то время как чрезвычайно высокая концентрация, 1,5%, применялась у айвы Мауле (*Chaenomelesjaponica*) для успешного индуцирования полиплоидии[208]. Однако колхицин обычно обладает низким сродством к тубулинам в растительных клетках, поэтому для достижения эффективных результатов часто требуются более высокие концентрации [209].

Колхицин играет важную роль как мутаген, поскольку он препятствует образованию микротрубочек и увеличивает число хромосом. Этот химический соединитель обычно применяется для создания полиплоидных растений и действует как митотический яд, вызывая у растений множество мутагенных эффектов. Поскольку микротрубочки участвуют в процессе сегрегации хромосом, колхицин индуцирует полиплоидию, препятствуя сегрегации хромосом во время мейоза. Это приводит к тому, что половина гамет (половых клеток) содержит вдвое больше хромосом, чем обычно. Колхицин также способствует появлению мутаций у растений. Растения, подвергнутые мутации под воздействием колхицина, известны как колхи-мутанты [210]. Увеличение числа хромосом, вызванное колхицином, привело к увеличению количества листьев, ветвей, высоты растений и длины стебля у таких растений, как сальвия[211], лилии [212]и календула[213]. Полиплоидия, индуцированная этим процессом, также усилила насыщенность цвета лепестков у африканских бархатцев[214] и хризантем[215], а также увеличила площадь их листьев.

Многие исследования демонстрируют мутагенное действие колхицина на продуктивность растений [216]. Колхициниспользовалсядляиндукциинекоторыхполезныхмутацийумногихрастений, такихкакорхидея (*Dendrobiumnobile*) [217], целомудренноедерево (*Vitexagnuscastus*L) [218], календула (*Calendulaofficinalis*) [208], султанша [219], гладиолусы (*Gladiolusgrandiflorus*) [220] идр. [221]. Чтокасаетсяпроса, топросотетраплоидноелисохвостаполучали с использованиемколхицина, семенаобрабатывали 0,25% колхициномсвыдержкой 4 часадлясортажелтыйпесочный [222].

На основе представленного обзора литературных источников по применению колхицина подчеркнута его ценность для повышения биоразнообразия растений и генетических ресурсов для интенсификации растениеводства за счет его полиплоидизации.

**1.4 Молекулярные маркеры в селекции проса**

Мутационная селекция является важной частью генетического улучшения сельскохозяйственных культур и важным компонентом обеспечения глобальной продовольственной безопасности и питания. По оценкам, к 2050 году население мира составит 9–11 миллиардов человек, поэтому генетическое улучшение сельскохозяйственных культур будет играть важную роль в обеспечении продовольственной безопасности в будущем [223].

Молекулярные маркеры широко используются для определения генетического разнообразия различных видов растений и ускорения процессов внедрения желаемых признаков в другие коммерческие сорта [224]. Помимоагрономическихособенностейсельскохозяйственныхкультур, благодарямолекулярныммаркерамможноболеетщательнооценитьмутагенныеэффекты [225]. Исследования, использующие молекулярные маркеры для получения доступа к генетической изменчивости и филогенетическим отношениям в популяциях просо, все еще ограничены. Проведены ряд молекулярных исследовании полиморфизма ДНК зародышевой плазмыпо анализу генетического разнообразия генотиповс использованием молекулярных маркеров: RAPD, ISSR [226-234], AFLP [235] и SSR [227, 236, 237].

В исследовании, проведенном Колоси и Шаалом (1997), среди 398 образцов было идентифицировано 97 различных генотипов с использованием маркеров RAPD, 69 из которых были идентифицированы как дикие, 26 – как сорняки и дикие и 2 гибрида. Примерно у 10% генотипов полиморфизм ДНК позволил предположить гибридизацию между биотипами дикого и сельскохозяйственного просо [238].

Установлено, что такой молекулярный маркер, как ISSR, обладает высоким потенциалом в определении меж- и внутригеномного разнообразия [239, 240]. ПолиморфизмбылсущественновыявленприанализемаркеровISSRивисследованияхГиландеидр. мутантныхлинийпроса [241]. В опытах Келкар и др. для определения генетического разнообразия в 15 зародышевых плазмах было использовано 40 праймеров ISSR, которые показали генетическую вариаельность изученных сортов и позволило определить происхождение образцов [226, 242].

Метод полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP) [243] широкоиспользуетсядлягенетическихисследованиймногихорганизмов, включаякультурныерастенияиихдикихродственников, например, накартофеле [244],тополе [245] бобах [246], астрагале [247], мискантусе [248], накенийскомчае [249].

Согласно ислледованиямKaram и др. на 12 биотипах проса были обнаружено, что при использовании AFLP маркеров уровень полиморфной ДНК (11,5%) с использованием всего восьми пар праймеров был эффективен для группировки биотипов проса в два кластера, но недостаточен для отделения гибридных биотипов от диких и сельскохозяйственных культур. Тем не менее, полученные результаты указывают на то, что маркеры AFLP могут быть дешевым и важным инструментом для изучения генетических отношений в просо[235]. Анализ полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP) использовали для подтверждения мутантов с дефицитом сапонина, полученных из семян, обработанных азидом натрия.

Исследования на молекулярном уровне при применении маркеров SSR быстро расширяются. Ху и др. (2009) с использованием SSR маркеров проанализировали коллекцию проса в количестве 118 образцов и выявили на генетическом уровне 5 кластеров согласно эколого-географическому происхождению и выявили, что самый высокий уровень генетического разнообразия наблюдался на Лёссовом плато, которое, вероятно, является первоначальным местом происхождения *Panicummiliaceum* [250].

Upadhyaya и др. (2011) с целью создания основной коллекции проса из общих 833 образцов на основе географической информации и 20 качественных и количественных признаков составили основную коллекцию из 106 образцов, в результате сопоставления ряда молекулярных и корреляционных анализов было подтверждено SSR маркерами, что вариации во всей коллекции сохранились в основной коллекции [50], а также Раджпут и Сантра (2016) проанализировали генетическое разнообразие зародышевой плазмы проса в США и определели, что все сорта, выведенные в Соединенных Штатах, остались вместе в подкластере в группе 2. Многие из использованных в их исследованиях SSR-маркеры были с высокой разрешающей способностью, очень информативны и могут быть полезны для дальнейших исследований генетического разнообразия [227, 236].

ДикшитиСиварадж (2013) [51] проанализировали фенотипические и качественные характеристики основных коллекций, включая 7-8 агрономических признаков, таких как период роста и высота растений, которые в значительной степени способствуют изменчивости, а затем отобрали ряд высококачественных образцов для будущих селекционных программ [60].

ВработеМ. Заргараисоавт. (2023) о генетическом разнообразии коллекции просо на основе SSR-маркеров в Казахстане сообщалось, что генетическая структура, кластеризация UPGMA и анализ PCoA показали, что образцы, происходящие из Центральной Азии, имеют более высокое генетическое разнообразие. На основании главного компонентного анализа (РСА) образцы центральноазиатского происхождения были генетически ближе к североазиатской группе [251].

Сайт-направленный мутагенез является одним из последних инструментов молекулярного улучшения урожая, который предоставляет исследователям новые методы изменения последовательности ДНК в точном месте [252]. Мутации посредством SDM могут осуществляться *invitro* или *invivo*, что позволяет исследователям изменять ДНК растений в одном или нескольких сайтах[118, 253].

Современные улучшения в высокопроизводительных методах обнаружения мутаций, таких как секвенирование всего генома, значительно повысили эффективность выявления изменений в ДНК, которые приводят к появлению новых признаков [150, 254, 255]. Крометого, мутантныеиливариантныеаллелимогутбытьобнаруженыилегковнедреныспомощью полногеномныхассоциативныхисследований (GWAS) впопуляцияхиликоммерческихсортах[256].

Таким образом, молекулярные маркеры могут точно отражать генетическое разнообразие ресурсов просо, как того требует конструирование гермоплазмы, и могут использоваться в качестве основы для сортового различия, образцов и мутантных форм проса на основе родственных признаков и для дальнейших исследований проса с богатым генетическим разнообразием, хорошей репрезентативностью и значительной корреляцией между хозяйственно-ценными признаками.

**2 УСЛОВИЯ, ПРОГРАММА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**2.1 Климатическиеусловия Северного Казахстана**

Ключевым аспектом в проведении полевых исследований для выявления мутантных форм проса является адаптированность каждого образца к условиям данного посева.

Относительно почв, область исследований характеризуется наличием южного карбонатного чернозема. На севере аридной зоны, где преобладает богатая травянистая растительность, формируется типичный чернозем. В связи с недостатком влаги на юге, характеризующимся более сухим климатом, размеры и состав побегов становятся менее разнообразными, а проникновение корней снижается. Эти факторы привели к уменьшению скорости образования гумуса, что привело к постепенному превращению южных черноземов в буроземы.

В южно-черноземной зоне карбонатные черноземы составляют 75% общего объема почв. Многолетнее сельскохозяйственное использование в течение более 35 лет значительно изменяет морфологическую структуру этого типа почв. Эксплуатация почвы человеком нарушает естественный баланс, приводя к изменениям в почвенном режиме и характере обмена веществ и энергии. В результате механической обработки и формирования однородного пахотного слоя происходит реорганизация почвенной структуры. Поэтому карбонатные черноземы южной части по своим характеристикам отличаются от исходных нетронутых экосистем [257, 258].

Климат в этом регионе отличается резкой континентальностью и засушливостью, с ярко выраженной изменчивостью как во времени, так и в пространстве. Зимы здесь холодные, лета — знойные, а температура воздуха может значительно колебаться. Осадки распределены неравномерно в течение года, а ветровой режим имеет высокую активность. Этот климат обусловлен удаленностью региона от смягчающего влияния Средиземного моря и Тихого океана. Воздушные массы из различных источников, включая Сибирь, Арктику, Иран, Среднюю Азию и Атлантический океан, играют важную роль в формировании климата. Снежный покров обычно появляется в начале ноября и остается в течение многих месяцев. Самый холодный месяц — январь, средняя температура в этот период составляет -16,4 °C, а в некоторые годы может достигать -45°C. За зиму обычно выпадает около 100 мм снега [259].

Зимы в регионе действительно проходят как холодные, так и продолжительные, при этом обычно выпадает небольшое количество снега. Это приводит к тому, что почва может промерзать на глубину до 1,5 метра и более. Средняя температура в самый холодный месяц, январе, колеблется от -18 до -19 °C, а абсолютные минимумы могут достигать от -48 до -49 °C. Период, в течение которого на земле сохраняется постоянный снежный покров, обычно длится около 150-160 дней [258].

Весенние заморозки обычно заканчиваются в конце третьей декады мая, однако иногда могут повторяться в первой и второй декадах июня. Безморозный период обычно составляет от 110 до 115 дней, но в некоторые годы может варьироваться от 86 до 165 дней. Весенний период характеризуется быстрым повышением температуры воздуха: в третьей декаде марта она может достигать -5,6 °C, а в третьей декаде апреля - +6,6 °C. Снег обычно возвращается в первой половине апреля и может длиться 7-10 дней, но в некоторые годы этот период может затягиваться и до 18 дней [260].

Перед началом посева проса, перед возвращением снега, происходит сильное испарение почвенной влаги, а также осадков, которые составляют от 30 до 50 мм, и части влаги, накопленной за осенне-зимний период, в пределах от 25 до 40 мм, уходит.

Летний сезон характеризуется высокими температурами и низкой относительной влажностью. В июне средняя температура воздуха составляет 18°C, а в июле - 19°C. В отдельные дни температура воздуха может достигать 40°C, а в июле - 44°C. В жаркие дни почвенное покрытие нагревается до 60°C. В летние месяцы количество осадков варьируется от 60 до 265 мм, в среднем составляя 156 мм. Максимальное количество осадков приходится на июль, составляя 66 мм, с вариацией от 20 мм до 147 мм. Одной из особенностей климата является продолжительный сухой период с конца мая по июнь, во время которого в некоторые годы осадков недостаточно. Оптимальный температурный режим для теплого периода находится в пределах от 26 до 17°C, а для холодного периода - от 23 до 10°C [261].

Осенний период в этом регионе действительно играет важную роль для увлажнения почвы благодаря осадкам в сентябре-октябре. Низкие температуры и низкая испаряемость способствуют тому, что вода лучше удерживается в почве, что особенно важно для сельского хозяйства и растительности.

Среднегодовое количество осадков, колеблющееся между 250 и 400 мм, указывает на то, что распределение влаги может значительно варьироваться, что также влияет на экосистему региона. В такие сезоны важно учитывать, как эти колебания влияют на растительность и почвенные ресурсы. Устойчивое использование водных ресурсов и сельскохозяйственные практики могут помочь адаптироваться к этим изменениям. Большая часть осадков (60-80%) выпадает в июле, период теплого времени года. Однако из-за высоких температур, низкой относительной влажности воздуха и сильных ветров осадки быстро испаряются, что часто приводит к засухе и проблемам для растений. Кроме того, часто происходят резкие отклонения от среднего уровня влажности. Если дефицит испарения (более 50 мм) превышает, то считается, что наступила засуха. Учитывая местные условия, суммарные годовые осадки составляют 300 мм, а испаряемость - 765 мм, что свидетельствует о выраженном засушливом климате [258].

Понятно, что основной причиной засухи в регионе является приток сухих и холодных воздушных масс арктического и полярного происхождения. По мере того, как эти воздушные массы достигают территории Казахстана, они подвергаются сильному прогреванию и теряют влагу под воздействием антициклона, что характерно для ясной погоды. Это приводит к снижению относительной влажности воздуха до 20% и повышению температуры на 35-40°C. Кроме того, близость к пустынным районам Средней Азии и Южного Казахстана также усиливает засуху. Засуха в данном регионе проявляется в 40-50% случаев и характеризуется повторяющимся характером по годам.

На всходы проса наибольшее воздействие оказывают рецидивы серой гнили, которые совпадают с синей фазой урожая, а также ранние весенние засухи. Повреждение растений в период вегетации не только связано с сухостью почвы, но также с суховеем, которое увеличивает сухость воздуха. При наличии пыльных бурь возникает эрозия почвы.

Также на территории Северного Казахстана бывают неблагоприятные изменения погоды - годы, когда лето холодное и дождливое. В такие периоды растения накапливают вегетативную массу, но из-за недостатка тепла их развитие отстает, и они остаются недозрелыми, что делает их более подверженными озимой серой гнили.

При описании климата Северного Казахстана в 1978 году В. Кузьмин отмечал: "Здесь наблюдаются элементы климата западных областей (сухость середины лета), или полярного (короткий и холодный вегетационный период), или пустынного юга (сухая жаркая погода с весны до осени)". Такая разнообразная природа климата требует от сортов гибкости и способности эффективно использовать различные запасы влаги и тепла, которые значительно разнятся по годам и сезонам. Короткий вегетационный период, засуха и сильные ветры создают трудности для выращивания сельскохозяйственных культур. Ограниченное количество сортов, устойчивых к засухе, влияет на стабильность урожаев на протяжении многих лет [262].

**2.2 Погодные условия в годы проведения исследовании**

Полевые опыты были заложены на участке НПЦЗХ им. А. И. Бараева Шортандинского района Акмолинскойобласти.Почва опытного участка характеризуется средним содержанием гумуса в пахотном слое, который составляет от 2,6% до 3,1% и уменьшается по мере углубления. Количество накопленного азота в верхнем слое достигает 0,31%, а на более глубоких уровнях уменьшается до 0,06%. Концентрация фосфора в рыхлом горизонте составляет от 0,12% до 0,15%, а под ним снижается до 0,10-0,11%. Количество подвижной формы фосфора невелико - от 1,2 до 1,3 мг на 100 г почвы, и она обнаруживается на глубине. Ложнокарбонатные черноземы обладают высоким содержанием подвижной формы калия: от 62 до 65,7 мг на 100 г почвы, особенно в верхнем горизонте.Почва имеет среднее плодородие, но из-за засухи её потенциал не реализуется полностью. Физические и водно-физические свойства черноземов южных карбонатных благоприятны, с удельным весом, отклонение которого составляет около 2,4-2,6 г/см³ [258].

Характерной особенностью холодного периода данного региона является сильно развитая ветровая деятельность, так как территория кчастка и района лежит в зоне степей. Понятно, весна в регионе характеризуется быстрым ростом суточных амплитуд температуры воздуха. Заморозки весной обычно прекращаются во второй половине мая, однако существует риск их повторного возвращения в третьей декаде мая и первой декаде июня.

Посев мутантного питомника проса в условиях повышенной температуры и слабого увлажнения почвы, как видно из ваших данных, происходил в сложных климатических условиях. В мае, когда среднее количество осадков составило всего 10,5 мм, это на 21,9 мм ниже многолетнего среднего значения, что может негативно сказаться на всхожести и развитии растений.

Кроме того, температура воздуха, превышающая средние многолетние показатели на 3,6°С, создает дополнительный стресс для растений. Это сочетание высоких температур и недостатка влаги может привести к снижению урожайности, ухудшению качества семян и увеличению риска заболеваний.

Для адаптации к таким условиям можно рассмотреть использование более устойчивых сортов, оптимизацию полива и агрономические практики, направленные на сохранение влаги в почве. Это поможет минимизировать негативные последствия неблагоприятных климатических условий. (таблица 3).

Таблица 3 – Метеоусловия за период вегетации проса за 2021-2023 гг. в условиях ТОО «НПЦ ЗХ им. А.И. Бараева» (по данным метеостанции Шортанды)[263]

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Месяцы | 2021 г. | ± | 2022 г. | ± | 2023 г. | ± | Среднемного  летние, мм | |
| Атмосферныеосадки, мм | | | | | | | | |
| Май | 12,10 | -20,30 | 16,90 | -15,5 | 2,50 | -29,90 | | 32,40 |
| Июнь | 18,30 | -21,20 | 22,20 | -17,3 | 13,20 | -26,30 | | 39,50 |
| Июль | 31,90 | -25,10 | 52,90 | -4,10 | 10,60 | -46,40 | | 57,00 |
| Август | 37,80 | -2,00 | 25,20 | -14,6 | 12,70 | -27,10 | | 39,80 |
| Сентябрь | 40,50 | +15,5 | 8,00 | -17,0 | 33,20 | +8,20 | | 25,00 |
| Всегозавесьпериодвегетации, мм | 140,60 | - | 125,20 | - | 72,20 | - | | 193,70 |
| Среднесуточнаятемпературавоздуха, °С | | | | | | | | |
| Май | 17,20 | +4,80 | 15,70 | +3,2 | 15,30 | +2,80 | | 12,50 |
| Июнь | 18,40 | +0,10 | 20,20 | +1,9 | 20,00 | +1,70 | | 18,30 |
| Июль | 20,40 | +0,50 | 21,10 | +1,2 | 24,40 | +4,50 | | 19,90 |
| Август | 19,60 | +2,20 | 17,20 | -0,2 | 19,00 | +1,60 | | 17,40 |
| Сентябрь | 10,20 | -1,00 | 13,20 | +2,0 | 11,80 | +0,60 | | 11,20 |
| коэффициент ГТК | 0,70 | - | 0,9 | - | 0,2 | - | | - |
| примечание: ± - отклоненияотсреднемноголетних | | | | | | | | |

Осадки осеннего периода за 2021 год количество осадков составило 320 мм, что было на уровне средних многолетних. Метеорологические условия 2021 года характеризовалиьмалым количеством атмосферных осадков в период посев-всходы, что отрицательно повлияло на полевую всхожесть семян проса и на продолжительность вегетационного периода. В результате под воздействием метеорологических условий в начальные фазы роста и развития были задержаны на 10-14 дней.За весь вегетационный период коэффициент ГТК составил 0,7, что характеризует год как - засушливый. Малое количество осадков в мае усиливалась высоким температурным фоном, показатели выше среднемноголетних данных на +4,8°С. Майскую засушливость в 2021 году растения пережили за счёт весеннего запаса. Исключительно сухим был и июнь месяц, однако осадки и благоприятная температура воздуха на уровне со среднемноголетними в июле (31,9 мм; +20,4°С и августе (37,8 мм, +19,6°С) месяцах позволили растениям проса за счет их генотипического потенциала улучшить хозяйственно-ценные показатели. В остальные месяцы осадков выпало меньше многолетней нормы. Наибольшее количество осадков выпало в сентябре и превышало среднемноголетние на 15,5 мм, что повлияло на накопление запасов влаги для следующего поколения мутантных форм .

Осадки в сентябре-октябре 2021 года, составившие 37,2 мм, действительно обеспечили необходимое промачивание почвы на 20-30 см, что было важным для подготовки почвы к зимнему периоду. Однако запасы влаги в метровом слое почвы, составлявшие всего 30-50 мм, указывают на то, что в целом уровень увлажнения был недостаточным, особенно для успешной зимовки растений. Формирование снежного покрова при повышенном температурном фоне и наличии оттепелей также могло повлиять на состояние почвы. Промерзание на уровне до 80 см на третью декаду февраля свидетельствует о том, что условия зимовки были неблагоприятными, и это может вызвать риск повреждения корней растений и снизить их устойчивость к весенним заморозкам. Количество осадков зимнего периода (75,5 мм) в виде снега, близкое к среднемноголетним значениям, не должно было значительно повлиять на общую ситуацию, но важно учитывать, что такие колебания температуры и влажности могут существенно воздействовать на состояние агроэкосистемы. Для улучшения ситуации в будущем можно рассмотреть методы сохранения влаги и использование зимующих культур, которые лучше адаптированы к изменяющимся климатическим условиям. В апреле месяце наблюдалось резкое повышение температуры воздуха до +8,3 (±4,9), что привело к высушению посевного слоя почвы и незначительному увлажнению в мае месяце. Посев второго поколения мутантных форм проса проходил в условиях повышенной температуры и низкого увлажнения почвы. Всего в мае месяце выпало 16,9 мм осадков, что ниже средних многолетних значений на -15,5 мм.Отсутствие атмосферных осадков в период посев-всходы отрицательно повлияло на полевую всхожесть семян и позднее наступление фаз кущение-трубкование. Июль действительно оказался более благоприятным месяцем для роста и развития растений, что позволило им восстановиться после засухи в мае и июне. Осадки в этом месяце, совместно с средней температурой воздуха в 15,95 °С, на 1,25 °С выше, чем в 2021 году, способствовали получению оптимальной урожайности проса.

Коэффициент ГТК (гидротермический коэффициент) равный 0,9 подтверждает, что год был засушливым, что, в свою очередь, подчеркивает важность июльских осадков для обеспечения достаточного увлажнения почвы. В осенний период 2022 года с осадками всего 24,5 мм и сравнительно невысокими зимними осадками (63,9 мм снега) с отклонением от среднемноголетних значений на -12,6 мм можно ожидать недостатка влаги для растений в следующем вегетационном сезоне. Это может негативно сказаться на подготовке почвы к весне и на всхожести культур. Для управления такими изменениями важно учитывать необходимость дополнительных мер по сохранению влаги и адаптации агрономических практик, чтобы минимизировать влияние засушливых условий на будущие урожаи.однако осадки выпавшие в апреле месяце 64,1 мм позволили восполнить недостаток влаги, что позволило провести посев мутантов М3 во влажный слой почвы на глубину заделки семян несмотря на отсутствие осадков в мае месяце до -29,9 мм и повышением температуры воздуха на +2,8°Спо сравнению со среднемноголетними и такая картин наблюдалась в июне -26,3 мм и +1,7°С, в июле -46,4 мм и +4,5°С, что соответствовало по ГТК = 0,2 и характеризовал год как острозасушливый.

В целом, за все три года исследовании можно отметить, что наблюдалась тенденция на усиление засушливости в особенности в 2023 году, что можно связать с температурой воздуха выше средней многолетней на +2,2°С и неравномерным распределением атмосферных осадков в период вегетации.

**2.3 Объекты и материалы исследований**

Анализ и оценка сортов и сортообразца проса, индуцированными различными концентрациями и экспозициями химических мутагенов была нацелена на создание исходного материала с комплексом хозяйственно-ценных признаков на основании фенотипических и генотипических изменении. В ходе проведения исслдедований были заложены полевые и лабораторные опыты (Приложение Г).

На опытном участке ТОО «НПЦ ЗХ имени А.И. Бараева» (рисунок 2) были заложены полевые опыты по получению мутантных форм проса (*Panicummiliaceum*L.) с хозяйственно-ценными признаками в условиях сухостепной зоны Северного Казахстана приприменении индуцированного химического мутагенеза, а лабораторные анализы проводились на базе кафедры «Земледелие и растениеводство».



Рисунок 2 – Питомники ТОО «НПЦ ЗХ имени А.И. Бараева»

В качестве объектов исследований по химическому индуцированному мутагенезу были использованы сорта: Павлодарское 4 (Казахстан), Квартет (РФ) и образец PI 289324 (Венгрия).В предыдущих исследованиях с коллекцией проса хозяйственно-ценные признаки данных образцов в полевых условиях ТОО «НПЦ ЗХ имени А.И. Бараева» и ТОО «Актюбинская сельскохозяйственная опытная станция» превосходили стандарт сорт, в связи с чем, вышеуказанные генотипы были выбраны для индукции химического мутагенеза.

Описание исследуемых сортов и образца проса

Сорт Павлодарское 4 был включен в Государственный реестр в 2017 году. Его разработали авторы Бекенова Л.В., Ирмулатов Б.Р., Ерошенко Л.А., Мергалимов Д.Б., Кузнецова Н.А., Шалабаев Б.А. и Какимов Ж.С. Оригинатором сорта является ТОО «Павлодарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства».

Происхождение: сорт был получен в результате индивидуального отбора из гибридной комбинации Павлодарское 2 × Уральское тонкопленчатое × Оренбургское 42 × Саратовское 6.

Характеристики сорта:Среднеспелый.Метёлка сжатая.Зерновка округлая, красно-коричневого цвета.Средняя урожайность: 24,3 ц/га в Северо-Казахстанской области, 25,2 ц/га в Павлодарской области, 24,7 ц/га в Акмолинской области.Масса 1000 зёрен: 7,1-9,0 г.Содержание белка в зерне: 14%.

Плёнчатость: 22%.

Крупность: 1,9-1,8 мм.

Выравненность: 85%.

Выход крупы: 65-78%.

Цвет и вкус каши: 5 баллов.

Устойчивость:

К полеганию и засухе: 5 баллов.

К осыпанию: 4,5 баллов.

По данным заявителя, в естественных условиях не поражается пыльной головней.

Особенности: сорт относится к крупяному направлению, отличается высокой устойчивостью к полеганию и засухе. Во время испытаний не повреждался болезнями и вредителями, а также обладает хорошим вкусом каши. Рекомендуется для возделывания в Северо-Казахстанской, Павлодарской и Акмолинской областях.

Квартет. Год включения в реестр допущенных: 2001 г. Оригинатор: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур». Разновидность: кокцинеум. Этот сорт, созданный путем объединения линий-аналогов на основе сорта Благодатное (№№ 1950, 2007, 1965, 1963), обладает высокой резистентностью к расам головни благодаря использованию генов (Sph 1, Sph 2, Sph 3, Sph 4).

Характеристики сорта:Высота растений: от 70 до 130 см.Опушение первого листа всходов: среднее.Форма листа: поникающий, без антоциановой окраски.Длина и ширина предпоследнего листа: средние.

Метелка: развесистая, слабопоникающая, средней длины.

Колоски: без антоциановой окраски.

Зерно: округлое, красное, масса 1000 зерен варьируется от 6,5 до 8,5 граммов.

Урожайность:Средняя урожайность в Центрально-Черноземном регионе составила 23,6 ц/га, что превышает стандарт на 2,1 ц/га.Максимальная урожайность составила 67 ц/га в России и 71 ц/га в Республике Беларусь.

Сорт обладает высокой потенциальной продуктивностью.

Вегетационный период: среднеспелый, составляет 60-95 дней, аналогично стандартному сорту Благодатное.

Устойчивость:Устойчивость к полеганию, осыпанию и засухе на уровне стандарта.Сорт восприимчив к расам 1, 2 и 3 головни, но устойчив к расам 8, 6А и 12.

В конкурсном испытании 1999-2000 гг. в Орловской области сорт не был поражен головнями, даже при сильном поражении стандарта Благодатное (35-70%).

Особенности: является первым мультилинейным сортом проса в России с высокой резистентностью к головне.Высокопродуктивный, с высокими технологическими и кулинарными качествами.Окраска нешлифованного ядра — ярко-желтая.Включен в список ценных по качеству сортов [265].

Образец PI 289324 (Венгрия) предоставлен из Интродукционной станции Пегинал (всемирная коллекция Министерства сельского хозяйства США, (USDA), Университета штата Айова (США) [266].

Для индукции химического мутагенеза проса были подобраны одни из самых эффективных мутагенов: азид натрия (NaN3), ≥99,5% (T) и колхицин (C22H25NO6), ≥95% (HPLC) произведены фирмой SigmaAldrich, Germany.

**2.4 Методика исследований**

Методика обработки семян проса азидом натрия.

Обработка химическим мутагеном проводилась в лабораторных условиях согласно методике EssonA.E. и другие [267]. Перед началом эксперимента семена проса в количестве 250 штук сначала погружали в 12% раствор перекиси водорода на 15 минут для уничтожения на зерновках вредной микрофлоры, после этого их промывали два раза дистиллированной водой. Семена предварительно замачивали в дистиллированной воде на 4 часа, так как предварительное замачивание семян в воде за несколько часов до мутагенной обработки позволяет мутагену быстрее диффундировать в интересующие ткани [268]. Обработку семян образцов проса мутагеном NaN3 проводили в концентрациях 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5% с экспозициями обработки 4, 8 и 12 часов. Азид натрия (NaN3) предварительно растворяли до нужной концентрации в дистиллированной воде для получения водного раствора. Затем семена обрабатывали на орбитальном шейкере (PSU-10i, Biosan) согласно экспозициям. После обработки семена промывали в течение 1 часа в проточной водопроводной воде.Семена генотипов в контрольных вариантах без обработки мутагеном замачивали в дистилированной воде, также по изучаемым экспозициям обработки. В каждом варианте по каждому образцу семена закладывались в трехкратной повторности (рисунок 3).

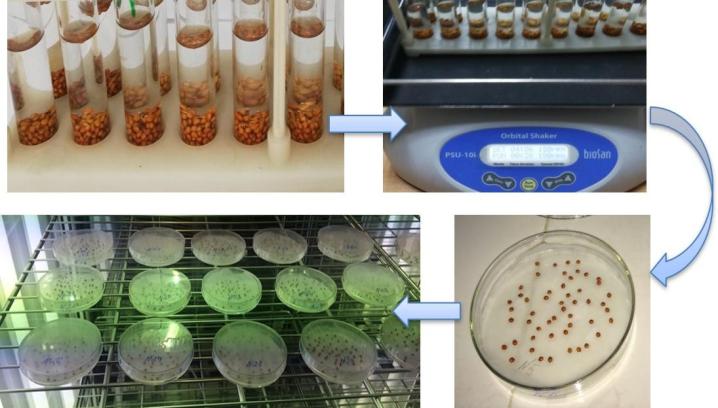


Рисунок 3 – Схема обработки семян модельного опыта проса азидом натрия

На 7-е сутки определяли лабораторную всхожесть семян, измеряли длину колеоптиля, проростков и корешков. Подсчитывали общий процент всхожести семян по отношению к контролю в зависимости от концентраций азида натрия.

Методика обработки семян проса колхицином.

Обработка семян колхицином проводилась в лабораторных условиях согласно методике L. Swathi и др. [269]. Семена замачивали в водном растворе колхицина при концентрациях 0,04%; 0,06%; 0,08%; 0,1%в течении 6, 12 и 24 часов. На 14-й день рассчитывали процент прорастания семян (П, %) по формуле:

где, П - количество проросших семян, а 50 - общее количество семян.

Кроме того, через 14 дней определяли длину колеоптиля и проростков при различных концентрациях колхицина для анализа влияния колхицина на рост и развитие [270].

Методика закладки полевых опытов проса в условиях ТОО «НПЦ ЗХ имени А.И. Бараева».

Для полевой оценки действия мутагенов на растения семена изучаемых генотипов до посева обрабатывали водным раствором химических мутагенов по описанной методике в различных концентрациях и экспозициях времени. После обработанные семена подсушивали и высевали для получения мутантов М1. Контролем служили семена исходных образцов, обработанные дистиллированной водой.

При закладке опыта использовали методические указания ВИР и Методику опытного дела Б.А. Доспехова [271, 272]. Посев семян, обработанных химическими мутагенами,проводился селекционной сеялкой ССФК-7во второй декаде мая с нормой высева 250 штук/м2 (2,5 млн.всх.семян), в двукратной повторности. Подготовка почвы проводилась согласно зональной агротехнике. Контрольные и обработанные семена химическими мутагенами были посеяны в селекционном севообороте по предшественнику пар.

Методика фенологических наблюдений для проса, согласно методике Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур РК (2011), включает в себя тщательное отслеживание основных фаз вегетации в течение всего вегетационного периода. Основные фазы, которые просо проходит от посева до уборки, включают:

Появление всходов

Кущение

Выход в трубку

Выметывание

Цветение

Созревание

Фенологические наблюдения велись глазомерным методом, что означает, что на каждой учетной площадке отмечалось наступление той или иной фазы развития, когда 10% растений достигали этой стадии. Окончание каждой фазы регистрировалось, когда 75% растений завершали данную стадию.

Во время вегетации проса учитывалась полевая всхожесть семян, то есть процент семян, проросших и давших всходы на поле. Фиксировались фенотипические отклонения от контроля, вызванные воздействием мутагенов. Перед уборкой растений проводился подсчет сохранности растений проса, то есть определение процента растений, сохранившихся на момент уборки.Оценка элементов структуры и урожайности растений проводилась на всей делянке, анализ структурных показателей продуктивности растений осуществлялся с использованием участков площадью 0,25 м². Ключевыми показателями структуры и урожайности растений былипродуктивная кустистость,количество семян с метелки, масса семян с метелки и масса 1000 семян [273].

Экстракция и количественное определение содержания фотосинтетических пигментов в листьях мутантных форм проса.

Растительный материал экстрагировали напрямую, без какой-либо предварительной обработки. Содержание пигментов (хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов) определяли в фазе кущения на 10 растениях с каждого образца в средней части листа [274-276].

Экстракция пигментов из листьев проса.

Из растительныхобразцов проса отбирали 100 мг, затем измельчали ножницами и тщательно растирали в фарфоровой ступке с 96% этиловым спиртом (2-3 мл). Полученный гомогенат сливали через воронкообразную фильтровальную бумагу в воронку и супернатант сливали в стеклянную пробирку. Экстракцию пигментов из гомогената на фильтре небольшими порциями чистого растворителя повторяли до тех пор, пока стекающий фильтрат не стал бесцветным. Из полученной вытяжки определяли содержание зелёных и жёлтых пигментов спектрофотометрическим методом [274-276].

Определение количественного содержания пигментов.

Оптическую плотность определяли на спектрофотометре PE-5400UV, (Erkos, Москва, Россия) при длинах волн: хлорофилл *a* - 665 нм; хлорофилл *b* - 649 нм; каротиноиды - 470 нм. Определение проводили в 3-х кратной повторности. Расчет при определении хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов *car*в листьях растений в этаноловой вытяжке проводилипо формуле Лихтенталера. Количество пигментов выражали в миллиграммах на единицу сырой или сухой массы, на единицу площади листа и в % от сухой (сырой) массы [274-276].

Определение спектра и частоты хлорофилльных изменений.

Для определения лиственных мутантов с дефицитом хлорофилла у каждого растения, подвергнутого различной обработке химическими мутагенами, подсчитывали количество семейств мутантов и отмечали растения с дефектными по хлорофиллу модификациями. Для характеристики лиственных мутантов использовали классификацию мутаций хлорофилла Густафссона и Гоял [277-278]. Растения с морфологическими модификациями маркировали и собирали отдельно для дальнейшего анализа. Отобранные растения группировали по различным модификациям измененных признаков, что позволяло более четко оценить разнообразие полученных мутантов. Частоту предполагаемых листовых мутантов рассчитывали, как отношение числа мутантных семейств к их общему числу по формуле [279]:

Частотамутаций (%)

Микроскопический анализ корешков и устьиц листьев проса.

Цитогенетический анализ корешков. Для приготовления препаратов при изучении митозных фаз деление клеток используют молодую корневую меристему проса. Корешки проростков фиксируют с использованием фиксатора Кларка, который представляет собой смесь этилового спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1. Процесс фиксации может длиться от 30 минут до нескольких часов, в зависимости от материала и целей исследования.

После фиксации корешки промывают дважды в 80% этиловом спирте, что позволяет удалить остатки фиксирующего раствора. Затем материал хранят в 80% спирте в холодильнике до дальнейшего использования.

Для окрашивания фиксированного материала используют ацетокармин. Приготовление раствора ацетокармина включает растворение 1–2 г кармина в 100 мл 45%-ной уксусной кислоты, состоящей из 45 мл ледяной уксусной кислоты и 55 мл дистиллированной воды. Этот раствор позволяет визуализировать клеточные структуры и детали, что важно для анализа морфологических изменений.

Процесс подготовки препаратов для микроскопического исследования включает несколько ключевых этапов:

Растворение кармина. Растворение ведется в колбе с обратным холодильником на водяной бане в течение 30-60 минут. Это обеспечивает полное растворение кармина и получение однородного окрашивающего раствора.

Фильтрация и хранение. После остывания раствор фильтруется для удаления нерастворимых частиц и помещается в посуду с притертой пробкой для предотвращения испарения.

Подготовка препарата. С помощью препаровальной иглы отрезается кончик корешка, который затем помещается на предметное стекло в каплю одного из растворов (глицерин или 45% уксусная кислота).

Препарат накрывается покровным стеклом.

Нагревание. Препарат нагревается на спиртовке 1-2 секунды 2-3 раза. Это помогает улучшить окрашивание и обеспечивает более четкое разделение клеток.

Распределение материала. Концом спички, удерживая покровное стекло, круговым движением или осторожным постукиванием по стеклу материал равномерно распределяется в один слой клеток.

Микроскопия. Препарат готов для исследования под микроскопом. Сначала его рассматривают при малом увеличении, затем при большом, используя масляную иммерсию для повышения разрешающей способности.

Фотографирование. Клетки с хорошим разбросом хромосом, без наложений и находящиеся в одной плоскости фиксируются на фотографии для дальнейшего анализа.

Для характеристики отдельных фаз митозного деления используют не менее пяти препаратов и анализируют не менее 70 клеток [280].

Определение размера и плотности устьиц листьев.Размер устьиц измеряли согласно методу Omidbaigi и др. (2010) [281]. Хорошо разросшиеся, увеличенные листья в фазу выметыванияотбирали как с контрольных, так и с мутантных растений. На небольшой участок абаксиальной стороны листьев наносилась капля 45%-й ледяной уксуной кислоты и помещали на предметное стекло. Размер и плотность устьиц наблюдали под световым микроскопом с тринокулярной моделью (Levenhuk MED 40, КНР) при 100-кратном увеличении, а размер устьиц измеряли с помощью камеры цифровой Levenhuk MED 5 Мпикс с ЖК-экраном 9,4" для микроскопов окуляр-микрометра.

Экстракция ДНК из растительного материала проса.

1. Подготовка материала

Проращивание семян: Семена проса проращивали в стерильной чашке Петри на увлажненной стерильной фильтровальной бумаге в темноте при температуре 25°C в течение 7 дней, чтобы получить бесхлорофильные проростки.

2. Экстракция ДНК. Подготовка образца: 100-200 мг проростков помещали в пробирку объемом 2 мл.

Добавление буфера: к образцу добавляли 400 мкл 2% СТАВ-буфера и измельчали с помощью палочки-измельчителя.

3. Инкубация. Добавление РНК-азы: затем добавляли 10 мкл РНК-азы и инкубировали в течение 60 минут при 65°C на водяной бане, периодически аккуратно взбалтывая пробирку.

4. Извлечение ДНК. Добавление хлороформ-изоамилового спирта: после инкубации добавляли 400 мкл хлороформ-изоамилового спирта и центрифугировали 1 минуту при максимальной скорости (13000 об/мин).

Отбор верхней фазы: осторожно пипеткой отбирали верхнюю фазу, переносили в новую пробирку и добавляли 350 мкл холодного изопропанола, тщательно перемешивая.

5. Осаждение ДНК. Центрифугирование: центрифугировали 5 минут при максимальной скорости (13000 об/мин).Слив спирта: сливали спирт, оставляя ДНК в открытой пробирке для сушки.

6. Растворение и измерение концентрации

Растворение ДНК: Высохшую ДНК растворяли в дистиллированной воде.

Измерение концентрации: Концентрацию ДНК рассчитывали путем измерения оптической плотности 1 мкл образца при длине волны 260/280 нм с использованием спектрофотометра NanoDrop 2000.

Проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для оценки генетического разнообразия полученных мутантных форм были использованы шестнадцать ISSR маркеры [283].

1. Подготовка реакционной смеси

Общий объем реакции составил 15 мкл, содержащий:8 мкл 2× Master Mixfor PCR (BioRad, США) - содержит полимеразу, буфер и дНТП.5,2 мкл ddH2O - дистиллированная вода для разбавления.1 мклпраймера (10 мкМ) (Lumiprobe Corporation, Америка) - специфичный для выбранного ISSR маркера.100-150 нг ДНК-матрицы - экстрагированная ДНК из образцов растений с использованием термоциклераVeritiPro™ (AppliedBiosystems, Сингапур) по оптимизированному протоколу (таблица 4).

Таблица 4 – ПЦР режим подобранных ISSR праймеров

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ISSR 811 | ISSR 822, 834, 841 | ISSR 808, 819 |
| 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  43.2 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин | 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  45.8 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин | 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  47.4 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин |
| ISSR 880 | ISSR 820 | ISSR 891 |
| 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  48.9 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин | 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  50.1 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин | 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  51.5 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин |
| ISSR 817, 826 | ISSR 807, 810 | ISSR 835, 840 |
| 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  53 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин | 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  42 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин | 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  45.7 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин |
| ISSR 885 | ISSR 809 | ISSR 823 |
| 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  46.4 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин | 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  46.3 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин | 94 0C – 5 мин  94 0C – 30 сек  47.5 0C – 30 сек 40 циклов  72 0C – 30 сек  72 0C – 10 мин |

Размер ПЦР-продуктов определяли путем сравнения со стандартом DNF-915 (AilentTechnologies, США) в диапазоне от 35 п.н. до 5000 п.н. Образцы, включающие 1,0 мкл продукта ПЦР, 0,5 мл стандартов размера DNF-915 и 8,5 мл загрузочного буфера, основной ингредиент которого содержал полиакриламид и декстрановый синий, подвергали электрофорезу при 7,5 кВ в течение 2 часов. Затем фрагменты ДНК автоматически записывались и анализировались с помощью программного обеспечения PROSize 3.0 (AdvancedAnalyticalTechnologies, Ankeny) (Айова, США).

АмплифицированныеПЦР продукты загружали в 16-капиллярную систему автоматизированной системы CE FragmentAnalyzer™ (рисунок 4) (AdvancedAnalyticalTechologies, Анкени, Айова, США).



Рисунок 4 – 16-капиллярная система автоматизированной системы

CE FragmentAnalyzer™

Подробная информация по ISSR маркерам представлена в таблице 5.

Таблица 5 – Мотив и сиквенс ISSR маркеров

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Названиепраймера | Кодпраймера | Сиквенс 5'→3' |
| ISSR 807 | (AG)8T | AGAGAGAGAGAGAGAGT |
| ISSR 808 | (AG)8C | AGAGAGAGAGAGAGAGC |
| ISSR 809 | (AG)8G | AGAGAGAGAGAGAGAGG |
| ISSR 810 | (GA)8T | GAGAGAGAGAGAGAGAT |
| ISSR 811 | (GA)8C | GAGAGAGAGAGAGAGAC |
| ISSR 816 | (CA)8T | CACACACACACACACAT |
| ISSR 817 | (CA)8A | CACACACACACACACAA |
| ISSR 819 | (GT)8A | GTGTGTGTGTGTGTGTA |
| ISSR 820 | (GT)8C | GTGTGTGTGTGTGTGTC |
| ISSR 822 | (TC)8A | TCTCTCTCTCTCTCTCA |

Продолжение таблицы 5

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ISSR 823 | (TC)8C | TCTCTCTCTCTCTCTCC |
| ISSR 826 | (AG)8C | ACACACACACACACACC |
| ISSR 834 | (AG)8YT | AGAGAGAGAGAGAGAGYT |
| ISSR 835 | (AG)8YC | AGAGAGAGAGAGAGAGYC |
| ISSR 840 | (GA)8YT | GAGAGAGAGAGAGAGAYT |
| ISSR 841 | (GA)8YC | GAGAGAGAGAGAGAGAYG |

Статистический анализ данных.

Результаты были проанализированы с использованием MicrosoftExcel с пакетом программного обеспечения Student's T-Test для Windows (статистический). Все данные были обозначены как среднее±стандартноеотклонение. Статистически значимые различия хозяйственно-ценных признаков между различными концентрациями и экспозициями обработки азида натрия и колхицина анализировали с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с разделением средних по критерию наименьшей значимой разницы (P<0,05). Для расчета PIC (ThePolymorphismInformationContent) – информационный контент полиморфизма использовалось формула, описанная Ботштейном и др. (1980) [284]. Количестворазличныхаллелей (Na), количестваэффективныхаллелей (Ne), информационногоиндексаШеннона (I), ожидаемойгетерозиготности (He), несмещеннойожидаемойгетерозиготности (uHe) ипроцентаполиморфныхлокусов (P) рассчиталисиспользованиемпакетаGenAlEx 6.503 [285].

**3 ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МУТАГЕНОВ НА ОБРАЗЦЫ ПРОСА ПО МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ И ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫМ ПРИЗНАКАМ**

**3.1 Модельные опыты по изучению влияния концентрации и экспозиции обработки химических мутагенов**

По мере увеличения дозы мутагена до определенного уровня, наблюдается рост частоты возникновения жизнеспособных мутаций, но далее этот эффект исчезает. Превышение оптимальной дозы мутагена может привести к гибели растений из-за изменений, вызванных его воздействием. Следовательно, использование высоких доз мутагенов в селекционной работе нецелесообразно. Однако слишком низкие дозы также могут оказаться неэффективными. Поэтому при использовании индуцированного мутагенеза для создания исходного материала для селекции необходимо определить оптимальные дозы и продолжительность воздействия мутагенов для каждого конкретного сорта на основе предварительных исследований[286]. Исходя из этого, в ходе исследования проведены модельные опыты по изучению влияния различных концентраций и экспозиции обработки водными растворами химических мутагенов азида натрия и колхицина на спектр морфофизиологических изменений в стадии прорастания семян.

3.1.1 Влияние азида натрия на спектр морфофизиологических параметров проростков проса

Для анализа влияния азида натрия на проростки проса были заложены лабораторные опыты (рисунок 5), на седьмые сутки определяли лабораторную всхожесть семян, длину колеоптиля, корешков и сырую биомассу.

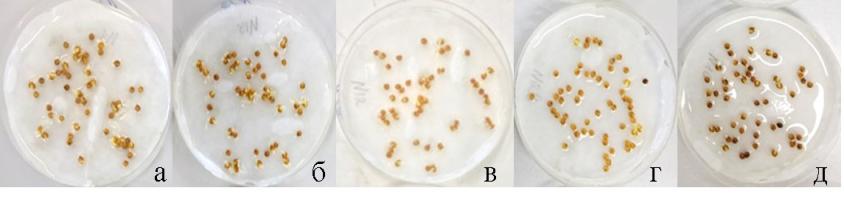


Рисунок 5 – контрольные (а) и обработаные азидом натрия (0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% и 0,5%) семена проса на 3-сутки

При проведении эксперимента с обработкой семян проса азидом натрия были получены следующие результаты:

1. Проростки

Экспозиция 4 часа: Проростки начали появляться на 4-5 сутки у семян, обработанных азидом натрия в концентрациях от 0,1% до 0,3%.

Экспозиция 6 часов: Проростки появились на 6 день у семян, обработанных 0,4% и 0,5% концентрацией.

Контрольный вариант: В контрольной группе, где семена не подвергались обработке, проростки наблюдались уже на второй день для всех трех экспозиций.

2. Морфометрические показатели

В результате исследования были выявлены значительные различия в морфометрических показателях, зависящих от концентрации азида натрия. Это может включать такие параметры, как высота проростков, количество листьев, длина корней и другие характеристики.

3. Процент всхожести

Данные по всхожести семян показали, что при наименьшей концентрации азида натрия (0,1%) и при экспозиции 4 и 8 часов всхожесть оставалась на уровне контрольных значений. Это указывает на то, что низкие концентрации и короткие временные экспозиции могут не оказывать негативного влияния на прорастание семян(рисунок 6).

Рисунок 6 – Влияние азида натрия на лабораторную всхожесть (%) образцов

При обработке семян азидом натрия в концентрации 0,5% наблюдается заметное снижение всхожести. Однако при 4 ч экспозиции она снизилась до 24,4%, при 8 ч — до 20,9%, а при 12 ч — до 8,5%. Эти данные подчеркивают влияние мутагена на жизнеспособность семян и указывают на зависимость снижения всхожести от времени экспозиции. Это также может свидетельствовать о том, что более длительное воздействие азида натрия приводит к более выраженному токсическому эффекту, что может быть связано с нарушением физиологических процессов в клетках..Средняя всхожесть семян проса в контрольном варианте составила 91,2%,тогда как в опытных вариантах: 0,1% - 92,8; 0,2% - 84,8; 0,3%- 72,1; 0,4% - 56,6; 0,5% - 30,9; при 8 ч экспозиции времени в 0% - 83,1; 0,1% - 82,8; 0,2% - 74,5; 0,3% - 58,8; 0,4% - 47,4; 0,5% - 27,3;при 12 ч экспозиции времени в 0% - 86,7; 0,1%- 68,3; 0,2% - 44,8; 0,3% - 24,8; 0,4% - 16,2; 0,5% - 10,1. Экспозиция семян при 12 часаху вариантов с концентрациями 0,4% и 0,5% ингибировала всхожесть семян на-85 и -90% у всех генотипов, соответственно.

Определение морфометрических параметров колеоптиля после обработки азидом натрия представляет интерес, так как выявление каких-либо изменении могут свидетельствовать о влиянии мутагена. Оценка длины колеоптиля показала, что при концентрации 0,1% мутагена средняя длина колеоптиля остается на уровне контроля, при обработке продолжительностью 4 и 8 часов, и в контроле, также при 0,1% мутагена в среднем колебалась от 5,2 до 6,2 см. В остальных концентрациях динамика роста колеоптиля идет к резкому снижению, например, при 0,2% - 3,8 см, 0,3% - 3,4 см, 0,4% - 2,63 см, 0,5% -2,42 см. Особенное сильное угнетение длины колеоптиля отмечено от 0,3% до 0,5% при экспозиции времени 8 и 12 ч (рисунок 7).

Рисунок 7 – Влияние NaN3 на длину колеоптиля образцов проса

в стадии прорастания семян

Аналогичная картина наблюдалось при измерении длины корешков. Корешки в опытных вариантах при 4 ч экспозиции времени были в среднем в 5 раз ниже контроля при концентрациях 0,2 и 0,3%, в 7-8 раз ниже при концентрациях 0,4% и 0,5% (рисунок 8).

Рисунок 8 – Влияние NaN3 на длину корешков образцов проса в стадии прорастания семян

Семена, обработанные различными концентрациями NaN3 в дозах 0,3%, 0,4% и 0,5% с временными интервалами 8 и 12 часов показали сильное мутагенное воздействие на длину проростка и корешка. NaN3 при концентрации 0,3-0,5% оказывал сильный мутагенный эффект на рост корешков, во всех экспозициях времени обработки данный показатель в среднем снизился на-90% по сравнению с контролем. Эффективность мутагена при высокой концентрации показана в других аналогичных исследованиях с растениями нута [287]иподсолнечника[288], сувеличениемконцентрацииуменьшалисьростовыепараметрырастений, срастениямильнамасличногоснижаласьвсхожестьсемяни сохранность растений [289]. Аналогичная динамика наблюдалась при определении сырой биомассы 7-дневных проростков (рисунок 9).

Рисунок 9 – Влияние различных концентрации азида натрия

на сырую биомассу проростков, г

Из исследованных концентраций 0,1-0,2%существенно не повлияли на биомассу проростков. Следует отметить, что изменение биомассы проростка по сравнению с контролем выявлено при концентрациях 0,4-0,5%. Исходя из полученных результатов, было отмечено, что оптимальная концентрация обработки азидом натрия для мутагенеза проса в лабораторных условиях может быть 0,1% при экспозиции 4 часов, так как при этом всхожесть семян и длина проростков остается на уровне с контролем.

Таким образом, было установлено, что лабораторная всхожесть семян генотипов проса в значительной степени влияетконцентрация 0,1% мутагена и времени экспозиции. Высокие концентрации 0,4-0,5% азида натрия оказывали негативное действие на лабораторную всхожесть семян. аналогичные результаты действительно подтверждаются в ряде исследований. Токсический эффект азида натрия может оказывать значительное влияние на всхожесть семян, что связано с нарушением физиологических процессов, необходимыми для прорастания [290]. Замедление или ингибирование этих процессов может быть вызвано изменениями в синтезе фитогормонов и нарушениями клеточного цикла. Это подчеркивает важность изучения воздействия мутагенов на растения для понимания механизмов, лежащих в основе их адаптации и устойчивости[291].

3.1.2 Морфофизиологическая реакция проростков проса на действие колхицина

Известно, что, эффект мутагенов вызывает различные изменения на клеточном, морфологическом, физиологическом и биохимическом уровнях. Для морфофизиологической оценки влияния различных концентрации колхицина при экспозициях 6, 12 и 24 ч проведен лабораторный скрининг. Микроскопический анализ корешков просапровели с целью выявления особенностей действиямутагена. В каждом контрольном и опытном варианте анализировали не менее 50 зародышевых корешков длиной от 0,3 до 1,0 см, которые были зафиксированы в растворе Карнуа (комбинация спирта и ледяной уксусной кислоты в пропорции 3:1). Общий вид митозов проса показан на рисунке10.

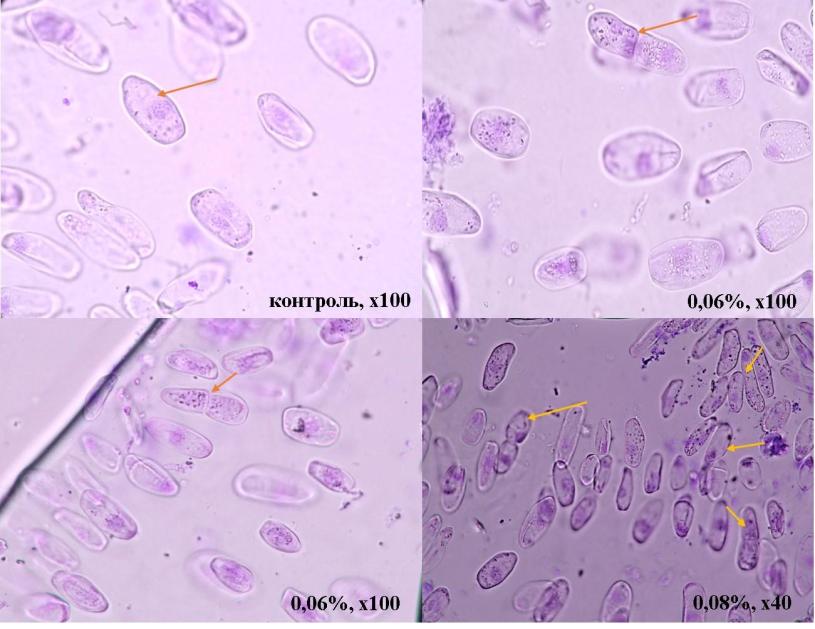


Рисунок 10 – Общий вид митоза у корешков контрольного и мутантного растенияпри обработке колхицином

Результаты цитогенетических исследований показали значительные изменения на клеточном уровне под влиянием колхицина. На рисунке наглядно видно, что при обработке семян различными концентрациями колхицина были зафиксированыряд стадии анафаз в митозе, тогда как в контрольных вариантахбольшинствоклетокнаходились в метафазной стадии. Также под воздействием колхицина клетки демонстрирует повышенную плотность хромосом, массовую фрагментацию хромосом и полиплоидных клеток.

По результатам оценки установлено значительное ингибирующее действие колхицина на лабораторную всхожесть семян (В, %) и длину проростков (ДП, см) генотипов проса в зависимости от концентрации и времени воздействия (рисунок 11).

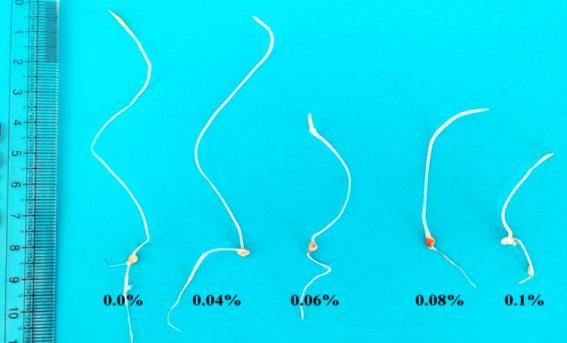


Рисунок 11 – Влияние различных концентрации колхицинана длину проростков и корешков

При 6-часовой экспозиции семян колхицином в различных концентрациях (0,04%; 0,06%; 0,08%; и 1,0%) лабораторная всхожесть семян по сравнению с контролем в среднем составила 76%, 58%, 47% и 26%, соответственно, тогда как при 12-часовой экспозиции в мутагене всхожесть была 76%, 62%, 32% и 23%, и при 24 часах 69%, 56%, 37% и 15%, соответственно. Обнаружено, что длительная обработка семян колхицином приводит к уменьшению всхожести по сравнению с коротким временем обработки. В контрольном варианте всхожесть семян колебалась от 90,2 до 97,0. Анализ данных длины колеоптиля показал общую тенденцию ингибирования роста при обработке колхицином, как представлено в таблице 6.

Таблица 6 – Влияние различных концентраций и времени обработки колхицином на лабораторную всхожесть семян (В) и длинупроростков (ДП) генотипов

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Квартет | | | | | | | | | | | |
| Продолжительность обработки, час | Данные | Концентрацииколхицина, % | | | | | | | | | |
| 0,0 | | 0,04 | | 0,06 | | 0,08 | | 0,1 | |
| В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 6 | мин/макс | 90,3/  94,2 | 14,5/  17,1 | 62,7/  65,5 | 13,6/  15,8 | 32,9/  35,2 | 13,7/  16,5 | 28,0/  31,4 | 10,3/  14,7 | 19,0/  21,7 | 10,6/  13,4 |
| диапазон | 3,9 | 2,6 | 2,8 | 2,2 | 2,3 | 2,8 | 3,4 | 4,4 | 2,7 | 2,8 |
| M | 92 | 15,8 | 64 | 14,7 | 33 | 15,1 | 29 | 12,5 | 20 | 12,0 |
| SD | 2,7 | 1,8 | 1,9 | 1,6 | 1,2 | 2,0 | 2,4 | 3,1 | 1,9 | 2,0 |
| CoV | 3,3 | 11,6 | 3,0 | 10,6 | 3,6 | 13,1 | 8,3 | 24,9 | 9,5 | 16,5 |
| 12 | мин/макс | 92,0/  91,8 | 15,3/  16,5 | 56,4/  58,0 | 14,8/  16,0 | 46,7/  51,1 | 14,0/  16,2 | 24,2/  26,6 | 13,5/  14,5 | 18,8/  21,5 | 12,2/  14,8 |

Продолжение таблицы 6

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| 12 | диапазон | 2,8 | 1,2 | 1,6 | 1,2 | 4,4 | 2,2 | 2,4 | 1,0 | 2,7 | 2,6 |
| M | 91 | 15,9 | 58 | 15,4 | 49 | 15,1 | 25 | 14,0 | 20 | 13,5 |
| SD | 1,9 | 0,8 | 1,1 | 0,8 | 3,1 | 1,6 | 1,7 | 0,7 | 1,9 | 1,8 |
| CoV | 2,5 | 5,3 | 1,9 | 5,5 | 6,3 | 10,3 | 6,8 | 5,1 | 9,5 | 13,6 |
| 24 | мин/макс | 90,4/  93,1 | 15,4/  17,2 | 48,1/  50,5 | 15,0/  17,0 | 47,3/  49,0 | 15,8/  19,2 | 24,0/  27,0 | 14,4/  14,8 | 14,2/  15,8 | 10,6/  12,0 |
| диапазон | 1,7 | 1,8 | 2,4 | 2,0 | 1,7 | 2,4 | 3,0 | 0,4 | 1,6 | 1,4 |
| M | 91 | 16,3 | 49 | 16,0 | 48 | 17,5 | 26 | 14,6 | 15 | 11,3 |
| SD | 1,2 | 1,3 | 2,4 | 1,4 | 1,2 | 2,4 | 2,1 | 0,3 | 1,1 | 1,0 |
| CoV | 1,7 | 7,8 | 4,9 | 8,8 | 2,5 | 13,7 | 8,1 | 1,9 | 7,3 | 8,8 |
| PI289324 | | | | | | | | | | | |
| Продолжительность обработки, час | Данные | Концентрацииколхицина, % | | | | | | | | | |
| 0,0 | | 0,04 | | 0,06 | | 0,08 | | 0,1 | |
| В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см |
| 6 | мин/макс | 91,6/  94,2 | 15,4/  17,4 | 69,9/  72,6 | 14,3/  17,7 | 56,7/  62,4 | 16,0/  17,2 | 39,1/  41,2 | 14,3/  15,7 | 21,8/  23,2 | 12,2/  15,4 |
| диапазон | 3,6 | 2,0 | 2,7 | 3,4 | 5,7 | 1,2 | 2,1 | 1,4 | 1,4 | 3,2 |
| M | 93 | 16,4 | 71 | 16,0 | 59 | 16,6 | 40 | 15,0 | 23 | 13,8 |
| SD | 2,5 | 1,4 | 1,0 | 2,4 | 4,0 | 0,8 | 1,5 | 1,0 | 1,0 | 2,3 |
| CoV | 2,9 | 8,6 | 1,4 | 15,0 | 6,8 | 5,1 | 3,8 | 6,6 | 4,3 | 16,4 |
| 12 | мин/макс | 92,4/  94,7 | 10,9/  11,7 | 63,8/  66,0 | 11,2/  13,2 | 56,6/  58,0 | 8,8/  11,8 | 26,5/  30,3 | 7,8/  9,8 | 18,2/  19,8 | 6,9/  8,1 |
| диапазон | 2,3 | 0,8 | 2,2 | 2,0 | 1,7 | 3,0 | 3,8 | 2,0 | 1,6 | 1,2 |
| M | 93 | 11,3 | 65 | 12,2 | 57 | 10,3 | 28 | 8,8 | 19 | 7,5 |
| SD | 1,6 | 0,6 | 1,6 | 1,4 | 1,0 | 2,1 | 2,7 | 1,4 | 1,1 | 0,8 |
| CoV | 2,1 | 5,0 | 2,5 | 11,6 | 1,8 | 20,6 | 9,6 | 16,1 | 5,8 | 11,3 |
| 24 | мин/макс | 93,7/  97,0 | 9,7/  11,3 | 53,6/  55,5 | 10,3/  12,7 | 37,2/  40,6 | 8,1/  11,5 | 23,9/  25,6 | 7,3/  9,7 | 9,5/  11,7 | 6,8/  9,2 |
| диапазон | 2,3 | 1,6 | 1,9 | 2,4 | 2,4 | 3,4 | 1,7 | 2,4 | 2,2 | 2,4 |
| M | 95 | 10,5 | 54 | 11,5 | 38 | 9,8 | 26 | 8,5 | 10 | 8,0 |
| SD | 1,6 | 1,1 | 1,3 | 1,7 | 1,7 | 2,4 | 1,2 | 1,7 | 1,6 | 1,7 |
| CoV | 1,9 | 10,8 | 2,4 | 14,8 | 4,5 | 24,5 | 4,6 | 20,0 | 16,0 | 21,2 |
| Павлодарское 4 | | | | | | | | | | | |
| Продолжительность обработки, час | Данные | Концентрацииколхицина, % | | | | | | | | | |
| 0,0 | | 0,04 | | 0,06 | | 0,08 | | 0,1 | |
| В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см | В, % | ДП, см |
| 6 | мин/макс | 90,4/  92,7 | 16,1/  18,9 | 52,5/  55,1 | 17,0/  19,6 | 50,9/  53.4 | 15,8/  18.4 | 47,0/  49,2 | 15,5/  17,3 | 19,5/  22,7 | 10,7/  14,7 |
| диапазон | 3,6 | 2,8 | 1,6 | 2,6 | 2,5 | 2,6 | 2,2 | 1,8 | 3,2 | 4,0 |
| M | 91 | 17,6 | 54 | 18,3 | 52 | 17,1 | 48 | 16,4 | 21 | 12,7 |
| SD | 2,3 | 2,0 | 1,8 | 1,8 | 1,7 | 1,8 | 1,5 | 1,3 | 2,2 | 2,8 |
| CoV | 2,9 | 11,3 | 3,3 | 10,0 | 3,3 | 10,8 | 3,1 | 7,8 | 10,5 | 22,3 |
| 12 | мин/макс | 92,4/  94,0 | 12,6/  16,4 | 61,3/  63,4 | 13,1/  15,3 | 44,0/  46,1 | 11,5/  15,5 | 23,8/  27,2 | 12,4/  13,6 | 16,3/  18,4 | 9,2/  10,8 |
| диапазон | 1,6 | 3,8 | 2,1 | 2,2 | 3 | 4 | 3,4 | 1,2 | 2,1 | 1,6 |
| M | 93 | 14,5 | 62 | 14,2 | 45 | 13,5 | 25 | 13,0 | 17 | 10,0 |
| SD | 1,1 | 2,7 | 1,4 | 1,6 | 2,1 | 2,8 | 2,4 | 0,8 | 1,5 | 1,1 |
| CoV | 1,3 | 18,5 | 2,3 | 11,0 | 4,7 | 21,0 | 9,6 | 6,5 | 8,8 | 11,3 |
| 24 | мин/макс | 93,0/  94,7 | 11,2/  13,4 | 57,5/  61,2 | 12,7/  15,9 | 43,6/  46,5 | 12,6/  15,0 | 35,4/  37,9 | 10,2/  12,8 | 9,6/  11,0 | 8,7/  11,3 |
| диапазон | 3,9 | 2,2 | 3,7 | 3,2 | 2,9 | 2,4 | 2,3 | 2,6 | 1,4 | 2,6 |
| M | 93 | 12,3 | 59 | 14,3 | 45 | 13,8 | 36 | 11,5 | 10 | 10,0 |
| SD | 2,7 | 1,6 | 2,6 | 2,3 | 2 | 1,7 | 1,7 | 1,8 | 0,9 | 1,8 |
| CoV | 3,3 | 12,6 | 4,4 | 15,8 | 4,4 | 12,3 | 4,7 | 16,0 | 9,0 | 18,4 |
| Примечание: M – среднеезначение; SD – среднееотклонение; CoV – коэффициентвариации | | | | | | | | | | | |

Средняя длина проростков в контрольном варианте составила 16,7 см, при 6-часовой экспозиции, тогда как при 0,04% - 16,3 см; 0,06% - 16,2 см; 0,08% - 14,6 см; 0,1% - 12,8 см. При 12- часовой экспозиции длина проростков была при 0,04% - 13,9 см; 0,06% - 12,9 см; 0,08% - 11,9 см; 0,1% - 10,3 см. При 24- часовой экспозиции времени длина проростков составила при 0,04% - 13,9 см; 0,06% - 13,7 см; 0,08% - 11,5 см; 0,1% - 9,7 см. Необходимо отметить, что длина проростков наиболее существенно уменьшилась по сравнению с контролем при экспозициях времени 12 и 24 часов и концентрациях колхицина 0,08 и 0,1%.

Таким образом, анализ лабораторной оценки проростков выявил, что их жизнеспособность и размеры находятся в обратной зависимости от концентрации раствора колхицина, чем больше концентрация мутагена, тем меньше показатель лабораторной всхожести и длины проростков.На 14-е сутки наблюдений подтвердилось, что максимальная концентрация колхицина оказывает угнетающее влияние на прорастание семян проса. В лабораторных условиях было зафиксировано значительное снижение всхожести семян — на 82,0% при концентрации 0,1%. При использовании более высоких концентраций мутагена не происходит развитие проростков и корешков вследствие их увядания. Сублетальными дозами колхицина при экспозиции 6 часов являются 0,06% и 0,1% концентрации; при экспозиции 12 часов 0,04% и 0,08%, при экспозиции 24 часа 0,06% и 0,1%, а летальными при экспозиции 12 часов - 0,1% концентрации.Cнижение всхожести с увеличением концентрации колхицина может быть обусловлено некрозом тканей при воздействии в различных концентрации колхицина [292].В результате цитологического изучения корешков проса был зафиксирован ряд изменении в процессе митоза под воздействием мутагена. Обработка колхицином привела к дозозависимому увеличению количества клеток апикальной меристемы в митозе.

**3.2 Эффект азида натрия на хозяйственно-ценные признаки полученных мутантных форм М1-М2 поколений**

3.2.1 Мутагенное действие азида натрия на хозяйственно-ценные признаки М1 растений в полевых условиях

Для полной оценки влияния различных концентраций и экспозиций азида натрия на рост и развитие генотипов проса нами были заложены полевые опыты. Проведенный последующий анализ растений показывает, что в поколении М1 мутагенов концентрациях от 0,1% до 0,5% оказывал существенное влияние на выраженность таких признаков, как полевая всхожесть, сохранность растений, продолжительность вегетационного периода растений, а также ряда морфологических характеристик.

В качестве одного из критериев для оценки реакции проса на обработку мутагеном была использована полевая всхожесть семян. Этот показатель является важным индикатором адаптивных свойств сельскохозяйственных культур и позволяет определить, насколько эффективно семена могут прорастать в естественных условиях. В результате полевых исследований выявлены существенные различия по всхожести семян в зависимости от концентрации азида натрия и времени экспозиции (рисунок 12).

Рисунок 12 – Влияние мутагена на полевую всхожесть М1 растений

Так, например, 0,1% обработки мутагеном при экспозиции 4 часа не показал существенного влияния на полевую всхожесть, данный показатель во всех образцах был на уровне контроля. При 4 и 8 часах экспозиции и концентрации мутагена 0,2-0,3% полевая всхожесть семян в среднем снизилась на-30% у всех исследуемых образцов. Повышение концентрации до 0,5% при 4 и 8 часов экспозиции привело к снижению всхожести семян в 1,5-2 раза. При 12 часов экспозиции мутагена всхожесть семян в полевых условиях составила от 60 до 75% при концентрациях 0,2-0,3%, а при 0,4-0,5% концентрациях всхожесть семян была на 2-3 раза меньше, чем у контрольных.

Одним из основных показателей оценки действия мутагенов является вегетационный период растений, поэтому во время вегетации систематически проводилась фиксация фаз. Наблюдения за продолжительностью вегетации М1 растений, обработанных азидом натрия,показали, что в зависимости от концентрации и экспозиции она составила в условиях 2021 года 105-97 дня. По мере увеличения содержания химического мутагена отмечается сокращение периода вегетации на 3-5 дней по сравнению с контролем (таблица 7).

Таблица 7–Продолжительность вегетационного периода (дни) М1 проса, обработанных азидом натрия

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентрации NaN3, % | Время обработки семян, час | | | | | |
| 4 | РК | 8 | РК | 12 | РК |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Квартет | 0,0 | 102 | - | 102 | - | 102 | - |
| 0,1 | 102 | - | 100 | -2 | 99 | -3 |
| 0,2 | 102 | - | 100 | -2 | 98 | -4 |
| 0,3 | 101 | -1 | 100 | -2 | 98 | -4 |
| 0,4 | 101 | -1 | 99 | -3 | 98 | -4 |
| 0,5 | 101 | -1 | 100 | -2 | 97 | -5 |

Продолжение таблицы 7

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| PI 289324 | 0,0 | 99 | - | 98 | - | 98 | - |
| 0,1 | 98 | -1 | 98 | -1 | 98 | - |
| 0,2 | 98 | -1 | 97 | -2 | 98 | - |
| 0,3 | 98 | -1 | 97 | -2 | 97 | -1 |
| 0,4 | 98 | -1 | 97 | -2 | 97 | -1 |
| 0,5 | 98 | -1 | 97 | -2 | 97 | -1 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 102 | - | 102 | - | 102 | - |
| 0,1 | 105 | +3 | 103 | +1 | 101 | -1 |
| 0,2 | 104 | +2 | 102 | - | 100 | -2 |
| 0,3 | 104 | +2 | 102 | - | 100 | -2 |
| 0,4 | 103 | +1 | 102 | - | 100 | -2 |
| 0,5 | 103 | +1 | 102 | - | 99 | -3 |
| Примечание: РК – разница от контроля | | | | | | | |

Фиксация фенологических фаз проса показала, что сортообразец PI289324 имел более короткий вегетационный период и быловизуальном отмечено более интенсивное созревание метелок и зеленой массы растений по сравнению с сортами Квартет и Павлодарское 4. Установлено, что в зависимости от концентрации мутагена вегетационный период растений значительно отличается от контроля. Было зафиксировано сокращение вегетационного периода на 2-5 дней по мере увеличения времени обработки мутагеном с выдержкой 8 и 12 часов по сравнению с выдержкой 4 часа (рисунок 13).

Рисунок 13 – Влияние мутагена на среднюю продолжительность вегетации изучаемых генотипов в первом мутантном поколений

Как видно из рисунка 12, при 8 и 12-часовой экспозиции обработки идет достоверное сокращение вегетационного периода по сравнению с экспозицией 4 часа. Изменение вегетационного периода в сторону уменьшения имеет большое селекционное значение при создании скороспелых форм проса.

В течение вегетационного периода мутантные формы показали более высокую устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды, что отразилось на показателях сохранности растений. У всех генотипов, подвергшихся обработке семян мутагеном в концентрациях 0,1% и 0,2%, гибель растений при экспозициях 4, 8 и 12 часов была незначительной и варьировала в пределах 5-10% относительно всходов, как показано на рисунке 14.

Рисунок 14 – Влияние различных концентрации и экспозиции при обработке семян NaN3на сохранность М1 растений

Сохранность растений проса в полевых условиях варьировала в зависимости от концентрации мутагена, экспозиции выдержки и обрабатываемого генотипа и была в пределах 50-100% по отношению к контролю. Наименьшая сохранность составила в вариантах опыта, где семена были обработаны 0,5% концентрацией мутагена во всех трех экспозициях выдержки. Таким образом, полученные данные указывают на то, что более высокие концентрации мутагена существенно снижают сохранность растений, что в свою очередь влияет на продуктивность.

Основным показателем при оценке образцов проса является продуктивность. Она полностью отражает все биологические особенности образца и его отношения к условию возделывания. Для характеристики продуктивности обработанных мутагенами генотипов проводился структурный анализ снопового материала. Ключевым показателем эффективности действия мутагенов является изменение высоты и других морфометрических характеристик растений в мутантном поколенииМ1. В любом случае, эти результаты являются важным вкладом в понимание реакции проса на химическое мутагенное воздействие и могут быть полезными для дальнейших исследований в области селекции и генетики этого злака (таблица 8).

Таблица 8 – Морфометрический и структурный анализ М1образцов проса, обработанных различными концентрациями и экспозициями азида натрия

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Наименованиесорта | Концентрация, % | Экспозиция, час | Высотарастений, см | Длинаметелки, см | Продуктивнаякустистость | Масса семян с метелки, г | Масса 1000 семян, г |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 1 | Квартет | 0,0 | 4 | 81 | 24 | 2,5 | 1,40 | 5,83 |
| 2 | 0,1 | 90 | 25 | 3,9 | 1,04 | 4,31 |
| 3 | 0,2 | 84 | 23 | 3,2 | 1,16 | 4,68 |
| 4 | 0,3 | 91 | 22 | 2,7 | 1,20 | 4,42 |
| 5 | 0,4 | 88 | 23 | 3,9 | 1,60 | 5,67 |
| 6 | 0,5 | 83 | 22 | 3,1 | 1,00 | 4,36 |
| 7 | PI289324 | 0,0 | 4 | 90 | 23 | 1,7 | 1,80 | 5,36 |
| 8 | 0,1 | 75 | 19 | 4,0 | 1,52 | 5,56 |
| 9 | 0,2 | 70 | 16 | 2,7 | 1,25 | 4,65 |
| 10 | 0,3 | 78 | 18 | 2,2 | 1,15 | 4,42 |
| 11 | 0,4 | 86 | 22 | 4,4 | 1,28 | 4,4 |
| 12 | 0,5 | 85 | 20 | 1,7 | 1,15 | 4,12 |
| 13 | Павлодарское 4 | 0,0 | 4 | 77 | 21 | 1,8 | 1,70 | 5,79 |
| 14 | 0,1 | 75 | 21 | 2,6 | 1,60 | 5,67 |
| 15 | 0,2 | 74 | 21 | 2,2 | 1,05 | 6,01 |
| 16 | 0,3 | 90 | 21 | 2 | 2,05 | 4,9 |
| 17 | 0,4 | 81 | 22 | 1,9 | 1,17 | 6,34 |
| 18 | 0,5 | 75 | 21 | 2,0 | 1,40 | 5,04 |
| 19 | Квартет | 0,0 | 8 | 81 | 24 | 2,5 | 1,85 | 5,83 |
| 20 | 0,1 | 87 | 23 | 2,2 | 1,56 | 6,08 |
| 21 | 0,2 | 86 | 22 | 2,4 | 2,20 | 4,08 |
| 22 | 0,3 | 84 | 24 | 4,0 | 1,75 | 5,87 |
| 23 | 0,4 | 85 | 22 | 3,4 | 1,70 | 5,24 |
| 24 | 0,5 | 85 | 23 | 2,8 | 1,90 | 5,9 |

Продолжение таблицы 8

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 25 | PI289324 | 0,0 | 8 | 90 | 23 | 3,7 | 2,08 | 5,36 |
| 26 | 0,1 | 87 | 24 | 4,0 | 1,23 | 5,01 |
| 27 | 0,2 | 88 | 22 | 3,4 | 1,50 | 5,29 |
| 28 | 0,3 | 82 | 21 | 3,3 | 1,60 | 5,13 |
| 29 | 0,4 | 70 | 19 | 3,8 | 1,85 | 4,73 |
| 30 | 0,5 | 73 | 18 | 3,0 | 1,20 | 5,0 |
| 31 | Павлодарское 4 | 0,0 | 8 | 77 | 21 | 3,8 | 1,89 | 5,79 |
| 32 | 0,1 | 77 | 23 | 2,9 | 1,64 | 5,37 |
| 33 | 0,2 | 79 | 22 | 3,2 | 1,44 | 5,25 |
| 34 | 0,3 | 81 | 23 | 3,4 | 1,81 | 5,38 |
| 35 | 0,4 | 84 | 24 | 2,2 | 1,70 | 5,91 |
| 36 | 0,5 | 82 | 22 | 3,1 | 1,60 | 5,51 |
| 37 | Квартет | 0,0 | 12 | 81 | 24 | 2,5 | 2,00 | 5,83 |
| 38 | 0,1 | 83 | 22 | 2,2 | 1,76 | 5,6 |
| 39 | 0,2 | 80 | 24 | 3,5 | 1,80 | 5,46 |
| 40 | 0,3 | 78 | 23 | 3,3 | 1,15 | 4,1 |
| 41 | 0,4 | 82 | 24 | 4,2 | 1,77 | 4,63 |
| 42 | 0,5 | 81 | 23 | 3,4 | 1,93 | 5,31 |
| 43 | PI289324 | 0,0 | 12 | 90 | 23 | 3,7 | 2,17 | 5,36 |
| 44 | 0,1 | 86 | 24 | 3,2 | 1,95 | 5,25 |
| 45 | 0,2 | 87 | 22 | 3,5 | 1,30 | 5,02 |
| 46 | 0,3 | 73 | 19 | 4,0 | 1,37 | 4,21 |
| 47 | 0,4 | 80 | 20 | 3,7 | 2,10 | 4,5 |
| 48 | 0,5 | 79 | 18 | 4,4 | 2,08 | 4,74 |
| 49 | Павлодарское 4 | 0,0 | 12 | 77 | 21 | 3,8 | 1,70 | 5,79 |
| 50 | 0,1 | 81 | 23 | 3,0 | 0,97 | 5,29 |
| 51 | 0,2 | 80 | 20 | 3,4 | 1,15 | 5,3 |
| 52 | 0,3 | 75 | 19 | 2,7 | 1,48 | 4,74 |
| 53 | 0,4 | 77 | 21 | 3,0 | 1,62 | 4,8 |
| 54 | 0,5 | 70 | 22 | 5,2 | 1,55 | 4,23 |

Согласно полученным данным, у М1 растений существенных отличий по высоте растений и длине метелки в зависимости от концентрации не выявлено. Незначительное отличие наблюдалось при концентрациях 0,1%-0,5% у сорта Квартет по сравнению с контролем при 4ч и 8 ч экспозициях. Так, при 0,1% концентрации высота растений составила - 90 см, при 0,2% - 84 см, 0,3% - 91 см, 0,4% - 88 см, 0,5% - 83 см, что на 9 см, 3 см, 10 см, 7 см и 2 см превосходит контроля, соответственно. При 8 ч экспозиции обработки высота растений в среднем составила 0,1% - 87см, 0,2% - 86 см, 0,3% - 84 см, 0,4 и 0,5% - 85 см. У образца PI289324 средний показатель был ниже, чем контроль во всех концентрациях и экспозициях обработки. У районированного сорта Павлодарское 4 исключение составили концентрации 0,4 и 0,5% при 4 и 8ч экспозиции времени. Так, например, в контрольном варианте в среднем высота растений составила - 77 см, тогда как в 0,4% концентрации мутагена при 4ч - 90 см, 8ч - 81 см, при 0,5% при 4ч - 81 см, 0,5% - 84 см.

Длина метелки у сорта Квартет не отличались от контроля во всех вариантах колебалась от 22 до 24 см, у генотипа PI289324от 16 до 23 см, у сорта Павлодарское 4 от 19 до 23 см.По массе 1000 семян идет небольшое снижение при 0,5% концентрации при 12 ч экспозиции у образцов PI289324 и Павлодарское 4, у сорта Квартет при 4 ч экспозиции в 0,1-0,3% наблюдалось снижение массы 1000 семян по сравнению с контролем.

Аналогичные исследования, проведенные на растениях ячменя, под воздействием азида натрия показали изменения признаков, таких как высота растения, длина колоса, морозоустойчивость и масса зерен в положительную сторону [293]. В наших экспериментах выравнивание в ростовых параметрах у большинства растений М1, обработанных различными концентрациями азида натрия возможно, связано со способностью к дальнейшему интенсивному росту растений вне зависимости от обработки мутагенов.У растений М1, индуцированных азидом натрия, в соответствии с анализом по структуре урожая в целом можно отметить, что мутантные формы показали продуктивность на уровне контроля (рисунок 15).

Рисунок 15– Влияние различных концентрации и экспозиции обработки семян NaN3 на продуктивность в М1

Так, при экспозиции семян 4 часа наибольшая урожайность получена у варианта с концентрацией 0,4% – 257,4 г/м2, это обусловлено массой 1000 семян 5,67 грамм и продуктивной кустистостью 4,04; при экспозиции 8 часов наибольшая урожайность заметна у концентраций 0,1% и составила – 285,3 г/м2 и при 12 часах с концентрацией 0,4% – 275,1 г/м2.

Таким образом, отмечено, что чем больше продолжительность выдержки семян мутагеном, тем короче период вегетации. По результатам фенологических наблюдений и оценки фенотипических признаков, выявлено что генотип PI289324 являлся наиболее отзывчивым к мутагенному действию, чем другие сорта. Хотя данный генотип относится к среднеспелой группе, но под воздействием азида натрия наблюдался значительное сокращение вегетационного периода, ускоренное созревание семян и пожелтение растений в целом. На продуктивность мутантных форм наиболее эффективно повлияла концентрация 0,4%. В ходе исследований отобранные мутантные формы могут быть использованы для создания новых сортов проса с различными хозяйственно ценными признаками. Отмеченные фенотипические изменения, полученные при обработке азидом натрия, важны как для фундаментальных, так и для прикладных исследований и является основой для дальнейших селекционных исследований.

3.2.2 Влияние азида натрия на хозяйственно-ценные признаки М2 растений в полевых условиях

Для получения и оценки модификационной изменчивости мутантных форм семена М1 поколения высевали в рядки длиной 1 м с интервалом в 15 см между ними. В течение всего вегетационного периода проводился учет фенофаз, отбор растений с заметными морфологическими и физиологическими отклонениями от исходного сорта, фиксировались показатели полевой всхожести и сохранности растений, подсчитывали количество боковых ветвей на главном стебле, пустозерность колосков у созревших метелок.

Фенологические наблюдения проводились регулярно. Началом фазы считается момент, когда она наступает у 10% растений на всей делянке, а завершение фазы фиксируется при достижении не менее 75% растений. Наблюдения за продолжительностью вегетации проса посевного, обработанного азидом натрия, показали, что в зависимости от концентрации и времени воздействия в условиях 2022 года она составила от 104 до 93 дней. По мере увеличения содержания химического мутагена в растениях отмечается сокращение периода вегетации растений на 2-5 дней по сравнению с контролем у всех трех генотипов. В результате учета фенофаз растений проса, индуцированных азидом натрия с различной концентрацией и экспозицией отмечены источники с целью создания новых исходных материалов для работы в селекции проса. Анализ вегетационного периода проса показал, что сортообразец PI289324 характеризовался более коротким вегетационным периодом при 12-й экспозиции на высоких концентрациях мутагена 0,4 и 0,5%. Разница с контролем составила 3 дня (таблица 9).

Таблица 9– Продолжительность вегетационного периода (дни) М2 растений

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентрации NaN3, % | Время обработки семян, час | | | | | |
| 4 | РК | 8 | РК | 12 | РК |
| Квартет | 0,0 | 99 | - | 99 | - | 99 | - |
| 0,1 | 99 | - | 99 | - | 99 | - |
| 0,2 | 99 | - | 99 | - | 99 | - |
| 0,3 | 99 | - | 98 | +1 | 99 | - |
| 0,4 | 99 | - | 98 | +1 | 98 | +1 |
| 0,5 | 99 | - | 98 | +1 | 98 | +1 |
| PI 289324 | 0,0 | 99 | - | 99 | - | 99 | - |
| 0,1 | 99 | - | 97 | +2 | 95 | +4 |
| 0,2 | 98 | +1 | 96 | +3 | 94 | +5 |
| 0,3 | 97 | +2 | 96 | +3 | 94 | +5 |
| 0,4 | 97 | +2 | 96 | +3 | 93 | +6 |
| 0,5 | 96 | +3 | 96 | +3 | 93 | +6 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 104 | - | 104 | - | 104 | - |
| 0,1 | 104 | - | 104 | - | 104 | - |
| 0,2 | 104 | - | 104 | - | 103 | + |
| 0,3 | 103 | +1 | 103 | +1 | 103 | +1 |
| 0,4 | 103 | +1 | 103 | +1 | 102 | +2 |
| 0,5 | 103 | +1 | 102 | +2 | 102 | +2 |
| Примечание: РК – разница от контроля | | | | | | | |

Касательно дат полного наступления различных фаз вегетации, то данный показатель напрямую был связан с метеорологическими условиями. Так фаза полных всходов была отмечена через 17-19 дней после посева, это обусловлено было малым количеством влаги в поверхностном слое почвы после весны и отсутствием осадков в период посева и начальные периода роста и развития. Безосадковый период и повышенные температуры воздуха по сравнению со среднемноголетними данными продолжались вплоть до фазы выхода в трубку, в результате первые три фазы проса посевного были очень продолжительными и растениябыли низкорослыми.

Однако, благодаря обильным и периодическим осадкам июля-августа месяцев и благоприятному температурному режиму растениям удалось воcстановить рост и развитие в дальнейшие фазы вегетации за счет потенциала проса посевного. Также это было обеспечено за счет С4 типа фотосинтеза проса, при котором растение начинает быстро расти и накапливать питательные вещества.Одним из критериев для определения реакции проса на обработку мутагеном была использована полевая всхожесть семян, что является важным показателем адаптивных свойств сельскохозяйственных культур [294].

Продуктивная кустистость на единице площади влияет на урожайность любой культуры, поэтому необходимо достичь оптимальной густоты стояния растений. Весной 2022 года условия были засушливыми, с быстрым ростом температуры, что вызвало пересыхание верхнего слоя почвы и значительно снизило полевую всхожесть семян поздних культур, включая просо, которое не переносит поздние заморозки.

Согласно результатам полевых исследовании во втором поколении исходные три образца проса Квартет, PI289324 и Павлодарское 4 на увеличение концентрации химического мутагена отвечали снижением полевой всхожести семян. Зафиксировано, что наибольшее угнетение ростовых процессов наблюдалось при высоких концентрациях 0,3; 0,4 и 0,5% мутагена и летальность растений наблюдались при максимальной экспозиции 12 часов у сортов Квартет и PI289324 (рисунок 16).

Рисунок 16 – Полевая всхожесть образцов М2поколения

У сорта PI289324 отмечена полевая всхожесть на уровне с контролем, у сорта Квартет не была ниже 50% при 4- и 8-часовой выдержках по всем концентрациям. По показателю среднее значение полевой всхожести по концентрациям выделяется экспозиция 8 часов, у которой у сорта Квартет среднее значение было - 60%, у PI289324 –72,7%, у Павлодарское 4 – 58,32, тогда как при 4-х часовой выдержке была ниже - 55,52; 57,18 и 38,52, при 12-ти часовой 14,4; 15,12 и 36,72 соответственно.Из этого следует, что оптимальной экспозицией для обработки семян проса можно считать 8 часов с концентрациями 0,1%, 0,2 и 0,3% у всех трех сортов.

В течение вегетационного периода растения проса, обработанные азидом натрия, продемонстрировали более высокую устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды, что отразилось на показателях сохранности растений. У всех трех сортообразцов в экспозициях 4 и 8 часов обработанные мутагеном в концентрации 0,1 и 0,2% гибель растений была незначительной и варьировала в пределах 0-11,8%, при экспозиции 12 часов более выраженные адаптационные свойства к факторам среды продемонстрировали растения с концентрациями 0,1% по трем сортам, при 0,2% только у сортообразца Квартет (рисунок 17).

Рисунок 17 – Сохранностьрастений мутантных форм проса поколения М2

Полученные данные свидетельствуют о том, что более высокие концентрации мутагена значительно снижают сохранность растений, однако способствуют ослаблению отрицательного воздействия неблагоприятных факторов в период вегетации. Сохранность растений проса в эксперименте варьировала в зависимости от концентрации мутагена, времени экспозиции и обрабатываемого сорта, и находилась в пределах определенных показателей 51,7-96,6% по отношению к контролю. Наименьшая сохранность составила на вариантах опыта, где семена были обработаны 0,5% концентрацией мутагена при 12 часах выдержки. Таким образом, полученные данные указывают на то, что более высокие концентрации мутагена существенно снижают сохранность растений.

Основным показателем при оценке образцов проса является продуктивность. Она полностью отражает все биологические особенности образца и его отношения к условию возделывания. Для оценки продуктивности сортообразцов в течение исследуемых лет проводился структурный анализ снопового материала.Одним из важных критериев эффективности действия мутагенов является изменение морфометрических показателей растений в первом мутантном поколении. Проведенный нами последующий структурный анализ растений показывает, что увеличение концентрации химического мутагена и различные времени экспозиции не оказали существенного влияния на высоту растений и длину метелки М2 растений (таблица 10)

Таблица 10 – Морфометрический и структурный анализ образцов М2 поколения проса

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Наименованиесорта | Концентрация, % | Экспозиция, час | Высотарастений, см | Длина метелки, см | Продуктивнаякустистость | Масса семян  с метелки, г | Масса 1000 семян, г |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 1 | Квартет | 0,0 | 4 | 87,1 | 22,7 | 1,8 | 1,10 | 6,8 |
| 2 | 0,1 | 82,7 | 14,2 | 1,8 | 1,22 | 6,5 |
| 3 | 0,2 | 99,5 | 24,6 | 1,7 | 1,86 | 5,9 |
| 4 | 0,3 | 89,2 | 24,0 | 2,0 | 1,86 | 6,7 |
| 5 | 0,4 | 82,8 | 24,0 | 1,9 | 2,00 | 5,9 |
| 6 | 0,5 | 92,5 | 24,2 | 1,8 | 1,10 | 6,1 |
| 7 | PI289324 | 0,0 | 4 | 95,4 | 28,8 | 1,4 | 2,10 | 6,1 |
| 8 | 0,1 | 82,1 | 15,0 | 2,0 | 0,98 | 5,5 |
| 9 | 0,2 | 77,2 | 17,1 | 1,9 | 1,15 | 5,8 |
| 10 | 0,3 | 107,0 | 30,9 | 1,8 | 2,48 | 6,0 |
| 11 | 0,4 | 97,0 | 29,5 | 1,9 | 2,50 | 6,1 |
| 12 | 0,5 | 103,0 | 29,4 | 2,0 | 2,80 | 5,4 |
| 13 | Павлодарское 4 | 0,0 | 4 | 88,1 | 21,1 | 1,6 | 1,10 | 6,8 |
| 14 | 0,1 | 77,0 | 13,8 | 2,3 | 1,22 | 5,8 |
| 15 | 0,2 | 86,6 | 23,5 | 2,8 | 1,86 | 6,5 |
| 16 | 0,3 | 89,9 | 23,1 | 2,1 | 1,86 | 7,0 |
| 17 | 0,4 | 89,4 | 20,3 | 2,0 | 2,00 | 6,9 |
| 18 | 0,5 | 87,6 | 21,5 | 2,1 | 1,10 | 6,8 |
| 19 | Квартет | 0,0 | 8 | 95,4 | 22,4 | 2,0 | 2,14 | 6,6 |
| 20 | 0,1 | 92,0 | 24,5 | 2,1 | 2,53 | 6,5 |
| 21 | 0,2 | 88,6 | 16,8 | 2,0 | 1,70 | 6,0 |
| 22 | 0,3 | 83,7 | 14,7 | 3,8 | 0,58 | 6,4 |
| 23 | 0,4 | 93,8 | 24,5 | 2,2 | 2,10 | 6,6 |
| 24 | 0,5 | 84,5 | 21,5 | 2,3 | 2,00 | 6,3 |

Продолжение таблицы 10

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 25 | PI289324 | 0,0 | 8 | 101,5 | 33,4 | 1,1 | 1,88 | 6,2 |
| 26 | 0,1 | 91,0 | 29,0 | 1,6 | 1,23 | 5,9 |
| 27 | 0,2 | 74,8 | 16,2 | 2,2 | 1,50 | 5,4 |
| 28 | 0,3 | 69,3 | 26,4 | 1,8 | 1,10 | 5,5 |
| 29 | 0,4 | 63,5 | 15,5 | 2,0 | 0,96 | 4,5 |
| 30 | 0,5 | 82,5 | 15,3 | 1,6 | 1,20 | 5,5 |
| 31 | Павлодарское 4 | 0,0 | 8 | 88,5 | 22,1 | 1,6 | 2,20 | 6,9 |
| 32 | 0,1 | 79,3 | 22,6 | 1,0 | 0,63 | 6,3 |
| 33 | 0,2 | 87,6 | 21,4 | 2,2 | 1,90 | 7,3 |
| 34 | 0,3 | 77,4 | 33,6 | 1,1 | 2,21 | 5,7 |
| 35 | 0,4 | 84,8 | 20,4 | 1,6 | 1,60 | 6,7 |
| 36 | 0,5 | 83,1 | 21,8 | 2,5 | 1,35 | 6,5 |
| 37 | Квартет | 0,0 | 12 | 95,4 | 22,4 | 1,4 | 2,00 | 6,6 |
| 38 | 0,1 | 88,8 | 22,0 | 1,4 | 0,66 | 7,0 |
| 39 | 0,2 | 57,6 | 19,7 | 1,6 | 1,10 | 6,9 |
| 40 | 0,3 | 86,0 | 18,9 | 2,5 | 1,30 | 7,0 |
| 41 | 0,4 | 96,4 | 22,6 | 3,0 | 4,37 | 5,7 |
| 42 | 0,5 | 91,7 | 21,9 | 1,5 | 1,43 | 7,2 |
| 43 | PI289324 | 0,0 | 12 | 95,4 | 28,8 | 1,5 | 2,12 | 6,1 |
| 44 | 0,1 | 64,8 | 15,5 | 2,8 | 1,25 | 5,3 |
| 45 | 0,2 | 79,5 | 24,0 | 3,8 | 0,62 | 4,9 |
| 46 | 0,3 | 74,9 | 17,9 | 2,0 | 1,17 | 5,6 |
| 47 | 0,4 | 73,7 | 19,2 | 2,3 | 1,20 | 4,0 |
| 48 | 0,5 | 74,6 | 15,8 | 1,6 | 0,48 | 5,2 |
| 49 | Павлодарское 4 | 0,0 | 12 | 88,5 | 22,1 | 1,6 | 2,10 | 6,9 |
| 50 | 0,1 | 75,0 | 24,0 | 2,0 | 1,37 | 5,5 |
| 51 | 0,2 | 91,7 | 24,6 | 2,4 | 2,06 | 6,5 |
| 52 | 0,3 | 80,5 | 22,9 | 1,8 | 1,55 | 6,3 |
| 53 | 0,4 | 82,9 | 23,4 | 1,8 | 1,48 | 5,7 |
| 54 | 0,5 | 81,4 | 21,4 | 1,7 | 1,69 | 6,0 |

Отбор желаемых мутантных вариантов происходит путем скрининга на основе их фенотипических характеристик. По сравнению с генотипическим отбором, фенотипический отбор требует больше времени и специализированных навыков[250]. Согласно полученным данным, небольшое отличие наблюдалось в вариантах с экспозицией 4 часа, в которых обработанные растения были выше и метелки длиннее по сравнению с контролем.

По массе 1000 семян идет небольшое снижение при 0,1-0,2% концентрации при 4 и 12 часовых экспозициях у образцаPI289324 и при 0,1; 0,4% Павлодарское 4, тогда как при 8 часовой обработке данный показатель структуры был на уровне у сорта Квартет при 0,1% составила 6,5 гр. и выше у Павлодарское 4 при 0,2% - 7,3 гр., по сравнению с контролем, который составил 6,6 и 6,9 г соответственно, что непосредственно отразилось на урожайности (рисунок 18).

Рисунок 18 –Продуктивность растений М2поколения

В результате большей массы и размера семян, а также кустистости и из-за меньшей полевой всхожести отмечена продуктивность была на уровне с контролем и выше при экспозиции 4 часа у сорта Квартет при 0,2%, 0,3%, 0,4% и составила 430,0г/м2, 427,1г/м2 и 432,7г/м2 соответственно. у сортообразцаPI289324 при концентрации 0,4% - 736,5г/м2 и при 0,5% 610,4г/м2, у сорта Павлодарское 4 при 0,1% - 563,4 г/м2; при 8 часовой экспозиции у сорта Квартет при концентрации 0,4% - 651,6 г/м2, при 0,5% - 64,4%, у PI289324 при 0,1% - 37,0 г/м2, при 0,2% - 47,8 г/м2и у сорта Павлодарское 4 при 0,2% - 60,1г/м2. При 12-часовой обработке урожанойсть мутантных форм была ниже или на уровне с контрольными образцами.

Для выявления значимой корреляционной связи между количественными признаками в зависимости от концентрации мутагена и времени выдержки был проведен корреляционный анализ. В результате анализа полученных данных, выявлена высокая положительная корреляция между полевой всхожестью (r=0,77),продуктивной кустисттостьюи массой семян с метелки (0,70) с урожайностью (таблица 11).

Таблица 11–Корреляционная связь между урожайностью и структурными показателями растений проса М2

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Свойства и признаки | Корреляционная зависимость  с продуктивностью | | |
| слабая | средняя | сильная |
| Полевая всхожесть, % | - | - | 0,77 |
| Сохранность растений, % | - | 0,58 | - |
| Продуктивная кустистость | - | - | 0,70 |
| Высота растений, см | - | 0,43 | - |
| Количество семян с растений, шт | 0,18 | - | - |
| Масса семян с метелки, г | - | - | 0,70 |
| Масса 1000 семян, г | - | 0,36 | - |

По результатам расчета можно отметить, что такие показатели как сохранность, высота растений и масса 1000 семян имели среднюю корреляционную зависимость, тогда как количество семянс растения имело слабое влияние на урожайность.

Таким образом, влияние азида натрия на структурные показатели, таких как продуктивная кустистость,количество семян с растений, масса семян с метелки, масса 1000 семян, и урожайность растений М1 и М2 поколений показали зависимость от концентрациимутагена и времени обработки. Больше скороспелых мутаций былополученоподвоздействиемвысоких концентрации 0,4-0,5% мутагена при 12- и 24-часовой обработках. Данные скороспелые формыбыли отобраны для дальнейшей работы, представляющие селекционныйинтерес.

**3.3 Влияние колхицина на хозяйственно-ценные признаки полученных мутантных форм М1-М2 поколений**

3.3.1 Оценка влияния колхицина на хозяйственно-ценные признаки М1растений

В исследованиях замачивание семян в растворе колхицина различной концентрации (от 0,04% до 0,1%) в течение 6, 12 и 24 часов влияло на процент всхожести семян в полевых условиях. Все растения, обработанные колхицином, существенно отличались от контрольных растений по всхожести. Влияние колхицина на полевую всхожесть оценивали на ранней стадии онтогенеза. Процент всхожести семян поколения М1 снижался с увеличением концентрации колхицина и продолжительности обработки. Средние показатели полевой всхожести (%) М1поколений генотипов просо, подверженных воздействию различных концентраций и времени обработки колхицином, приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Полевая всхожесть (%) генотипов проса в зависимости от концентрации колхицина и экспозиции обработки для поколения М1

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Квартет | | | | | |
| Экспозиция обработки, час | Концентрации колхицина, % | | | | |
| 0,0 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| 6 | 70,6±2,2 | 53,2±2,4 | 50,6±2,2 | 43,2±1,9 | 20,0±2,6 |
| 12 | 69,2±2,1 | 58,0±1,8 | 59,0±2,2 | 43,0±1,9 | 26,0±1,5 |
| 24 | 69,0±1,6 | 43,0±2,2 | 35,0±1,9 | 30,0±1,7 | 30,0±2,0 |
| PI289324 | | | | | |
| Экспозиция обработки, час | Концентрации колхицина, % | | | | |
| 0,0 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| 6 | 68,8±2,2 | 57,0±1,8 | 61,0±2,4 | 56,2±2,3 | 33,4±1,6 |
| 12 | 73,0±1,9 | 65,6±2,2 | 61,0±2,0 | 65,4±1,7 | 42,0±1,5 |
| 24 | 68,0±1,6 | 47,0±1,7 | 43,0±2,0 | 37,0±1,8 | 18,0±2,3 |
| Павлодарское 4 | | | | | |
| Экспозиция обработки, час | Концентрации колхицина, % | | | | |
| 0,0 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| 6 | 69,4±1,8 | 55,2±2,0 | 58,8±2,3 | 53,8±1,7 | 42,4±2,0 |
| 12 | 71,0±2,2 | 58,4±1,6 | 43,0±1,8 | 37,6±2,8 | 32,0±1,7 |
| 24 | 68,0±2,1 | 44,0±2,2 | 36,6±2,0 | 33,8±2,2 | 25,0±2,4 |

Результаты показывают, что полевая всхожесть снижается под действием колхицина. Самый низкий процент всхожести был обнаружен при концентрации 0,1% с экспозициейвремени 12 и 24 часах. Наибольший процент всхожести составил 0,04% при продолжительности экспозиции 4 часа для поколений М1.Наибольшее снижение полевой всхожести наблюдалось при высоких концентрациях мутагена 0,08 и 0,1% при максимальной экспозиции обработки 24 часа. Так, например, у обработанных мутагенным веществом сортообразцов Квартет и PI289324 полевая всхожесть при невысоких концентрациях 0,04 и 0,06% мутагена при 6 и 12 часах экспозициях составила не менее 50%, тогда как при 24 часовой обработке была не выше 47%. У сорта Павлодарское 4 в зависимости от экспозиций полевая всхожестьбыла от 2,8 до 6,8 раза ниже. Наиболее оптимальными концентрациями колхицина по показателю полевая всхожесть являются 0,04%, 0,06% и 0,08% концентрации с 12-ти часовой экспозицией обработки.При возрастании числа растений на единице площади наблюдалось значительное снижение кустистости.

Всего изучено семь агрономических показателей, связанных с периодом вегетации и элементами урожайности: сохранность растений, вегетационный период, продуктивная кустистость, масса семян с метелки, масса 1000 семян, урожайность зерна (таблица 13).

Таблица 13 – Агрономические свойства и хозяйственно-ценные признаки проса в зависимости от концентрации и продолжительности обработки колхицином в поколении М1

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Время  обработки, час | Показатели | Концентрацииколхицина, % | | | | |
| 0% | 0,04% | 0,06% | 0,08% | 0,1% |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Квартет | | | | | | |
| 6 | Сохранностьрастений, % | 64,0±1,3 | 49,6±1,1 | 46,4±1,1 | 38,8±2,0 | 16,8±2,1 |
| Пеиод вегетации, дни | 89,0±1,8 | 89,0±1,4 | 89,0±2,3 | 88,0±1,8 | 88,0±2,0 |
| Продуктивнаякустистость | 1,5±0,1 | 2,2±0,1 | 2,0±0,3 | 2,4±0,1 | 2,6±0,2 |
| Массасемян с метелки, г | 1,2±0,3 | 1,3±0,1 | 1,3±0,1 | 1,0±0,3 | 1,2±0,4 |
| Масса 1000 семян, г | 4,8±0,4 | 4,8±0,1 | 4,6±0,3 | 4,5±0,4 | 4,2±0,2 |
| Урожайность, г/м2 | 288,2±1,3 | 368,4±2,4 | 306,1±2,0 | 233,8±1,7 | 140,5±,11 |
| 12 | Сохранностьрастений, % | 62,0±2,8 | 53,2±3,4 | 52,8±1,7 | 38,4±3,3 | 22,4±1,7 |
| Пеиод вегетации, дни | 89,0±2,8 | 88,0±1,4 | 88,0±3,2 | 86,0±1,4 | 86,0±2,5 |
| Продуктивнаякустистость | 1,6±0,4 | 1,9±0,3 | 2,1±0,3 | 2,1±0,1 | 2,3±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 1,3±0,1 | 1,2±0,3 | 1,4±0,3 | 1,0±0,3 | 2,8±0,1 |
| Масса 1000 семян, г | 4,7±0,3 | 4,4±0,1 | 3,4±0,1 | 4,1±0,4 | 5,2±0,4 |
| Урожайность, г/м2 | 337,4±2,1 | 303,7±1,8 | 413,5±2,2 | 218,7±2,1 | 366,0±3,3 |
| 24 | Сохранностьрастений, % | 61,2±2,8 | 37,6±3,1 | 32,0±3,0 | 25,6±3,5 | 24,0±4,1 |
| Пеиод вегетации, дни | 89,0±1,7 | 83,0±1,6 | 83,0±1,6 | 83,0±1,8 | 82,0±1,7 |
| Продуктивнаякустистость | 1,2±0,04 | 2,1±0,07 | 2,1±0,06 | 2,1±0,06 | 2,0±0,07 |
| Массасемян с метелки, г | 2,0±0,07 | 1,8±0,06 | 1,7±0,1 | 1,7±0,09 | 1,5±0,06 |
| Масса 1000 семян, г | 4,6±0,3 | 4,5±0,4 | 4,7±0,3 | 4,6±0,25 | 4,3±0,25 |
| Урожайность, г/м2 | 3764±1,2 | 361,7±1,0 | 286,2±1,1 | 239,9±0,7 | 180,7±0,7 |
| PI289324 | | | | | | |
| 6 | Сохранностьрастений, % | 62,8±1,7 | 52,0±2,7 | 55,6±3,5 | 49,6±2,4 | 29,6±1,1 |
| Пеиод вегетации, дни | 81,0±1,6 | 79,0±2,8 | 78,0±1,4 | 78,0±1,8 | 78,0±1,4 |
| Продуктивнаякустистость | 1,5±0,1 | 1,6±0,3 | 1,8±0,06 | 1,7±0,1 | 2,4±0,2 |
| Массасемян с метелки, г | 1,4±0,1 | 1,8±0,1 | 1,7±0,09 | 1,9±0,4 | 2,1±0,1 |
| Масса 1000 семян, г | 5,3±0,1 | 5,2±0,3 | 4,8±0,25 | 5,0±0,3 | 5,2±0,1 |
| Урожайность, г/м2 | 351,4±2,3 | 374,8±1,6 | 435,9±0,7 | 401,2±2,1 | 373,4±1,8 |

Продолжение таблицы 13

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 12 | Сохранностьрастений, % | 65,6±2,1 | 58,0±0,7 | 54,8±1,1 | 56,0±1,0 | 37,2±0,8 |
| Пеиод вегетации, дни | 81,0±1,6 | 79,0±2,8 | 78,0±1,4 | 78,0±1,8 | 78,0±1,4 |
| Продуктивнаякустистость | 1,3±0,1 | 1,7±0,1 | 1,8±0,1 | 1,6±0,2 | 1,8±0,3 |
| Массасемян с метелки, г | 1,7±0,2 | 2,0±0,2 | 1,9±0,3 | 1,8±0,1 | 1,7±0,1 |
| Масса 1000 семян, г | 5,7±0,1 | 4,7±0,1 | 4,4±0,4 | 4,5±0,3 | 5,4±0,1 |
| Урожайность, г/м2 | 369,4±1,6 | 4935±2,7 | 481,1±2,7 | 414,5±0,8 | 288,7±0,7 |
| 24 | Сохранностьрастений, % | 60,8±1,1 | 40,4±1,8 | 38,0±1,0 | 30,0±1,0 | 14,8±1,6 |
| Пеиод вегетации, дни | 81,0±1,8 | 76,0±1,7 | 75,0±1,4 | 75,0±1,8 | 75,0±2,8 |
| Продуктивнаякустистость | 1,1±0,3 | 1,9±0,3 | 1,8±0,1 | 2,1±0,1 | 2,0±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 2,2±0,2 | 1,8±0,1 | 1,9±0,3 | 2,4±0,1 | 2,2±0,3 |
| Масса 1000 семян, г | 5,9±0,2 | 6,6±0,3 | 5,5±0,6 | 5,3±0,7 | 5,7±0,4 |
| Урожайность, г/м2 | 368,8±1,3 | 345,1±2,4 | 328,7±2,7 | 387,8±2,3 | 163,7±1,8 |
| Павлодарское 4 | | | | | | |
| 6 | Сохранностьрастений, % | 65,6±1,1 | 50,8±0,8 | 53,6±2,1 | 49,2±1,0 | 38,0±0,7 |
| Пеиод вегетации, дни | 92,0±1,4 | 92,0±1,4 | 92,0±1,6 | 91,0±1,8 | 91,0±2,8 |
| Продуктивнаякустистость | 1,6±0,1 | 2,0±0,3 | 2,1±0,1 | 2,3±0,2 | 2,3±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 1,3±0,3 | 1,4±0,1 | 1,5±0,2 | 1,3±0,1 | 1,2±0,2 |
| Масса 1000 семян, г | 4,9±0,4 | 4,57±0,1 | 4,35±0,1 | 4,81±0,3 | 4,5±0,1 |
| Урожайность, г/м2 | 349,4±2,7 | 356,7±0,7 | 436,2±1,6 | 382,3±0,8 | 273,6±2,7 |
| 12 | Сохранностьрастений, % | 64,8±2,0 | 54,0±1,1 | 41,2±1,7 | 32,8±2,7 | 28,0±2,4 |
| Пеиод вегетации, дни | 92,0±1,7 | 89,0±2,9 | 88,0±3,1 | 88,0±2,8 | 88,0±2,5 |
| Продуктивнаякустистость | 1,3±0,1 | 2,0±0,2 | 2,3±0,1 | 2,4±0,3 | 2,4±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 2,0±0,3 | 1,62±0,1 | 1,87±0,1 | 2,1±0,1 | 2,9±0,4 |
| Масса 1000 семян, г | 4,7±0,4 | 4,2±0,1 | 4,6±0,1 | 4,7±0,3 | 6,4±0,3 |
| Урожайность, г/м2 | 421,9±1,6 | 437,7±1,8 | 443,2±2,3 | 413,8±1,6 | 487,0±2,1 |
| 24 | Сохранностьрастений, % | 63,2±2,0 | 38,8±2,4 | 32,0±1,6 | 30,4±1,1 | 21,2±1,4 |
| Пеиод вегетации, дни | 92,0±1,4 | 87,0±2,1 | 87,0±3,5 | 86,0±1,8 | 86,0±1,4 |
| Продуктивнаякустистость | 1,4±0,1 | 2,0±0,3 | 2,3±0,1 | 3,0±0,3 | 1,6±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 1,7±0,2 | 1,7±0,1 | 1,6±0,3 | 2,1±0,2 | 2,0±0,4 |
| Масса 1000 семян, г | 4,8±0,3 | 4,4±0,4 | 4,4±0,1 | 4,7±0,2 | 5,1±0,3 |
| Урожайность, г/м2 | 383,3±2,2 | 343,4±1,5 | 300,8±1,6 | 488,7±1,3 | 170,7±1,3 |

Данные, представленные в таблице 13, показали, что существует широкий диапазон вариаций генотипов на различные концентрации и экспозиции обработок колхицином.Обработка колхицином привела к более низкому уровню сохранности растений, чем контроль. Наименьшая сохранность растений наблюдалась при 24-часовой обработке при концентрации колхицина 0,08-0,1% для растений М1. Более длительное время замачивания при самой высокой концентрации колхицина (0,08-0,1%) оказало негативное влияние на этот признак. Например, уровень сохранности растенийусорта Квартет составлял 66% у контрольных растений, а при 0,1% при 24-часовой обработке 16%. Самая высокая концентрация колхицина (0,1%) в сочетании с самым длительным временем замачивания (24 часа) приводила к наименьшему уровню сохранности для растений M1.

Вегетационный периоду растенийМ1поколения варьировал при разной мутагенной концентраций. Исследования динамики роста и развития растений проса показали значительные отклонения от контрольной группы в продолжительности вегетации первого поколения. В опытах установлено, что продолжительность вегетации, в зависимости от концентрации колхицина и времени обработки семян, варьировалась от 75 до 92 дней. При повышении концентрации наблюдалось более позднее появление всходов и начало фазы кущения. Однако фазы выметывания, цветения и созревания проходили на 2-3 дня быстрее по сравнению с контролем и низкими концентрациями. При экспозиции в 24 часа метелки созревали на 5-7 дней раньше, чем при обработке в течение 6- и 12- часов.

Сокращение продолжительности вегетационного периода проса в зависимости от времени обработки (от 6 до 24 часов) составило: у сорта Квартет - 6 дней, у PI 289324 - 3-4 дня и у Павлодарское 4 - 5 дней.

При 6-ти часовой обработке у сорта Квартет наблюдается увеличение количества продуктивной кустистости на 1 растений по мере увеличения концентрации от +0,5 до 1,1 шт.,у сортообразца PI289324 от +0,1 до 0,9 шт. и у сортообразца Павлодарское 4 от +0,4 до 0,7 шт., такая же положительная динамика отмечена у вариантов при 12-ти и 24-х часовой обработках у всех трех сортов во всех концентрациях. Также по полученным данным у сортов Квартет и Павлодарское 4 наблюдается продуктивная кустистость у обработанных вариантов в количестве 2 и более штук, тогда как у сорта PI289324 - 1 и более до 2 штук. Увеличение концентрации колхицина приводило к увеличению количества продуктивных кустов с растения в поколении М1. Концентрация колхицина 0,08-0,1% в сочетании с длительностью воздействия 6, 12 и 24 ч значительно увеличивала наблюдаемое количество продуктивных стеблей на одном растений, примерно на 25%, по сравнению с контролем. Из этого следует, что происходит удвоение хромосом с помощью колхицина, которое повлияло на увеличение количества продуктивных стеблей с растений проса в полевых условиях.

По массе семян с метелки при 6-ти и 24-х часовых обработках у всех трех сортов в вариантах при всех концентрациях, при 12-ти часовой обработке у сортов Квартет и Павлодарское 4 при концентрациях 0,04%, 0,06% и 0,08% значения незначительно колебались в пределах до ±0,55 гр. Тогда как у сорта PI289324 при 12-ти часовой выдержке семян масса семян с метелки у обработанных вариантов по мере увеличения концентрации была значительно ниже по сравнению с контролем на от -0,66 до 0,94 граммов. Стоит также отметить варианты, обработанные колхицином при экспозициях 12 часов при концентрации 0,1% у сорта Квартет, масса семян была выше, чем на контроле на +1,48 гр, у сорта Павлодарское 4 на +1,0 гр.

У М1растений наблюдались различия по некоторым агротехническим признакам, таким как масса 1000 семян, масса семян сметелки и продуктивная кустистость.

По результатам исследований растений проса первого поколения следует отметить, что масса 1000 семян у всех трех сортов при 6 часах обработки во всех концентрациях была на уровне с контролем, при 12-ти часовой экспозиций при концентрациях 0,04%, 0,06% и 0,08% масса семян была ниже контроля, тогда как при 0,1% наблюдается увеличение массы у сорта Квартет на +0,63 г., у PI289324 на +0,05 г и у Павлодарское 4 на +1,73 г., при 24-х часовой обработке отмечено незначительное повышение показателя по сравнению с контролем у сорта Квартет при концентрации 0,06% на +0,18 г, у сорта Павлодарское 4 при 0,1%-ной обработке на +0,34 г., тогда как у сорта PI289324 во всех концентрациях масса 1000 семян была выше, чем у контроля при 0,04% на +0,24 г., при 0,06% на +0,22 г., при 0,08% на +0,03 г. и при 0,1% на +0,34 г.Средняямасса 1000 семян (5,1-5,8 г) была несколько ниже у растений М1 генотипа PI289324, чем у контрольных растений (6,0-6,7 г). Наибольшая масса тысячи зерен наблюдалась у растений М1 сорта Квартет (7,2 г) при обработке 0,06% колхицином, 24-часовая экспозиция.

Эффективность урожайности растений M1поколения оценивали при различных концентрациях колхицина в сочетании со временем замачивания. Данные, представленные в таблице 13, позволяют предположить, что урожайность зерна в поколениях М1 уменьшалась с увеличением дозы колхицина (0,08-0,1%), тогда как обратное наблюдалось при концентрации 0,04-0,06% в сочетании с 12-часовым временем замачивания.

Анализируя урожайность сортов проса,можно сказать, что обработанные колхицином варианты имели продуктивность не ниже контроля. Так при 6 часовой обработке урожайность у контроля у сорта Квартет составила - 308,16 г/м2, у сорта PI289324 - 368,44 г/м2 и у сорта Павлодарское 4 - 366,44 г/м2.Тогда как у сорта Квартет продуктивность была при концентрации 0,04% - 320,04 г/м2, у сорта PI289324 при 0,06% - 404,63 г/м2 и при 0,08% - 376,02 г/м2, у сорта Павлодарское 4 при 0,06% - 400,34 г/м2.

При 12-ти часовой обработке прибавка в урожайности по отношению к контролю составила у сорта Квартет при концентрациях 0,06% +66,27 г/м2 и при 0,1% +16,29 г/м2, у сорта PI289324 при 0,04% +89,55 г/м2 и при 0,06% +45,28 г/м2, у сорта Павлодарское 4 при 0,06% +18,35 г/м2 и при 0,1% +45,88 г/м2. При 24-х часовой обработке прибавка урожая отмечена при концентрации 0,08% у сортов PI289324 +64,79 г/м2 и Павлодарское 4 0,08% +58,78 г/м2.Прибавка урожая у вышеуказанных обработанных колхицином вариантов объясняется наличием высокой продуктивной кустистости за счет полиплоидизации и меньшей полевой всхожестью, что предоставляет растениям большепространства для питания и роста.

Двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) проводили для подтверждения влияния длительности обработки и концентрации мутагена на изучаемые хозяйственно-ценные признаки М1растений. Результаты дисперсионного анализа для признаков полевая всхожесть (ПВ), сохранность растений (СР), вегетационный период (ВП), продуктивная кустистость (ПК), масса семян с метелки (МСМ), масса 1000 семян (МТС) и урожайность зерна (У) показаны в таблице 14для растений М1.

Таблица 14– Тест ANOVA для хозяйственно-ценных признаков поколения М1

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показа  тели | Времяобработки, час | | | Концентрацииколхицина, % | | | |
| 6 | 12 | 24 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| ПВ (%) | 0,894ns | 0,048\* | 0,044\* | 9,87E-06\*\*\* | 4,37E-05\*\*\* | 8,57E-06\*\*\* | 3,38E-10\*\*\* |
| СР (%) | 0,987ns | 0,031\* | 0,036\* | 2,12E-05\*\*\* | 4,39E-05\*\*\* | 3,76E-06\*\*\* | 3,90E-10\*\*\* |
| ВП (дни) | 0,494ns | 0,222ns | 0,082ns | 0,298ns | 0,225ns | 0,155ns | 0,145ns |
| ПК (штук) | 0,489ns | 0,574ns | 0,965ns | 9,59E-06\*\*\* | 1,94E-06\*\*\* | 6,65E-05\*\*\* | 1,20E-05\*\*\* |
| МСМ (г) | 0,019\* | 0,0001\*\*\* | 0,655ns | 0,813ns | 0,949ns | 0,759ns | 0,219ns |
| МТС(г) | 0,940ns | 0,225ns | 0,322ns | 0,444ns | 0,058ns | 0,083ns | 0,867ns |
| У(ц/га) | 0,088ns | 0,029\* | 0,414ns | 0,580ns | 0,584ns | 0,373ns | 0,013\* |
| Примечание: \*\*\* = Достоверно при уровне значимости 0,001; \* = Достоверно при уровне значимости 0,05, нс: P>0,05 | | | | | | | |

Результаты в таблице 14 для полевой всхожести и сохранности растений при продолжительности обработки 12 и 24 часов у растений M1 считались высокозначимыми с оценкой P <0,05. Полевая всхожесть и сохранность растений также показали значимость при всех концентрациях колхицина (0,04%, 0,06%, 0,08% и 0,1%) в поколении M1 с p<0,001. Не было выявлено значимых корреляций между вегетационным периодом и массой 1000 семян, концентрацией колхицина и продолжительностью обработки у растений M1. Масса семян с метелки также была связана с 12- и 24-часовым временем лечения и составляла 0,031 и 0,004 соответственно (P<0,05 и P<0,001).

3.3.2 Оценка влияния колхицина на хозяйственно-ценные признаки М2растений

Влияние колхицина на полевую всхожесть оценивали на ранней стадии онтогенеза. Во втором поколении наблюдалось незначительное влияние концентрации и экспозиция обработки на полевую всхожесть. Средние показатели всхожести (%) М2-поколений генотипов просоприведены в таблице 15.

Таблица 15– Полевая всхожесть М2 растений в зависимости от концентрации колхицина и экспозиции обработки

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Квартет | | | | | |
| Экспозиция обработки, час | Концентрации колхицина, % | | | | |
| 0,0 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| 6 | 75,1±2,7 | 69,6±1,9 | 68,4±1,2 | 57,2±2,4 | 32,0±1,9 |
| 12 | 74,0±1,9 | 69,6±1,1 | 54,0±3,1 | 50,7±1,7 | 32,6±1,9 |
| 24 | 78,0±1,2 | 32,3±2,4 | 29,4±1,2 | 30,3±2,1 | 21,6±1,1 |
| PI289324 | | | | | |
| Экспозиция обработки, час | Концентрации колхицина, % | | | | |
| 0,0 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| 6 | 78,9±2,5 | 70,8±1,0 | 68,74,0± | 64,4±1,5 | 52,5±1,0 |
| 12 | 81,5±1,6 | 70,2±1,6 | 64,8±1,0 | 52,3±2,7 | 27,3±1,1 |
| 24 | 73,6±1,6 | 49,4±1,3 | 32,9±1,7 | 34,0±1,2 | 27,0±1,6 |
| Павлодарское 4 | | | | | |
| Экспозиция обработки, час | Концентрации колхицина, % | | | | |
| 0,0 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| 6 | 71,7±2,3 | 72,8±1,8 | 70,2±1,7 | 51,5±1,5 | 51,6±2,2 |
| 12 | 72,3±1,1 | 88,5±1,4 | 63,6±2,1 | 52,6±2,4 | 40,3±1,5 |
| 24 | 72,8±2,7 | 48,8±2,6 | 45,6±2,0 | 49,4±1,7 | 10,2±0,9 |

Полеваявсхожесть поколений М2 была выше (71,7-81,5%), чем у М1(68,0-73,0%) под действием колхицина. В поколениях М2 средняя всхожесть составила 75,3% на контрольном образце, при 0,04% колхицина - 63,5% при 0,06-55,2%, при 0,08%-49,1% и при 0,1%-32,7%. Установлено, что длительная обработка семян колхицином приводит к снижению всхожести по сравнению с кратковременной обработкой.

Основным показателем при оценке образцов проса является продуктивность растений. Для характеристики продуктивности сортообразцов под влянияем колхицинабыл проведен анализ элементов структуры урожая образцов проса, обработанных колхицином с различными концентрациями и экспозицией (таблица 16).

Таблица 16 – Агрономические свойства и хозяйственно-ценные признаки проса в зависимости от концентрации колхицина и продолжительности обработки в поколении М2

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Время  обработки, час | Показатели | Концентрации колхицина, % | | | | |
| 0,0% | 0,04% | 0,06% | 0,08% | 0,1% |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Квартет | | | | | | |
| 6 | Сохранность растений, % | 69,6±2,0 | 56,0±2,4 | 48,0±1,6 | 52,4±1,1 | 25,2±1,4 |
| Пеиод вегетации, дни | 89,0±1,4 | 89,0±2,1 | 89,0±3,5 | 88,0±1,8 | 87,0±1,4 |
| Продуктивнаякустистость | 1,4±0,1 | 1,6±0,3 | 1,9±0,1 | 1,8±0,3 | 2,0±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 2,1±0,2 | 2,5±0,1 | 2,4±0,3 | 2,6±0,2 | 2,7±0,4 |
| Масса 1000 семян, г | 6,2±0,3 | 6,41±0,4 | 6,6±0,1 | 6,2±0,2 | 6,15±0,3 |
| Урожайность, ц/га | 51,2±2,2 | 56,0±1,5 | 54,7±1,6 | 61,3±1,3 | 34,0±1,3 |
| 12 | Сохранность растений, % | 63,2±2,0 | 56,0±1,1 | 47,2±1,7 | 62,4±2,7 | 27,2±2,4 |
| Пеиод вегетации, дни | 89,0±1,7 | 89,0±2,9 | 87,0±3,1 | 87,0±2,8 | 86,0±2,5 |
| Продуктивнаякустистость | 1,5±0,1 | 2,3±0,2 | 1,4±0,1 | 2,0±0,3 | 2,1±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 1,8±0,3 | 2,1±0,1 | 2,4±0,1 | 1,8±0,1 | 3,3±0,4 |
| Масса 1000 семян, г | 6,8±0,4 | 6,2±0,1 | 5,6±0,1 | 6,0±0,3 | 6,8±0,3 |
| Урожайность, ц/га | 42,7±1,6 | 67,6±1,8 | 39,6±2,3 | 56,2±1,6 | 47,1±2,1 |
| 24 | Сохранность растений, % | 66,0±1,3 | 24,4±1,1 | 22,0±1,1 | 23,2±2,0 | 16,0±2,1 |
| Пеиод вегетации, дни | 89,0±1,8 | 87,0±1,4 | 87,0±2,3 | 84,0±1,8 | 84,0±2,0 |
| Продуктивнаякустистость | 1,6±0,1 | 2,4±0,1 | 2,2±0,3 | 2,0±0,1 | 1,7±0,2 |
| Массасемян с метелки, г | 1,7±0,3 | 1,7±0,1 | 1,3±0,1 | 1,7±0,3 | 2,3±0,4 |
| Масса 1000 семян, г | 6,0±0,4 | 6,6±0,1 | 7,2±0,3 | 6,2±0,4 | 6,2±0,2 |
| Урожайность, ц/га | 44,9±1,3 | 24,9±2,4 | 15,7±2,0 | 19,7±1,7 | 15,6±,11 |
| PI289324 | | | | | | |
| 6 | Сохранность растений, % | 78,4±3,4 | 60,8±2,8 | 60,4±3,3 | 58,4±1,7 | 46,0±1,7 |
| Пеиод вегетации, дни | 81,0±1,4 | 80,0±1,4 | 80,0±1,6 | 80,0±1,8 | 79,0±2,8 |
| Продуктивнаякустистость | 1,2±0,3 | 1,8±0,4 | 1,8±0,1 | 2,1±0,3 | 2,2±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 2,5±0,3 | 2,0±0,1 | 2,3±0,3 | 1,9±0,3 | 2,4±0,1 |
| Масса 1000 семян, г | 6,1±0,1 | 5,8±0,3 | 6,4±0,4 | 5,6±0,1 | 5,8±0,4 |
| Урожайность, ц/га | 58,8±1,8 | 54,7±2,1 | 62,5±2,1 | 58,3±2,2 | 60,7±3,3 |

Продолжение таблицы 16

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 7 | 8 |
| 12 | Сохранность растений, % | 64,4±1,1 | 62,0±0,8 | 60,0±2,1 | 42,8±1,0 | 8,4±0,7 |
| Пеиод вегетации, дни | 81,0±1,4 | 80,0±1,4 | 79,0±1,6 | 78,0±1,8 | 78,0±2,8 |
| Продуктивнаякустистость | 1,4±0,1 | 1,6±0,3 | 1,8±0,1 | 1,7±0,2 | 1,4±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 2,6±0,3 | 2,5±0,1 | 1,9±0,2 | 1,7±0,1 | 1,1±0,2 |
| Урожайность, ц/га | 58,6±2,7 | 62,0±0,7 | 51,3±1,6 | 30,9±0,8 | 3,2±2,7 |
| 24 | Сохранность растений, % | 64,8±3,0 | 37,2±2,5 | 23,6±3,5 | 24,0±3,1 | 18,8±2,0 |
| Пеиод вегетации, дни | 81,0±1,4 | 78,0±2,8 | 78,0±1,4 | 75,0±1,4 | 75,0±2,8 |
| Продуктивнаякустистость | 1,5±0,3 | 1,6±0,1 | 3,2±0,3 | 2,0±0,1 | 2,0±0,3 |
| Массасемян с метелки, г | 2,2±0,3 | 0,7±0,1 | 1,4±0,1 | 1,3±0,2 | 0,8±0,1 |
| Масса 1000 семян, г | 6,0±0,3 | 5,9±0,1 | 5,1±0,3 | 6,0±0,4 | 5,5±0,1 |
| Урожайность, ц/га | 53,5±2,3 | 10,4±2,3 | 26,4±1,6 | 15,6±4,5 | 7,5±1,6 |
| Павлодарское 4 | | | | | | |
| 6 | Сохранность растений, % | 60,8±3,4 | 63,2±3,5 | 62,0±3,1 | 44,0±2,5 | 44,8±2,1 |
| Сохранность растений, % | 92,0±1,6 | 92,0±1,6 | 91,0±1,7 | 91,0±1,7 | 90,0±1,7 |
| Пеиод вегетации, дни | 1,4±0,07 | 1,3±0,06 | 2,0±0,09 | 1,8±0,1 | 2,3±0,12 |
| Продуктивнаякустистость | 2,0±0,1 | 1,2±0,06 | 1,5±0,1 | 1,1±0,06 | 1,6±0,1 |
| Массасемян с метелки, г | 6,4±0,31 | 5,5±0,2 | 5,7±0,2 | 6,2±0,3 | 6,5±0,3 |
| Масса 1000 семян, г | 42,6±0,6 | 24,6±0,6 | 46,5±0,7 | 21,8±0,4 | 41,2±0,7 |
| 12 | Урожайность, ц/га | 58,4±3,5 | 74,8±4,1 | 52,0±2,8 | 46,4±3,0 | 49,6±3,1 |
| Сохранность растений, % | 92,0±1,8 | 90,0±1,7 | 89,0±1,7 | 88,0±1,6 | 88,0±1,6 |
| Пеиод вегетации, дни | 1,4±0,06 | 1,5±0,07 | 2,3±0,04 | 1,8±0,06 | 2,5±0,07 |
| Продуктивнаякустистость | 2,4±0,09 | 1,6±0,06 | 2,2±0,07 | 2,8±0,1 | 1,8±0,06 |
| Массасемян с метелки, г | 5,5±0,25 | 5,7±0,25 | 5,7±0,3 | 6,4±0,3 | 7,1±0,4 |
| Масса 1000 семян, г | 49,1±0,7 | 44,9±0,7 | 65,8±1,2 | 58,5±1,1 | 55,8±1,0 |
| 24 | Урожайность, ц/га | 60,0±1,6 | 33,6±1,8 | 34,0±1,0 | 40,4±1,6 | 30,4±1,0 |
| Сохранность растений, % | 92,0±2,8 | 88,0±1,7 | 88,0±1,8 | 86,0±1,4 | 86,0±1,4 |
| Пеиод вегетации, дни | 1,8±0,1 | 1,1±0,3 | 1,5±0,1 | 2,2±0,3 | 1,5±0,1 |
| Продуктивнаякустистость | 1,9±0,3 | 1,9±0,1 | 1,6±0,1 | 3,1±0,1 | 3,2±0,3 |
| Массасемян с метелки, г | 6,9±0,4 | 6,1±0,3 | 6,3±0,7 | 6,8±0,1 | 7,2±0,6 |
| Урожайность, ц/га | 51,3±1,8 | 17,6±2,4 | 20,4±2,3 | 68,9±3,8 | 36,5±2,7 |

Результаты, полученные в М2 поколений,закрепилизначительное мутагенное воздействие на вегетационный период для всех генотипов. В М2 поколении период вегетациибыл отмечен наиболее короткий период при 12- и 24-часовой экспозиций (рисунок 19) обработки и высоких концентрациях(0,04% и 0,06%).



Рисунок 19 – Влияние экспозицийобработки колхицина на вегетационный период поколения М2

На рисунке 19 видно, что вегетационный период просо у контрольных растений был более длительным по сравнению с растениями, обработанными колхицином.С увеличением концентрации мутагена вегетационный периодсокращался на 4-5 дней(рисунок 20).

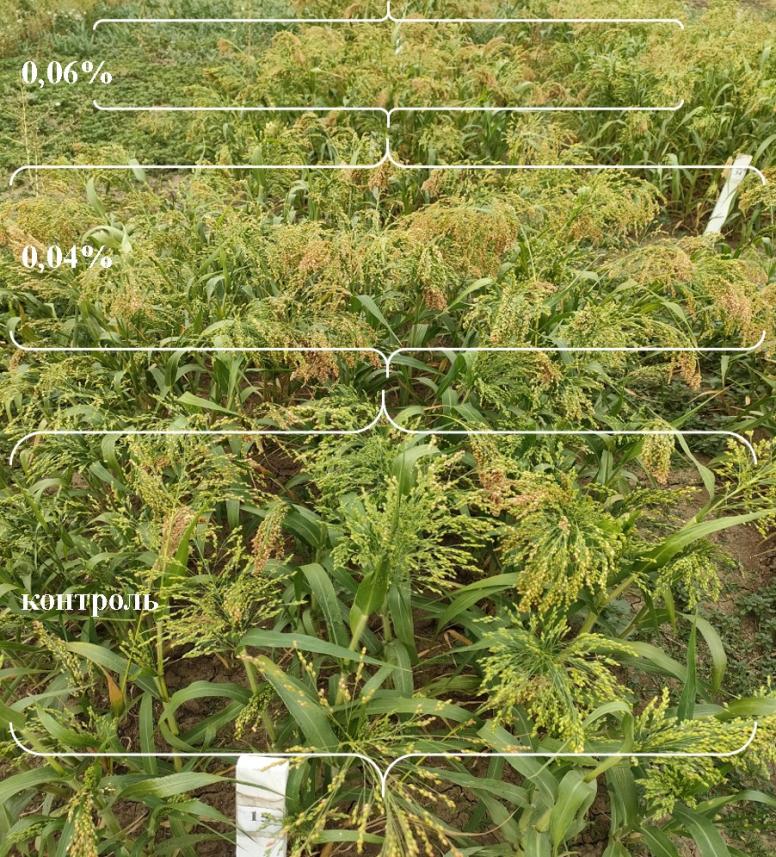


Рисунок 20 – Влияние различных концентрации колхицина на вегетационный период поколения М2

Среднее значение периода вегетации генотипа PI289324 было ниже, чем у сортов Павлодарское 4 и Квартет. Значения продолжительности вегетационного признака варьировали от 78 до 92 дней.Наиболее высокая концентрация колхицина в сочетании с продолжительностью воздействия 6, 12 и 24 часа привела к повышению количествапродуктивной кустистости у М2 растений.

Масса 1000 семян была выше у поколений M2, чем у M1, независимо от концентрации колхицина и продолжительности воздействия.Наибольшие значения массы 1000 семян составили +3,3 г у растений М2сорта Квартет при обработке 0,1% колхицина, +3,2 г у сорта Павлодарское 4 при 0,1% колхицина и 24-часовой экспозиции, +2,5 г у сортобразца PI289324 при 0,04% колхицина, 12-часовой экспозиции. В целом обработанные растения М2 преобладали над контролем по генотипу М2 Павлодарское 4 после 24-часовой обработки и по сорту Квартет при всех концентрациях и длительности экспозиции, за исключением концентрации 0,06%, обработка 24 ч. Что касается M2растений сортообразца PI289324, масса 1000 семян для контрольного варианта была выше, чем для обработанного образца.

Что касается продуктивности растений, то наибольшее значение наблюдалось у генотипа Квартет (67,6 ц/га) при концентрации 0,04%, у Павлодарского 4 (65,8 ц/га) при концентрации 0,06% и у PI289324 (62,0 ц/га) при концентрации 0,04% при 12-часовом времени обработки. Наименьшее значение по продуктивности было у М2растений генотипа Квартет (15,6 ц/га) на 0,1% и у Павлодарского 4 (17,6 ц/га) при 0,04%, время обработки 24 ч, а у PI289324 (3,2 ц/га) при концентрации 0,1%, экспозиция 12 ч.

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа ANOVAдля таких свойств какполевая всхожесть (ПВ) исохранность растений (СР) и признаков: вегетационный период (ВП), продуктивная кустистость (ПК), масса семян с метелки (МСМ), масса 1000 семян (МТС) и урожайность семян показаны в таблице 17для растений М1.

Таблица17 – Тест ANOVA для хозяйственно-ценных признаков поколения М2

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Времяобработки, час | | | Концентрацииколхицина, % | | | |
| 6 | 12 | 24 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| ПВ (%) | 0,408ns | 0,018\* | 0,001\*\*\* | 0,073ns | 0,002\*\* | 3,57E-06\*\*\* | 1,25E-07\*\*\* |
| СР (%) | 0,497ns | 0,031\* | 0,004\*\* | 0,109ns | 0,005\*\* | 0,0006\*\*\* | 1,46E-05\*\*\* |
| ВП (дни) | 0,297ns | 0,359ns | 0,437ns | 0,136ns | 0,538ns | 0,037\* | 0,025\* |
| ПК | 1,000ns | 0,595ns | 0,599ns | 0,403ns | 0,029\* | 0,0003\*\*\* | 0,012\* |
| МСМ (г) | 0,602ns | 0,157ns | 0,299ns | 0,338ns | 0,373ns | 0,810ns | 0,866ns |
| МТС(г) | 0,814ns | 0,550ns | 0,352ns | 0,297ns | 0,609ns | 0,148ns | 0,422ns |
| УЗ(ц/га) | 0,502ns | 0,001\*\*\* | 0,007\*\* | 0,601ns | 0,795ns | 0,508ns | 0,450ns |
| Примечание: \*\*\* = Достоверно при уровне значимости 0,001; \*\* = Достоверно при уровне значимости 0,01; \* = Достоверно при уровне значимости 0,05, ns: P>0,05 | | | | | | | |

Существовала связь между полевой всхожестью и сохранностью растений и длительностью обработки 12 и 24 часов у растений M2, значение P составляло <0,05 и <0,01-0,001 соответственно. Кроме того, было обнаружено, что на УЗ также влияет продолжительность обработки 12 и 24 часа со значением P <0,001 и <0,01 соответственно. Анализ ANOVA показал, что полевая всхожесть и сохранность растений тесно связаны с концентрациями колхицина 0,06 (P<0,01), 0,08% и 0,1% (P<0,001). Концентрации 0,08% и 0,1% показали значительную связь с периодом вегетации, значение P составляло P<0,05. Концентрации 0,06%, 0,08% и 0,1% были связаны с продуктивной кустистостью, P<0,05, P<0,001 и <0,01 соответственно[255].

Таким образом, в ходе проведенных исследований по оценке влияния колхицина на хозяйственно-ценные признаки М1-М2 растений выявлены мутантные формы по скороспелости, высоте растений, продуктивной кустистости и продуктивности[295]. Установлено, что мутантные формы созревают на 5-7 дней раньше по сравнению с контролем при экспозиции 24 часа.

**3.4 Активность фотосинтетических пигментов растений проса под воздействием мутагенов в поколениях М1-М2**

Важная роль пигментов в процессе фотосинтеза, особенно хлорофилла и каротиноидов. Хлорофилл *b* не участвует напрямую в процессе фотосинтеза, но помогает поглощать свет низкой интенсивности и передавать его хлорофиллу *а*, расширяя диапазон длин волн, в которых возможен фотосинтез. Каротиноиды также играют важную роль, участвуя в первичном поглощении света и передаче энергии хлорофиллу, а также регулируя его энергетический баланс. Они защищают хлорофилл от повреждений избыточным светом и участвуют в окислительно-восстановительных реакциях фотосинтеза. Совместно эти пигменты обеспечивают эффективную работу фотосинтетической системы и преобразование световой энергии в химическую для синтеза органических соединений. На фотосинтез сильно влияют засуха, холод, соль, жара, окислительный стресс, токсичность тяжелых металлов и другие стрессоры [296-298]. Стрессовые условия разрушают ультраструктуру хлоропластов и приводят к уменьшению хлорофилла, что приводит к снижению фотосинтетической активности. Выявлено снижение содержания фотосинтетических пигментов (хлорофилл*a*, хлорофилл*b*, хлорофилл (*a+b*), каротиноиды) под влиянием ряда стрессов[279]. Обработка семян ультрафиолетовымизлучением вызывал увеличение содержания хлорофилла, антоцианов и каротиноидов в сортах фасоли, капусты и свеклы. Более высокое содержание хлорофилла поддерживалось за счет защиты, обеспечиваемой более высоким содержанием каротиноидов и антоцианов, поскольку эти пигменты могли способствовать эффективной антиоксидантной функции [299]. Оценка активности фотосинтетических пигментов растений под воздействием стресс факторов имеет важное значение для выявления сортовых особенностей разных генотипов проса. Изучение влияния различных концентрации азида натрия и колхицина в зависимости от экспозиции времени обработки семян на количественное содержание фотосинтетических пигментов:хлорофилла*a*, хлорофилла *b*, хлорофилла (*a+b*) и *car*в растениях проса.

3.4.1 Эффект азида натрия на активность фотосинтетических пигментов М1и М2 растений

Содержание хлорофилла является важным индикатором состояния фотосинтетического аппарата растений и их способности к ассимиляции. Это связано с различными аспектами роста и продуктивности растени. Изучение влияния мутагенов на содержание хлорофилла и каротиноидов у образцов проса - это важный аспект в селекции и агрономии. Мутагенные обработки могут действительно приводить к увеличению содержания хлорофилла, что, в свою очередь, способствует улучшению фотосинтетических процессов[300]. Измерения проводили в фазу кущения, С каждого варианта отбирали материал в средней части листьяс 10 растений. Относительное содержание Chl*a* при экспозиции 4 часа у М1 растенийварьировало от 0,41 до 2,14 мг/г, у М2 растений от 1,00 мг/г до 1,90 мг/г, при этом опытные варианты существенно не отличались по отношению к контролю(таблица 18).

Таблица 18 –Вариабельность содержания хлорофилла Chl*a* у образцов проса (мг/г)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентрации NaN3, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 4 | | 8 | | 12 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 1,53 | 1,78 | 1,03 | 1,53 | 2,30 | 1,86 |
| 0,1 | 1,19 | 1,90 | 1,19 | 1,25 | 0,63 | 1,14 |
| 0,2 | 1,22 | 1,52 | 1,22 | 1,36 | 0,94 | 1,22 |
| 0,3 | 1,26 | 1,65 | 1,26 | 1,19 | 0,64 | 0,81 |
| 0,4 | 1,76 | 1,37 | 2,76 | 2,03 | 0,94 | 1,35 |
| 0,5 | 1,46 | 1,45 | 1,46 | 1,57 | 1,09 | 1,23 |
| PI 289324 | 0,0 | 1,43 | 1,50 | 1,43 | 1,39 | 1,43 | 1,56 |
| 0,1 | 0,59 | 1,56 | 0,59 | 1,25 | 0,84 | 1,16 |
| 0,2 | 0,59 | 1,00 | 0,59 | 1,08 | 1,27 | 1,15 |
| 0,3 | 0,41 | 1,22 | 0,41 | 1,14 | 0,56 | 0,88 |
| 0,4 | 2,14 | 1,85 | 2,14 | 1,97 | 1,32 | 2,23 |
| 0,5 | 0,94 | 1,37 | 0,94 | 1,32 | 0,64 | 0,94 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 1,46 | 1,55 | 1,57 | 1,60 | 1,44 | 1,52 |
| 0,1 | 1,27 | 1,35 | 0,68 | 0,98 | 0,74 | 1,07 |
| 0,2 | 0,90 | 1,16 | 0,67 | 1,21 | 0,75 | 1,14 |
| 0,3 | 1,57 | 1,45 | 2,88 | 2,62 | 1,54 | 1,87 |
| 0,4 | 1,66 | 1,71 | 1,98 | 2,10 | 0,25 | 0,75 |
| 0,5 | 1,13 | 1,48 | 1,57 | 1,41 | 1,26 | 1,31 |

Аналогичные данные получены при экспозициях 8 и 12 часов обработки у сорта Павлодарское 4, во всех концентрациях азида натрия содержание хлорофилла *a*было на уровне контроля. В качестве контроля использовали вариант без обработки мутагена, замачивали в дистиллированной воде. Варианты с экспозицией 4 и 8 часов с концентрацией 0,4% имели большее содержание пигмента *a*по сравнению с контролем у всех 3-х генотипов в обоих поколениях*.*При 12 ч экспозиции времени у генотипов Квартет и PI 289324 идет снижение содержание хлорофилла *a*относительно к контролю.

Все варианты, обработанные мутагеном у генотипа Павлодарское 4 являются источниками признаков, улучшающих показатели фотосинтеза по сравнению с контролем по содержанию Chl*b*, так как имели большее содержание пигментов по мере увеличения концентрации, кроме 4-часовой экспозиции при концентрации 0,2%. У сорта Квартет при концентрациях от 0,1% до 0,4% и у PI 289324 от 0,1% до 0,3%при 4- и 8-часовой выдержке также наблюдается увеличение содержания Chl*b* (таблица 19).

Таблица 19 – Вариабельность содержания хлорофилла *b* у образцов проса (мг/г)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентра-ции NaN3, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 4 | | 8 | | 12 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 6,92 | 7,16 | 6,92 | 7,16 | 6,92 | 7,16 |
| 0,1 | 8,96 | 9,37 | 8,96 | 8,05 | 12,06 | 13,78 |
| 0,2 | 15,73 | 16,40 | 15,73 | 17,05 | 15,96 | 14,60 |
| 0,3 | 11,95 | 11,98 | 11,95 | 12,45 | 12,40 | 13,75 |
| 0,4 | 9,23 | 12,40 | 10,29 | 12,30 | 12,93 | 15,39 |
| 0,5 | 6,82 | 12,85 | 6,82 | 11,65 | 19,34 | 20,04 |
| PI 289324 | 0,0 | 10,38 | 9,95 | 10,38 | 9,95 | 10,38 | 9,95 |
| 0,1 | 12,59 | 10,61 | 12,59 | 13,74 | 16,14 | 17,44 |
| 0,2 | 12,23 | 12,84 | 12,23 | 13,51 | 18,75 | 19,32 |
| 0,3 | 9,51 | 10,63 | 9,51 | 12,32 | 9,55 | 12,45 |
| 0,4 | 4,31 | 9,78 | 4,31 | 10,68 | 10,55 | 11,84 |
| 0,5 | 12,97 | 11,54 | 12,97 | 11,54 | 11,84 | 11,54 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 6,03 | 7,55 | 6,03 | 8,42 | 6,03 | 7,30 |
| 0,1 | 7,92 | 9,56 | 8,35 | 10,23 | 13,15 | 12,56 |
| 0,2 | 5,40 | 8,54 | 11,19 | 9,96 | 15,46 | 17,58 |
| 0,3 | 13,01 | 11,65 | 13,01 | 12,75 | 10,34 | 11,21 |
| 0,4 | 10,82 | 12,78 | 10,31 | 12,52 | 15,66 | 16,00 |
| 0,5 | 16,23 | 14,35 | 10,19 | 13,54 | 10,80 | 12,07 |

Согласно данным таблицы 19 при экспозициях 12 часов у генотипаКвартет в вариантах с концентрацией 0,1, 0,3 и 0,4% и у сорта PI289324 при 0,3% заметно снижение содержания Chl*b* по сравнению с контролем. Нарастающая динамика по содержанию хлорофилла *b*отмечается в поколений М2. Так у мутантных образцов М2 растений отмечается большое количество Сhl*b*, чем у М1.

Количество фотосинтетических пигментов каротиноидов(*car*) в пересчете на сухую массу листа увеличивалось у сортобразца PI 289324 при 4- и 8-часовой экспозиции по всем пяти концентрациям по сравнению с контролем, у генотипов Павлодарское 4 и Квартет стоит отметить варианты с концентрацией 0,2% при 8 и 12 часовой обработке. При этом отмечается значительное снижение содержания *car* по сравнению с контролем у сорта Павлодарское4 с экспозицией 12 часов и концентрацией 0,5% у М1 растений (таблица 20).

Таблица 20 – Вариабельность содержания каротиноидов *car*у образцов проса (мг/г)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентра-ции NaN3, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 4 | | 8 | | 12 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 3,81 | 2,4 | 1,86 | 2,4 | 1,47 | 2,4 |
| 0,1 | 2,71 | 3,02 | 2,71 | 2,63 | 1,22 | 2,85 |
| 0,2 | 2,49 | 2,43 | 3,15 | 2,82 | 1,67 | 2,12 |
| 0,3 | 2,20 | 2,58 | 2,20 | 2,34 | 1,63 | 2,05 |
| 0,4 | 1,75 | 2,00 | 1,71 | 1,54 | 1,46 | 2,24 |
| 0,5 | 1,48 | 1,95 | 1,26 | 1,17 | 2,61 | 3,01 |
| PI 289324 | 0,0 | 0,39 | 1,15 | 0,37 | 1,5 | 2,56 | 1,5 |
| 0,1 | 1,73 | 1,85 | 0,42 | 1,32 | 2,84 | 3,05 |
| 0,2 | 1,78 | 1,99 | 1,78 | 1,67 | 2,39 | 2,40 |
| 0,3 | 1,31 | 1,84 | 1,25 | 1,59 | 1,40 | 1,45 |
| 0,4 | 1,20 | 1,34 | 1,20 | 1,45 | 1,48 | 1,65 |
| 0,5 | 2,73 | 2,07 | 0,39 | 0,98 | 1,98 | 2,33 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 0,63 | 1,21 | 1,85 | 1,21 | 0,36 | 1,21 |
| 0,1 | 0,56 | 0,96 | 1,32 | 1,68 | 0,75 | 1,12 |
| 0,2 | 1,25 | 1,32 | 2,00 | 2,04 | 1,22 | 1,42 |
| 0,3 | 1,98 | 2,04 | 1,98 | 2,12 | 0,38 | 0,56 |
| 0,4 | 0,74 | 1,16 | 0,95 | 1,64 | 0,31 | 0,47 |
| 0,5 | 0,78 | 1,24 | 1,53 | 1,80 | 0,09 | 0,55 |

У М2 растений у генотипов Квартет и Павлодарское 4 по мере увеличения концентрации содержание *car*снижается, тогда как у PI 289324 наоборот отмечается повышение содержания каротиноидов, что доказывается высокую отзывчивость сортообразца на обработку и влияния на его скороспелость.

Соотношение Chl*а*/Chl*b*в листьях *Panicummiliaceum*L.у сорта Квартет в вариантах с концентрацией 0,4 и 0,5% при 8-часовой и при 0,4% при 12-часовой, у сорта PI 289324 при концентрации 0,4% при 4 и 8 часовой выдержке несколько возрастало относительно контроля, а в остальных же вариантах заметно понижение соотношения пигментов. У генотипа PI 289324 отмечается очень низкое соотношение пигментов по всем концентрациям по всем временам экспозиций, кроме 0,4% в обоих поколениях (таблица 21).

Количество пигментов в растениях в основном обусловливается генотипическими особенностями и, в пределах нормы реакции генотипа, условиями его произрастания. Содержание пигментов в фотосинтетическом аппарате в значительной степени зависит от абиотических факторов, в данном случае от индукции азидом натрия.

Таблица 21 – Характеристика пигментов по соотношению Chl*a*/Chl*b*(мг/г) у образцов проса, обработанных азидом натрия

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентрации NaN3, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 4 | | 8 | | 12 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 0,22 | 0,18 | 0,14 | 0,18 | 0,15 | 0,18 |
| 0,1 | 0,13 | 0,15 | 0,13 | 0,15 | 0,05 | 0,08 |
| 0,2 | 0,07 | 0,12 | 0,07 | 0,10 | 0,05 | 0,06 |
| 0,3 | 0,10 | 0,16 | 0,10 | 0,07 | 0,05 | 0,06 |
| 0,4 | 0,19 | 0,21 | 0,26 | 0,20 | 0,07 | 0,10 |
| 0,5 | 0,21 | 0,21 | 0,21 | 0,17 | 0,05 | 0,07 |
| PI 289324 | 0,0 | 0,13 | 0,13 | 0,13 | 0,13 | 0,13 | 0,13 |
| 0,1 | 0,04 | 0,05 | 0,04 | 0,08 | 0,05 | 0,09 |
| 0,2 | 0,04 | 0,10 | 0,04 | 0,09 | 0,06 | 0,11 |
| 0,3 | 0,04 | 0,07 | 0,04 | 0,34 | 0,05 | 0,13 |
| 0,4 | 0,49 | 0,24 | 0,49 | 0,44 | 0,12 | 0,20 |
| 0,5 | 0,07 | 0,09 | 0,07 | 0,16 | 0,05 | 0,08 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 0,24 | 0,25 | 0,30 | 0,25 | 0,23 | 0,25 |
| 0,1 | 0,16 | 0,18 | 0,08 | 0,10 | 0,05 | 0,09 |
| 0,2 | 0,16 | 0,22 | 0,05 | 0,08 | 0,04 | 0,08 |
| 0,3 | 0,12 | 0,16 | 0,12 | 0,15 | 0,14 | 0,10 |
| 0,4 | 0,15 | 0,17 | 0,27 | 0,23 | 0,01 | 0,04 |
| 0,5 | 0,07 | 0,12 | 0,19 | 0,20 | 0,11 | 0,19 |

При этом соотношение Chl*a*+Chl*b*/*car* у образцов проса посевного у сорта Павлодарское 4 с 8-ми часовой экспозицией во всех обработанных мутагеном вариантах было выше относительно контроля, также у сортаКвартетпри 4-х и 8-ми часовой выдержке, у сорта PI289324 при 12-ти часовой выдержке.У сорта Павлодарское 4 стоит отметить варианты с концентрацией 0,4 и 0,5% при 12-ти часовой выдержке с соотношением Chl*a*+Chl*b*/*car*вдвое превышающим контроль 50,41 и 117,29 мг/г.

В целом, полученные результаты свидетельствуют о влиянии мутагена на накопление основных фотосинтетических пигментов в листьях проса на этапах онтогенеза растений, что в последующем дает низкорослыерастения с ранним созреванием для ранннеспелых и среднеспелых групп растений (таблица 22).

Таблица 22 – Характеристика пигментов по соотношению Chl*a*+Chl*b*/*car*(мг/г)у образцов проса, обработанных азидом натрия

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентрации NaN3, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 4 | | 8 | | 12 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 13,34 | 7,58 | 14,86 | 7,58 | 12,11 | 7,58 |
| 0,1 | 4,49 | 6,54 | 4,49 | 5,91 | 10,50 | 12,54 |
| 0,2 | 7,53 | 8,04 | 6,22 | 8,49 | 10,46 | 13,25 |
| 0,3 | 6,68 | 7,79 | 6,68 | 9,82 | 8,24 | 9,21 |
| 0,4 | 7,02 | 8,12 | 8,76 | 10,38 | 9,78 | 9,88 |
| 0,5 | 6,06 | 7,25 | 6,85 | 7,62 | 8,48 | 9,11 |
| PI 289324 | 0,0 | 5,48 | 6,56 | 5,48 | 6,56 | 5,48 | 6,56 |
| 0,1 | 7,86 | 7,90 | 30,30 | 31,2 | 6,51 | 7,00 |
| 0,2 | 7,45 | 8,02 | 7,45 | 8,05 | 9,11 | 10,37 |
| 0,3 | 7,64 | 8,12 | 8,00 | 9,50 | 7,37 | 8,46 |
| 0,4 | 5,71 | 7,85 | 5,71 | 7,36 | 8,42 | 9,00 |
| 0,5 | 5,68 | 6,45 | 35,41 | 32,45 | 6,61 | 7,81 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 11,03 | 11,26 | 4,40 | 11,26 | 18,54 | 11,26 |
| 0,1 | 15,32 | 14,32 | 6,98 | 9,18 | 18,15 | 18,22 |
| 0,2 | 5,20 | 8,56 | 6,24 | 7,54 | 13,35 | 14,11 |
| 0,3 | 8,13 | 9,87 | 8,13 | 9,12 | 28,26 | 29,31 |
| 0,4 | 16,11 | 18,45 | 13,73 | 18,44 | 50,41 | 48,56 |
| 0,5 | 21,71 | 22,09 | 8,61 | 10,24 | 117,29 | 102,3 |

Таким образом, величина снижения содержания фотосинтетических пигментов Chl (*а+b*) и каротиноидов(*car*) для образцов проса оказалась практически одинаковой, несмотря на разную концентрацию мутагена, тогда как экспозиция обработки значительно повлияло на содержание пигментов в листьях растений проса, тогда при подсчете соотношения Chl*a*+Chl*b*/*car*отмечается большое различие между контрольными и мутантными образцами проса, в осбенности при концентрации 0,4-0,5% у сорта Павлодарское 4 во всех экспозициях.

3.4.2 Влияние колхицина на содержание фотосинтетических пигментов М1 и М2 растений

В данных исследованиях было изучено влияние различных концентраций и экспозиций обработки колхицина на содержание фотосинтетических пигментов проса.Результаты по оценке влияния колхицина на фотосинтетическую деятельность показали, чтов опытных вариантахсодержание пигментов в фотосинтетическом аппарате у большинства образцов уменьшается при более высоких концентрациях мутагена относительно к контролю. Динамика накопления Chl*a*при низких 0,04-0,06% концентрациях мутагена при всех изученных экспозициях представлена в таблице 23.

Таблица 23 – Вариабельность содержания хлорофилла Chl*a*(мг/г)у образцов проса, обработанных колхицином

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентра-ции, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 6 | | 12 | | 24 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 3,71 | 3,80 | 3,71 | 3,80 | 3,71 | 3,80 |
| 0,04 | 8,94 | 9,05 | 10,24 | 11,30 | 7,48 | 7,25 |
| 0,06 | 5,02 | 7,24 | 9,53 | 11,40 | 5,34 | 6,00 |
| 0,08 | 11,53 | 10,00 | 8,52 | 8,93 | 7,91 | 7,87 |
| 0,1 | 8,31 | 8,66 | 7,17 | 7,11 | 6,37 | 6,55 |
| PI 289324 | 0,0 | 8,89 | 9,02 | 8,89 | 9,02 | 8,89 | 9,02 |
| 0,04 | 9,25 | 9,20 | 7,3 | 7,24 | 5,88 | 6,54 |
| 0,06 | 9,71 | 10,78 | 8,75 | 8,70 | 6,02 | 7,42 |
| 0,08 | 9,17 | 9,25 | 6,04 | 8,35 | 7,58 | 9,04 |
| 0,1 | 10,02 | 11,83 | 7,34 | 9,64 | 9,69 | 11,45 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 6,36 | 8,7 | 6,36 | 8,7 | 6,36 | 8,7 |
| 0,04 | 2,9 | 4,59 | 8,15 | 10,00 | 7,72 | 8,98 |
| 0,06 | 8,66 | 8,52 | 12,3 | 14,23 | 8,44 | 12,52 |
| 0,08 | 5,57 | 5,44 | 8,46 | 9,15 | 5,62 | 8,05 |
| 0,1 | 3,91 | 4,96 | 6,68 | 8,08 | 6,91 | 8,22 |

При 6-часовой экспозиции у сорта Павлодарское 4 в контрольном варианте содержание Chl*a*составило 6,36 мг/г, тогда как при концентрациях 0,04 и0,06% содержание увеличилась на 0,54 и 2,3 мг/г. Аналогичная картина наблюдалась также у сорта Квартет при концентрации мутагена 0,04% и 0,06% содержание пигмента Chl*a*повысилось на 0,23 и 0,31 мг/г, у генотипа PI289324 - на 0,36 и 1,0 мг/г соответственно. Повышение содержания пигмента Chl*a*приконцентрациях мутагена 0,04 и0,06% также наблюдается при 12-и 24-часовых экспозициях. У М2 растений содержание Chl*a*у сорта Квартет и сортообразца PI289324 было выше, чем у контрольных образцов, тогда как сорта Павлодарское 4 было ниже.

По содержанию Chl*b*наблюдаются заметное уменьшение количества пигмента по сравнению с контролему всех трех генотипов при экспозициях 6 и 12 часов. При 24-х часовой экспозиции у образцов Квартет и PI 289324 содержание Chl*b*увеличивалось незначительно по сравнению с контролем. (таблица 24).У PI 289324 и Павлодарское 4 при 6 и 12 часах обработки у М2 растений содержание хлорофилла *b* ниже, тогда как при 24-часовой обработке увеличивается. Количество фотосинтетических пигментов *car*в пересчете на сухую массу листа увеличивалось у генотипа PI289324 при всех экспозициях по всем четырем концентрациям от 0,18 до 1,71 мг/г(таблица25).

Таблица 24 – Вариабельность содержания хлорофилла Chl*b*(мг/г) у образцов проса, обработанные колхицином

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентра-ции, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 6 | | 12 | | 24 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 2,28 | 2,12 | 2,28 | 2,12 | 2,28 | 2,12 |
|  | 0,04 | 2,04 | 1,85 | 1,18 | 2,03 | 2,66 | 2,84 |
| 0,06 | 2,15 | 2,2 | 0,95 | 1,12 | 1,72 | 1,91 |
| 0,08 | 3,93 | 3,84 | 0,76 | 1,44 | 2,35 | 2,22 |
| 0,1 | 1,78 | 2,13 | 0,85 | 1,30 | 2,49 | 3,45 |
| PI 289324 | 0,0 | 3,48 | 2,98 | 3,48 | 2,98 | 2,89 | 2,98 |
| 0,04 | 2,38 | 2,15 | 0,64 | 1,11 | 2,01 | 1,31 |
| 0,06 | 2,31 | 2,32 | 0,66 | 0,95 | 2,85 | 2,15 |
| 0,08 | 2,81 | 3,11 | 1,84 | 2,22 | 2,26 | 2,06 |
| 0,1 | 2,32 | 2,08 | 0,78 | 1,12 | 3,58 | 1,58 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 2,13 | 2,35 | 2,13 | 2,35 | 2,13 | 2,35 |
| 0,04 | 1,94 | 2,06 | 0,93 | 1,28 | 2,46 | 2,25 |
| 0,06 | 1,76 | 1,96 | 1,19 | 1,36 | 1,93 | 1,48 |
| 0,08 | 1,78 | 1,84 | 0,93 | 1,21 | 2,43 | 2,01 |
| 0,1 | 1,36 | 1,56 | 1,42 | 1,05 | 2,68 | 2,35 |

Таблица25 – Вариабельность содержания *car*(мг/г) у образцов проса

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентра-ции, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 6 | | 12 | | 24 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 1,15 | 1,41 | 1,15 | 1,41 | 1,15 | 1,41 |
| 0,04 | 2,39 | 2,12 | 1,99 | 1,84 | 0,89 | 1,51 |
| 0,06 | 1,44 | 1,70 | 1,86 | 1,77 | 1,36 | 1,62 |
| 0,08 | 2,74 | 2,25 | 3,04 | 2,19 | 1,38 | 1,8 |
| 0,1 | 2,29 | 2,33 | 2,1 | 2,00 | 1,22 | 2,45 |
| PI 289324 | 0,0 | 1,18 | 1,05 | 1,18 | 1,05 | 1,18 | 1,05 |
| 0,04 | 2,74 | 2,34 | 2,42 | 2,50 | 1,33 | 1,51 |
| 0,06 | 2,58 | 2,20 | 2,6 | 2,18 | 1,40 | 1,40 |
| 0,08 | 2,54 | 1,94 | 1,52 | 2,12 | 1,77 | 1,82 |
| 0,1 | 2,89 | 3,06 | 1,99 | 2,38 | 2,29 | 2,19 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 1,75 | 1,62 | 1,75 | 1,62 | 1,75 | 1,62 |
| 0,04 | 0,81 | 1,80 | 2,31 | 1,97 | 1,8 | 1,9 |
| 0,06 | 2,14 | 2,04 | 3,07 | 2,54 | 2,2 | 2,01 |
| 0,08 | 1,31 | 1,75 | 2,34 | 2,28 | 1,6 | 1,81 |
| 0,1 | 1,19 | 1,97 | 1,63 | 1,82 | 2,06 | 2,17 |

У сорта Павлодарское 4 0,1% концентрация колхицина сильно повлияла на суммарное содержание *car* при 6-часовой экспозиции идет сильное снижение по сравнению с контролем у М1 растений. У М2 поколения отмечается увеличение содержания *car* при 24-х часовой концентрации мутагена у всех трех генотипов по всем конценрациям.

Характеристика хлорофиллов по соотношениюChl*a*/Chl*b*(мг/г) у образцов проса при воздействии различных концентраций и экспозиции времени колхицина представлена в таблице 26.

Таблица26 – Характеристика пигментов по соотношению Chl*a*/Chl*b*(мг/г)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Образцы | Концентрации, % | Экспозиция обработки семян, час | | | | | |
| 6 | | 12 | | 24 | |
| М1 | М2 | М1 | М2 | М1 | М2 |
| Квартет | 0,0 | 1,63 | 3,02 | 1,63 | 3,02 | 1,63 | 3,02 |
| 0,04 | 4,39 | 3,56 | 8,77 | 7,82 | 2,82 | 3,12 |
| 0,06 | 2,14 | 2,20 | 10,05 | 12,56 | 3,11 | 2,98 |
| 0,08 | 2,94 | 2,75 | 11,22 | 11,08 | 3,37 | 3,46 |
| 0,1 | 4,66 | 3,16 | 8,41 | 9,54 | 2,56 | 2,78 |
| PI 289324 | 0,0 | 2,56 | 2,42 | 2,56 | 2,42 | 2,56 | 2,42 |
| 0,04 | 3,88 | 4,01 | 11,35 | 13,54 | 2,92 | 3,53 |
| 0,06 | 4,21 | 4,12 | 13,19 | 14,26 | 2,11 | 2,89 |
| 0,08 | 3,27 | 3,52 | 3,28 | 10,21 | 3,36 | 3,24 |
| 0,1 | 4,31 | 4,58 | 9,42 | 10,71 | 2,71 | 3,48 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 2,98 | 2,85 | 2,98 | 2,85 | 2,98 | 2,85 |
| 0,04 | 1,49 | 2,05 | 8,76 | 9,18 | 3,14 | 4,51 |
| 0,06 | 4,91 | 5,54 | 10,31 | 10,22 | 4,38 | 4,63 |
| 0,08 | 3,13 | 3,00 | 9,11 | 10,87 | 2,31 | 4,85 |
| 0,1 | 2,88 | 2,89 | 4,7 | 6,93 | 2,58 | 3,04 |

У отечественного сортаПавлодарское 4и у российского сорта Квартет отмечается значительное повышение соотношенияпигментов во всех концентрациях и экспозициях времени мутагена по сравнению с контролем у М1 и М2 растений, в особенностив вариантах с 12-ти часовой обработкой при 0,04-0,1%. Стоит отметить, что у генотипа PI 289324соотношениеChl*a*/Chl*b*при 0,1% концентрации 12-часовой выдержке в 4 раза превышает контроль.

Негативное влияние мутагенов на накопление основных фотосинтетических пигментов, за исключением каротиноидов, может указывать на изменения в физиологии и биохимии растений под воздействием мутагенов. Уменьшение содержания основных фотосинтетических пигментов, таких как хлорофиллы, может отражать снижение фотосинтетической активности и общего метаболического процесса в растениях.Однако сохранение уровня каротиноидов может быть интересным наблюдением. Поскольку каротиноиды выполняют ряд важных функций, включая защиту от светового стресса и участие в окислительно-восстановительных реакциях, их сохранение может указывать на специфические адаптивные механизмы, которые могут быть активированы растениями в ответ на стрессовые условия.Важно дополнительно исследовать эти результаты, чтобы более полно понять механизмы реакции растений на мутагенное воздействие и его влияние на фотосинтетический процесс. Концентрации (0,04-0,08%) мутагена достоверно увеличивали содержание каротиноидов в 2-2,5 раза, относительно контроля.

**3.5 Характеристика хлорофилл-дефицитных изменений у растений под действием химических мутагенов**

Эффективность селекции на основегибридизации или искусственного мутагенеза зависит прежде всего от частоты появления полезных рекомбинантов и мутантов. Важно, чтобы эти изменения проявлялись ярко и однозначно, облегчая их выделение, отбор и изучение. Тем не менее, в различных агроэкологических условиях проявление признаков и свойств может варьироваться. Адаптация генотипов к конкретным экологическим условиям играет здесь ключевую роль, и исследование этого процесса имеет высокое значение для селекции. В данной исследований частота и спектр мутаций в растениях М1-М2были определены под воздействием мутагенов: азида натрия и колхицина.

3.5.1 Характеристика хлорофилл-дефицитных изменений в поколении М1 у *Panicummiliaceum*L. под действием азида натрия

Характеристика хлорофилл-дефицитных изменений в листьях растений проса в поколении М1 в течении вегетационного периода.Мутации окраски листьев являются одним из видов наиболее часто наблюдаемых мутаций как в спонтанных, так и в индуцированных мутантных популяциях растений и часто используются в качестве индикатора мутагенных эффектов и эффективности различных мутагенов. Мутации хлорофилла представляют собой один из наиболее надежных показателей для оценки генетических эффектов мутагенных воздействий [301-302].

Результаты морфологического анализа М1растений показывают, что азид натрия индуцировал появление изменений в различных фазахонтогенеза мутантов так называемый признак полосатости листьев проса (тип мутации «зебра») (рисунок 21).



Рисунок 21 – Появление мутантных растений у генотипа PI289324 с полосками на листьях (пестролистность) под влиянием NaN3

У генотипа PI289324 азид натрия вызвал изменения с частотой 2,3% при концентрации 0,2%и 12ч экспозиции времени. Данный тип мутации зебра связан с мутациями в хлоропластах, нарушающими синтез хлорофилла, и относится к особой категории химеров. В исследованиях, посвященных мутагенезу у ячменя, действительно наблюдается высокая частота появления мутантных форм с характерными полосками на листьях и стеблях, что может свидетельствовать о нарушениях в хлорофиллообразовании. Подобные мутации могут оказывать влияние на фотосинтетические процессы и, как следствие, на урожайность. У риса наблюдаются мутантные формы с дефицитом хлорофилла, которые ассоциируются с рецессивными генами, такими как a1 (альбина), y (желтый проросток), lu (люсцентный), v (виридесцентный), fs и z (зебровидные или пестрые листья). Эти мутации могут использоваться в селекции для получения новых сортов с желаемыми фенотипическими характеристиками. Исследования подобного рода помогают лучше понять генетические механизмы, лежащие в основе выражения признаков, и открывают новые перспективы для агрономии и растениеводства [304-305].

В ходе исследования анализировали морфологические вариации (высоты растений, особенностей роста, листьев, метелок, семян) и определяли частоту морфологических мутантовс измененными признакамив поколении М1 (таблица 27).

Таблица 27 – Частота изменении (%) морфологических признаков растений в поколении М1

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Экспозициивремени, час | КонцентрацииNaN3, % | Образцыпроса | | |
| Павлодарское 4 | Квартет | PI289324 |
| 4 | 0,1 | 0,8 | 1,2 | - |
| 0,2 | 1,3 | 0,3 | - |
| 0,3 | - | 0,9 | 1,8 |
| 0,4 | 1,4 | - | 2,2 |
| 0,5 | 3,8 | 2,1 | - |
| 8 | 0,1 | - | 0,8 | 2,4 |
| 0,2 | 0,9 | - | - |
| 0,3 | 2,3 | 3,1 | 4,5 |
| 0,4 | - | 0,9 | 2,9 |
| 0,5 | 1,6 | 2,1 | 1,9 |
| 12 | 0,1 | 3,2 | 6,3 | 4,2 |
| 0,2 | 2,5 | - | 2,3 |
| 0,3 | - | 3,7 | 0,9 |
| 0,4 | 4,2 | 2,5 | 3,5 |
| 0,5 | 2,9 | 1,7 | 1,5 |

По полученным данным выявлено, что спектр мутаций азида натрия был проявлен в индукции мутаций. Более высокая частота и широкий спектр измененных форм зарегистрированы при 0,1% мутагена в 12ч экспозиции времени и варьировало от 3,2% до 6,3%. В М2 поколений хлорофилльные мутаций как в М1 растениях не наблюдалось. В связи с этим на М2 растений учет хлорофилльных изменений не проводился.

Таким образом, мутации, связанные с хлорофиллом, могут служить лишь начальным этапом в изучении действия мутагенов, таких как азид натрия, действительно позволяет получить предварительное представление о механизмах мутации и их влиянии на растения. В результате воздействия азида натрия на растения были выявлены не только хлорофилльные изменения, но и разнообразные морфологические, физиологические и генетические изменения. Эти изменения включают в себя вариации в форме и размерности листьев, стеблей и корней, а также изменения в росте и развитии растений. Генетические изменения могут проявляться в изменении частоты генов или в появлении новых аллелей, что может влиять на устойчивость растений к болезням, стрессам и другим неблагоприятным условиям. Такие исследования помогают глубже понять, как мутагены влияют на генетическую структуру растений и могут быть использованы в селекционной практике для создания новых сортов с улучшенными характеристиками.

3.5.2 Характеристика хлорофилл-дефицитных изменений в поколении М1-М2 у *Panicummiliaceum*L. под действием колхицина

Морфологический анализ хлорофилл-дефицитных изменений под воздействием колхицина проводился в 2021 году для растений М1, в 2022 году для растений М2. Семь различных типов мутантов хлорофилла (albina, сhlorina, viridis, lutescent, corroded, maculate, striata) были обнаружены в поколениях М1 и М2 у полевых образцов проса на 10-20 день.

Дефицитные по хлорофиллу листья определяли по основному четко выраженному мутантному признаку в сравнении с контрольным образцом (исходный генотип без обработки) (рисунок 22, А). Результаты показали, что высокая концентрация (0,08-0,1%) колхицина индуцировала у растений М1 на стадии всходов-кущения следующие виды мутаций: albina (белые сеянцы), более слабые и относительно мелкие сеянцы по сравнению с нормальными.

При достаточной влажности и низкой температуре успели сформироваться 1-2 пары настоящих белых листьев. Растения увядали на ранних стадиях развития (в течение 2 недель) (рисунок 22, Б); сhlorina - растения имели желтые проростки, настоящие листья также были желтыми или желто-зелеными, растение не меняло окраску по мере роста.

Растения сильно отставали как в росте, так и в развитии, часто увядали (рисунок 22, В); viridis – светло-зеленые побеги. Настоящие листья и все растение были бледно-зелеными и тонкими. Имело место отставание в росте (рисунок 22, Г); lutescent – первые листья были зелеными. По мере роста верхняя часть растения отчетливо выделялась светло-зеленым цветом с желтым оттенком, тогда как остальная часть растения оставалась зеленой.

Тип «золотой кончик» оказался наиболее подходящим описанием изменения (рисунок 22, Д); corroded – первичные листья были зелеными. Настоящие листья были желто-зеленого цвета, деформированы, край листа засох и скручивался, на листьях имелись некротические пятна (рисунок 22, Е); maculate - у пятнистых сеянцев на листьях наблюдались беловатые точки или некротические пятна.

Растения были сильнорослые, созревали поздно, семян давали мало (рисунок 22, Ж); striata – первые листья были зелеными. Растение было зеленым, на листьях была продольная полоса: белая или желтая (рисунок 22, З).

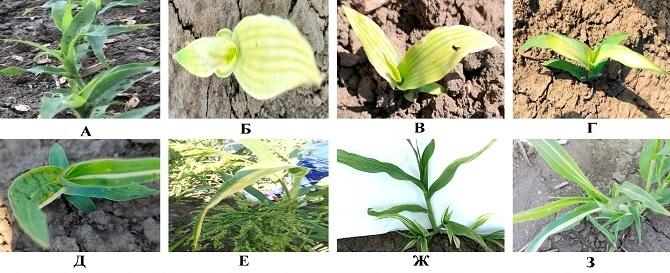


Рисунок 22– Листья с дефицитом хлорофилла при концентрации колхицина 0,08-0,1% в поколении М1а – контроль; б – albina; в – сhlorina; г –viridis;

д –lutescent; е – corroded; ж – maculate; з – striata

Всего в поколениях М1 было изучено 2214 семей. При всех концентрациях мутагена, кроме 0,04%, обнаружены мутации хлорофилла. Всего в М1 было отобрано 248 семейс модификациями, а в поколении М2 проанализировано по 500 растений каждого семейства (таблица 28).

Таблица 28 – Частота дефицита хлорофилльных листьев в поколениях М1 и М2

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Типыхлорофилльныхизменений | Проанализированосемей в М1, шт | Частота, % | Концентрацияколхицина, % | | | Проанализированосемейв М2, шт | Частота, % | Концентрацияколхицина, % | | |
| 0,06 | 0,08 | 0,1 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| albina | 360 | 8,6 | - | 8 | 23 | 500 | 1.0 | - | - | 2 |
| сhlorina | 348 | 10,0 | 5 | 12 | 18 | 500 | 1.0 | - | 1 | 1 |
| viridis | 270 | 17,4 | 6 | 14 | 27 | 500 | 5.5 | 2 | 4 | 5 |
| lutescent | 351 | 8,8 | 5 | 12 | 24 | 500 | - | - | - | - |
| corroded | 160 | 16,8 | - | 13 | 14 | 500 | - | - | - | - |
| maculata | 374 | 8,8 | - | 11 | 22 | 500 | 2.5 | - | 2 | 3 |
| striata | 351 | 9,6 | - | 13 | 21 | 500 | - | - | - | - |

Дефицит хлорофилла на листьях выявлялся в поколениях М1-М2 у всходов и взрослых растений преимущественно при высоких концентрациях колхицина (0,08% и 0,1%). Эти листья с дефицитом хлорофилла встречались с довольно высокой частотой, особенно у генотипа PI289324. У растений М1 при концентрациях колхицина 0,06-0,1% общая частота изменений хлорофилла составила 17,4% в целом для типа viridis. При концентрации колхицина 0,04% изменений в поколениях М1 и М2 не наблюдалось. Выявлены мутации хлорофилла с летальным исходом: белые проростки типа альбина и желтые проростки типа хлорина. Гибель этих мутантов произошла на стадии первых листьев. Некоторые мутанты выжили, но сильно ослабели и отстали в росте и развитии по сравнению с контрольными растениями. Тип albina выявлялся с частотой 8,6% при концентрации колхицина 0,08% и 0,1% у растений М1, 0,4% при концентрации колхицина 0,1% у растений М2. У растений М1 люминесцентный тип «золотой вершины» наблюдался с достаточно высокой частотой лишь при концентрациях колхицина 0,06-0,1% с частотой 1,4, 3,4 и 6,8 соответственно. Корродированный тип наблюдался во всех генотипах с относительно высокой частотой, а максимальное проявление наблюдалось при концентрации колхицина 0,08%, тогда как у М2 этот тип мутации не был обнаружен. У всходов мутационного типа maculata наблюдались беловатые точки на листьях и некротические пятна, растения М1-М2 были энергичными, созревали с опозданием и давали мало семян; этот тип мутации наблюдался только при более высокой концентрации колхицина (0,1%). Мутация стриата была представлена белыми или желтыми полосами на листьях и наблюдалась при более высоких концентрациях колхицина (0,08 и 0,1%) с частотой 3,7 и 5,9% в М1, 0,4 и 0,6% в М2 соответственно.

Таким образом, результаты исследования показали, что максимальная частота предполагаемых мутаций viridisнаблюдается при концентрации колхицина 0,1%, а минимальная - 0,06%. Растения с данным типом модификации хлорофилла были слабыми и малопродуктивными. В варианте 0,08 и 0,1% растворе колхицина, в М1 всего обнаружено 31 растение с мутацией типа альбина. Среди всех вариантов самая высокая частота мутаций была обнаружена при концентрации колхицина 0,1% у М1 и М2растений. Для растений М1 и М2 частота дефицита хлорофилла на листе составила в среднем 11,2 и 2,5% соответственно.

Сравнение мутаций хлорофилла по типам в целом показало, что частота мутаций увеличивается с увеличением концентрации и продолжительности воздействия, однако частота дефицита хлорофилла на листьях была выражена выше в М1, чем в М2поколений. Все идентифицированные типы мутантов хлорофилла среди сельскохозяйственных культур напрямую связаны с мутациями в биосинтезе хлоропластов, дальнейшей деградацией хлорофилла и обесцвечиванием вследствие дефицита каротиноидов и могут быть связаны с их преимущественным действием на гены,контролирующие синтез хлорофиллов.

**4 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ISSR МАРКЕРОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ПРОСА**

Улучшение сельскохозяйственных культур с помощью молекулярной селекции может быть использовано путем оценки генетического разнообразия и анализа структуры популяции с применением различных ДНК маркеров [306-307]. ISSR маркеры являются наиболее эффективным инструментом для анализа генетического разнообразия благодаря низкой стоимости и высокой степени полиморфности [226]. Маркеры ISSR были разработаны из-за необходимости исследовать микросателлитные повторы без использования секвенирования ДНК и применяются в селекции растений для изучения генетическогоразнообразия и дифференциации генотипов [308]. Этот метод основан на амплификации сегментов ДНК между двумя микросателлитными повторяющимися областями [309]. Хотя во всем мире методы колхицин-индуцированного мутагенеза применяются к культурным растениям различных видов, в Республике Казахстан эти исследования проведены недостаточно и практически не применяются, особенно в отношении проса на молекулярном уровне.

С целью более детального изучения мутагенных эффектов азида натрия и колхицина на генетическую разнообразию М2 растений проса применяли метод молекулярно­генетического анализа сиспользованием ISSR­маркеров.Всего было протестировано 16 маркеров ISSR[255].Для фрагментного анализа в качестве молекулярного маркер использовали dsDNA 915 Reagent Kit, 35 bp-5,000 bp (Agilent Technologies,Ankeny, IA 50021).

**4.1 Влияние различных концентрации азида натрия на генетическуювариабельность мутантных форм проса**

Тестирование праймеров было выполнено с использованием 16 ISSR маркеров. На основе полученных результатов молекулярно-генетического анализа был определен уровень полиморфизма для каждого праймера. Доля полиморфных локусов от общего числа локусов, анализируемых с помощью данного праймера были выражены в процентах (рисунок 23).

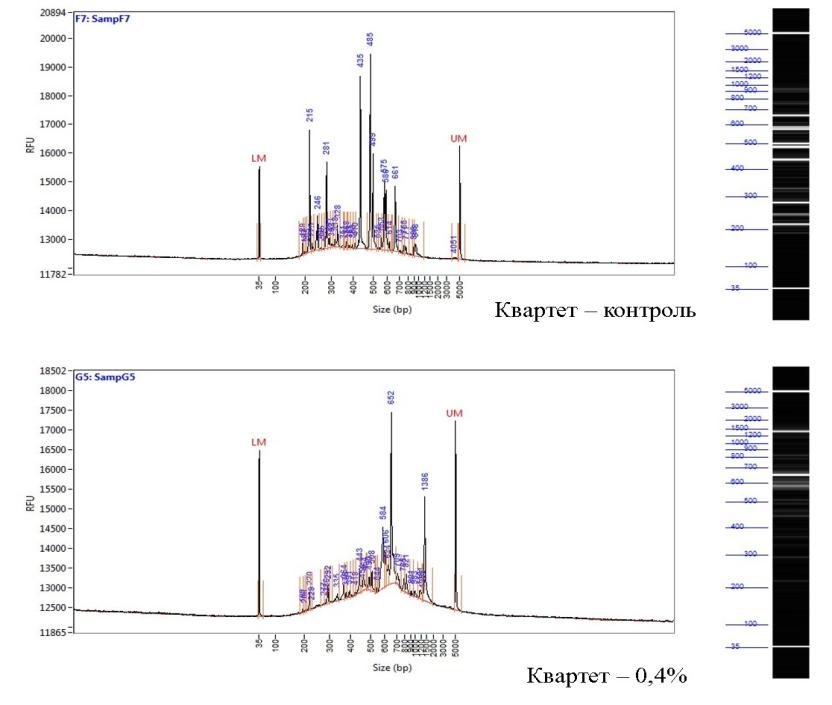


Рисунок 23 – Профили капиллярного электрофореза с использованием

ISSR 840маркера

Протестированные 16 ISSR праймеров в общей сложности образовали 1435 поддающихся оценке полос в диапазоне от 35 до 5000 полос, из них 1344 оказались полиморфными, в среднем 16,8 полос на один праймер. При этом полиморфизм и PIC в среднем составили – 92,44% и 0,217 соответственно (таблица 29).

Таблица 29 –Информация о ISSR маркерах, использованных в исследовании на образцах обработанных азидом натрия

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Маркер | Концентра-ция колхицина, % | Всеголокусов | Диапазонразмеров (п.н.) | Поли-морфныелокусы | Поли-морфизм, % | PIC |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| ISSR 807 | 0,0 | 12 | 229-3268 | 12 | 100 | 0,226 |
| 0,1 | 26 | 44-4596 | 24 | 92,3 |
| 0,2 | 28 | 165-3950 | 28 | 100 |

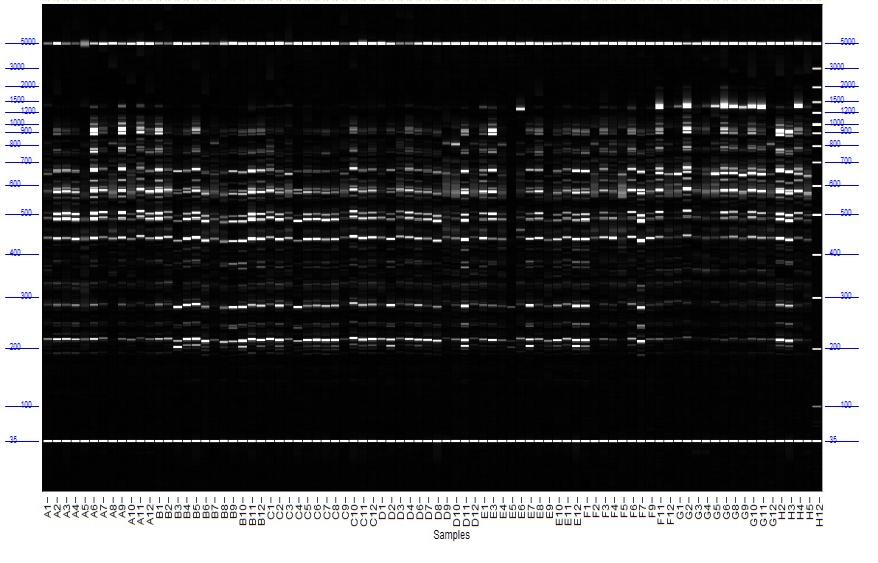
Продолжение таблицы 29

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|  | 0,3 | 16 | 208-851 | 16 | 100 |  |
| 0,4 | 27 | 206-853 | 25 | 92,5 |
| ISSR 808 | 0,0 | 29 | 208-3778 | 27 | 93,1 | 0,238 |
| 0,1 | 33 | 47-4020 | 33 | 100 |
| 0,2 | 36 | 161-4380 | 32 | 88,8 |
| 0,3 | 21 | 208-865 | 21 | 100 |
| 0,4 | 30 | 209-4178 | 30 | 100 |
| ISSR 809 | 0,0 | 18 | 48-1055 | 16 | 88,8 | 0,214 |
| 0,1 | 18 | 46-4435 | 18 | 100 |
| 0,2 | 21 | 234-1486 | 20 | 95,2 |
| 0,3 | 12 | 222-3284 | 11 | 91,6 |
| 0,4 | 10 | 235-1472 | 8 | 80,0 |
| ISSR 810 | 0,0 | 5 | 336-1069 | 5 | 100 | 0,202 |
| 0,1 | 17 | 45-1379 | 16 | 94,1 |
| 0,2 | 10 | 256-1529 | 10 | 100 |
| 0,3 | 16 | 209-938 | 15 | 93,7 |
| 0,4 | 12 | 346-863 | 12 | 100 |
| ISSR 811 | 0,0 | 13 | 542-1608 | 13 | 100 | 0,192 |
| 0,1 | 13 | 47-1599 | 8 | 100 |
| 0,2 | 10 | 39-2757 | 10 | 100 |
| 0,3 | 10 | 45-3839 | 10 | 100 |
| 0,4 | 11 | 537-1706 | 10 | 90,9 |
| ISSR 816 | 0,0 | 8 | 434-3954 | 8 | 100 | 0,190 |
| 0,1 | 16 | 379-3582 | 14 | 97,5 |
| 0,2 | 12 | 43-2903 | 12 | 100 |
| 0,3 | 2 | 1981-3536 | 1 | 50,0 |
| 0,4 | 13 | 538 | 12 | 92,3 |
| ISSR 817 | 0,0 | 8 | 42-2000 | 7 | 87,5 | 0,183 |
| 0,1 | 4 | 47-1785 | 3 | 75,0 |
| 0,2 | 4 | 42-2103 | 3 | 75,0 |
| 0,3 | 6 | 42-3660 | 5 | 83,3 |
| 0,4 | 7 | 42-4681 | 5 | 71,4 |
| ISSR 819 | 0,0 | 10 | 42-3258 | 8 | 80 | 0,186 |
| 0,1 | 5 | 48-3417 | 4 | 80,0 |
| 0,2 | 2 | 43-1360 | 1 | 50,0 |
| 0,3 | 4 | 42-3812 | 3 | 75,0 |
| 0,4 | 5 | 42-1341 | 5 | 100 |
| ISSR 820 | 0,0 | 18 | 49-2922 | 16 | 88,8 | 0,188 |
| 0,1 | 6 | 53-1563 | 5 | 83,3 |
| 0,2 | 6 | 44-4583 | 6 | 100 |

Продолжение таблицы 29

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| ISSR 820 | 0,3 | 3 | 45-1706 | 3 | 100 | 0,188 |
| 0,4 | 4 | 250-1519 | 4 | 100 |
| ISSR 822 | 0,0 | 9 | 156-3845 | 8 | 88,8 | 0,183 |
| 0,1 | 14 | 157-4000 | 14 | 100 |
| 0,2 | 13 | 49-4311 | 12 | 92,3 |
| 0,3 | 4 | 154-3259 | 4 | 100 |
| 0,4 | 9 | 157-2910 | 9 | 100 |
| ISSR 823 | 0,0 | 23 | 248-1568 | 21 | 91,3 | 0,198 |
| 0,1 | 15 | 252-3983 | 13 | 86,6 |
| 0,2 | 14 | 251-3983 | 14 | 100 |
| 0,3 | 8 | 42-4000 | 7 | 87,5 |
| 0,4 | 2 | 368-509 | 2 | 100 |
| ISSR 826 | 0,0 | 33 | 181-1396 | 28 | 84,8 | 0,206 |
| 0,1 | 15 | 50-1734 | 14 | 93,3 |
| 0,2 | 10 | 52-4767 | 10 | 100 |
| 0,3 | 6 | 51-4631 | 6 | 100 |
| 0,4 | 16 | 237-1354 | 15 | 93,75 |
| ISSR 834 | 0,0 | 36 | 146-4051 | 36 | 100 | 0,262 |
| 0,1 | 39 | 193-4091 | 37 | 94,8 |
| 0,2 | 36 | 42-4536 | 36 | 100 |
| 0,3 | 31 | 193-3788 | 30 | 83,3 |
| 0,4 | 30 | 192-1386 | 30 | 100 |
| ISSR 835 | 0,0 | 37 | 108-4402 | 33 | 89,1 | 0,279 |
| 0,1 | 40 | 134-4279 | 35 | 87,5 |
| 0,2 | 40 | 49-4052 | 37 | 92,5 |
| 0,3 | 30 | 131-4402 | 29 | 96,6 |
| 0,4 | 31 | 159-4505 | 29 | 93,5 |
| ISSR 840 | 0,0 | 42 | 138-4000 | 40 | 95,2 | 0,281 |
| 0,1 | 37 | 145-1902 | 32 | 86,4 |
| 0,2 | 40 | 49-4500 | 40 | 100 |
| 0,3 | 41 | 139-4417 | 37 | 90,2 |
| 0,4 | 40 | 144-4729 | 37 | 92,5 |
| ISSR 841 | 0,0 | 24 | 141-3964 | 24 | 100 | 0,245 |
| 0,1 | 20 | 158-4013 | 18 | 90,0 |
| 0,2 | 20 | 47-3916 | 20 | 100 |
| 0,3 | 21 | 161-4133 | 21 | 100 |
| 0,4 | 21 | 182-3097 | 20 | 95,2 |
| среднее | - |  | - | 16,8 | 92,44 | 0,217 |

Число полиморфных бэндов, генерируемых ISSR маркером, варьировало от 1 до 40. По результатам ISSR было показано, что из 16 использованных праймеров ISSR 834, ISSR 835 и ISSR 840 давали наибольшее количество подсчитываемых полос и в среденем составил 33,8; 32,6 и 37,2 соответственно.Тогда как, минимальный уровень полиморфизма выявлен при амплификации с праймеромISSR 817 и ISSR 819, в среднем 78,44% и 77% соответственно. Профили амплификации маркера ISSR 834 в капиллярной системе показан на рисунке 24.



А1-Н5 –образцыгенотипов; Н12 –молекулярныймаркер (35 bp-5,000 bp, AgilentTechnologies, Ankeny, IA 50021)

Рисунок 24 – Профили амплификации праймераISSR834 в М2растениях

Анализ генетического разнообразия показал, что среднее наблюдаемое число аллелей (Na) в контроле составил 0,792, при 0,1-0,2% азида натрия 1,230; при 0,3-,04% 0,632. Эффективное число аллелей (Ne) в контроле в среднем составил 1,190, тогда как при концентрациях 0,1-0,2 и 0,3-0,4% колебалось в пределах 1,185 и1,152 соответственно (таблица 30). Информационный индекс Шеннона (I) со средним значением 0,195 колебался в пределах 0,157-0,195 при концентрациях 0,1-0,2 и 0,3-0,4% соответственно, тогда как в контроле составил 0,196.

Таблица 30 – Информация о генетическом разнообразии проса в зависимости от различных концентраций азида натрия на основе ISSR маркеров

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Концентрация азида натрия, % | среднее/SE | Na | Ne | I | He | uHe | P |
| контроль | среднее | 0,792 | 1,190 | 0,196 | 0,126 | 0,151 | 39,43 |
| SE | 0,022 | 0,006 | 0,005 | 0,004 | 0,004 | 2,24 |
| 0,1-0,2% | среднее | 1,230 | 1,185 | 0,233 | 0,137 | 0,153 | 61,46 |
| SE | 0,022 | 0,004 | 0,004 | 0,003 | 0,003 | 3,58 |
| 0,3-0,4% | среднее | 0,632 | 1,152 | 0,157 | 0,101 | 0,121 | 31,50 |
| SE | 0,021 | 0,005 | 0,005 | 0,003 | 0,004 | 2,18 |
| Всего | среднее | 0,884 | 1,176 | 0,195 | 0,121 | 0,141 | 44,13 |
| SE | 0,013 | 0,003 | 0,003 | 0,002 | 0,002 | 8,96 |
| Примечание: Na-количество различных аллелей; Ne-количество эффективных аллелей; I-информационный указатель Шеннона; He-ожидаемая гетерозиготность; uHe-непредвзятая ожидаемая гетерозиготность; P-процент полиморфных локусов. | | | | | | | |

Ожидаемая гетерозиготность (He) варьировал от 0,101 (0,3-0,4%) до 0,137 (0,1-0,2%), при среднем значении 0,121. Значения P варьировалась от 31,5 (0,3-0,4%) до 61,46 (0,1-0,2%), значение Р у контроля был 39,43, , а среднее значение P составляло 44,13.

Популяция М2 растений были разделены на три группы (группы 1, 2 и 3) на основе анализа главных компонентов (Principal component analysis –PCoA). В группу 1 (зеленый цвет) вошли образцы обработанные 0,1-0,2% азида натрия; в группу 2 (красный цвет) – 0,3-0,4%; а в группу 3 (синий цвет) – контрольные образцы.Главные координаты Coord.1 и Coord.2 составили 96,73% и 3,27% соответственно(рисунок 25).Результаты PCoA четко отделил мутантные формы от контроля.

1 – 0,1-0,2%; 2 – 0,3-0,4%; 3 – контроль

Рисунок 25 – Анализ главных координат (PCoA) мутантных форма проса на основе ISSR-маркеров в зависимости от концентрации азида натрия

Контрольные образцы были сгруппированы в левом углу графика. М2 растения при концентрации 0,3-0,4% занимали промежуточное положение между контрольными и приконцентрации0,1-0,2% группами. Мутантные формы М2 растений при концентрации0,1-0,2% были распределены по правому спектру графика.

Таким образом, молекулярно­генетическийанализ позволилидентифицировать 1444 ISSR­локусов у М2 растений, из которых 1353 локусы были полиморфными. Процент полиморфных полос ISSR­маркеров варьировал от 77 % до 98,18%, при среднем значении 96,11%.PCoA с использованием данных ISSR-генотипированияконтрольных и мутантных М2 растений показал, что мутантные формы разделяется на отдельные группы в зависимости от концентрации мутагена.

**4.2Влияние различных концентрации колхицина на генетическую вариабельность мутантных форм проса**

Проведен молекулярныйанализ на основе ISSR маркеров среди образцов проса, подвергшихся воздействию различных концентраций колхицина. Внутрисортовой полиморфизм ISSR-маркеров определялся как доля выявленных локусов в конкретном образце мутантов от общего числа идентифицированных локусов для каждого типа маркеров, также выраженная в процентах. Каждый полученный ДНК фрагмент на образцах рассматривался как отдельный генетический локус (рисунок 26).

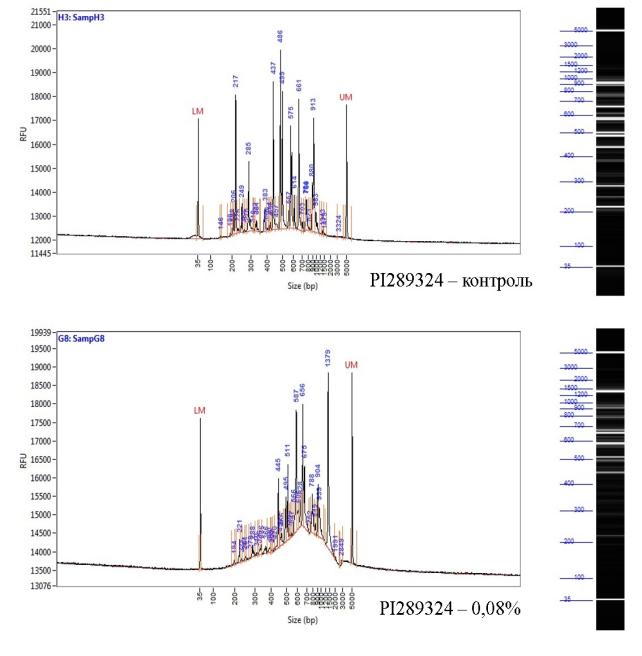
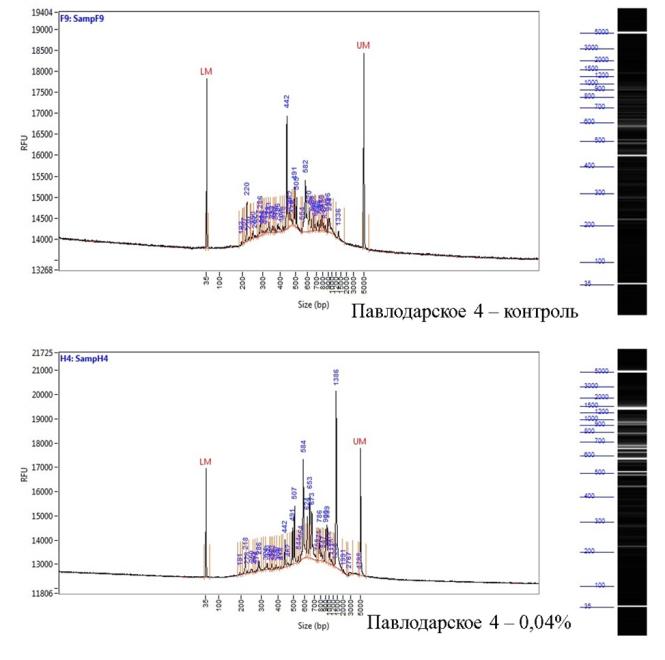


Рисунок 26 – Профили капиллярного электрофореза с использованием ISSR 834 маркера

У мутантных образцов под воздействием колхицинаобщее количество полос, продуцируемых 16 ISSR-маркерами, варьировало от 4 до 53, в среднем 20,82 ампликона на праймер. Размер амплифицированных фрагментов находился в диапазоне от 39 до 4827 п.н., как показано в таблице 31.

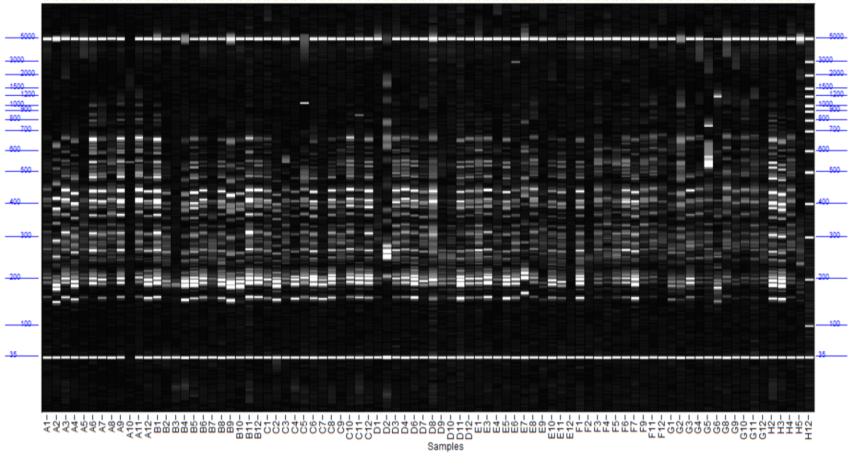
Таблица 31 **–** Подробная информация о маркерах ISSR, использованных в настоящем исследовании

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Маркер | Концентра-ция колхицина, % | Всеголокусов | Диапазонразмеров (п.н.) | Поли-морфныелокусы | Поли-морфизм, % | PIC |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| ISSR 807 | 0,00 | 12 | 229-3268 | 12 | 100 | 0,233 |
| 0,04 | 15 | 210-848 | 15 | 100 |
| 0,06 | 27 | 206-1301 | 25 | 92,5 |
| 0,08 | 33 | 172-3950 | 33 | 100 |
| ISSR 808 | 0,00 | 28 | 208-3778 | 28 | 100 | 0,249 |
| 0,04 | 16 | 213-1840 | 15 | 90,9 |
| 0,06 | 15 | 211-4689 | 15 | 100 |
| 0,08 | 23 | 206-1732 | 23 | 100 |
| ISSR 809 | 0,00 | 19 | 48-1055 | 19 | 100 | 0,217 |
| 0,04 | 16 | 218-1486 | 15 | 90,9 |
| 0,06 | 14 | 233-4313 | 14 | 100 |
| 0,08 | 25 | 214-2479 | 23 | 92,0 |
| ISSR 810 | 0,00 | 5 | 336-1069 | 5 | 100 | 0,219 |
| 0,04 | 8 | 170-4334 | 8 | 100 |
| 0,06 | 28 | 210-1400 | 26 | 92,8 |
| 0,08 | 21 | 218-1179 | 18 | 75,0 |
| ISSR 811 | 0,00 | 4 | 975-1068 | 4 | 100 | 0,228 |
| 0,04 | 5 | 457-1520 | 5 | 100 |
| 0,06 | 7 | 539-1724 | 7 | 100 |
| 0,08 | 14 | 492-1626 | 14 | 100 |
| ISSR 816 | 0,00 | 5 | 542-3954 | 5 | 100 | 0,226 |
| 0,04 | 4 | 3326-3466 | 4 | 100 |
| 0,06 | 9 | 536-4186 | 9 | 100 |
| 0,08 | 17 | 379-3489 | 16 | 94,1 |
| ISSR 817 | 0,00 | 11 | 278-3094 | 10 | 90,9 | 0,203 |
| 0,04 | 6 | 42-2769 | 6 | 100 |
| 0,06 | 12 | 39-3405 | 12 | 100 |
| 0,08 | 10 | 41-1630 | 10 | 100 |
| ISSR 819 | 0,00 | 11 | 224-3258 | 8 | 72,7 | 0,202 |
| 0,04 | 8 | 42-4525 | 8 | 100 |

Продолжение таблицы 31

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| ISSR 819 | 0,06 | 8 | 42-2347 | 7 | 87,5 | 0,202 |
| 0,08 | 5 | 42-3417 | 4 | 80,0 |
| ISSR 820 | 0,00 | 53 | 49-2922 | 53 | 100 | 0,219 |
| 0,04 | 27 | 202-2769 | 27 | 100 |
| 0,06 | 6 | 205-1697 | 6 | 100 |
| 0,08 | 8 | 44-2014 | 8 | 100 |
| ISSR 822 | 0,00 | 28 | 156-3845 | 26 | 92,8 | 0,214 |
| 0,04 | 22 | 162-3415 | 22 | 100 |
| 0,06 | 24 | 155-4293 | 23 | 95,8 |
| 0,08 | 12 | 157-4449 | 11 | 91,6 |
| ISSR 823 | 0,00 | 21 | 248-1568 | 19 | 90,4 | 0,226 |
| 0,04 | 22 | 247-1590 | 22 | 100 |
| 0,06 | 19 | 252-4661 | 19 | 100 |
| 0,08 | 14 | 255-1568 | 14 | 100 |
| ISSR 826 | 0,00 | 23 | 181-1396 | 23 | 100 | 0,237 |
| 0,04 | 18 | 52-4827 | 18 | 100 |
| 0,06 | 18 | 52-1775 | 18 | 100 |
| 0,08 | 23 | 51-1884 | 23 | 100 |
| ISSR 834 | 0,00 | 36 | 146-4051 | 33 | 91,6 | 0,293 |
| 0,04 | 38 | 187-4798 | 38 | 100 |
| 0,06 | 37 | 193-2849 | 27 | 72,9 |
| 0,08 | 34 | 189-4091 | 33 | 97,0 |
| ISSR 835 | 0,00 | 38 | 108-4320 | 34 | 89,4 | 0,311 |
| 0,04 | 35 | 134-4382 | 34 | 97,1 |
| 0,06 | 38 | 160-4093 | 35 | 92,1 |
| 0,08 | 43 | 134-4279 | 43 | 100 |
| ISSR 840 | 0,00 | 41 | 138-4000 | 38 | 92,6 | 0,322 |
| 0,04 | 45 | 144-4625 | 45 | 100 |
| 0,06 | 45 | 138-4417 | 45 | 100 |
| 0,08 | 32 | 49-4688 | 32 | 100 |
| ISSR 841 | 0,00 | 24 | 141-3964 | 24 | 100 | 0,266 |
| 0,04 | 18 | 155-2164 | 18 | 100 |
| 0,06 | 27 | 164-4442 | 24 | 88,8 |
| 0,08 | 23 | 158-4061 | 23 | 100 |
| среднее | - | 20,82 | - | 20,01 | 96,11 | 0,241 |

16 ISSR-праймеров дали всего 1333 фрагмента, из них 1281 был полиморфным, средний процент полиморфности составил 96,11%. Максимальный уровень полиморфизма имели маркеры ISSR 811, ISSR 820 и ISSR 826 (100%); за ними следуют ISSR 840, ISSR 816 и ISSR 807 98 (98%); маркеры ISSR 808, ISSR 817, ISSR 841 и ISSR 823 (97%); маркеры ISSR 809, ISSR 822 и ISSR 835 (95). Маркеры ISSR 810, ISSR 834 и ISSR 819 показали меньший уровень полиморфизма - 91%, 90% и 85% соответственно. Праймеры ISSR 807, ISSR 810, ISSR 811, ISSR 816, ISSR 835 и ISSR 840 амплифицировали больше полос при обработке 0,08% колхицина. Информационное содержание полиморфизма (PIC) маркеров варьировало от 0,202 до 0,322, в среднем 0,241. Максимальный PIC был зарегистрирован для ISSR 840 (0,322), за которым следовал ISSR 835 (0,311), а самый низкий (0,202) был для ISSR 819. Профили амплификации маркера ISSR 840 в капиллярной системе показан на рисунке 27 в качестве примера.



А1-Н5 –образцыгенотипов; Н12 –молекулярныймаркер (35 bp-5,000 bp, Agilent Technologies, Ankeny, IA 50021)

Рисунок 27 – Профили амплификации праймераISSR 840 в растениях М2

Были рассчитаны различные оценки генетического разнообразия для трех концентраций колхицина, при этом максимальная концентрация наблюдаемых число аллелей (Na) была зарегистрирована для контроля (0,913±0,023), за которой следовали концентрации колхицина 0,08% (0,801±0,023), 0,04% (0,676±0,022) и 0,06% (0,499±0,020), в среднем 0,722±0,022. Количество эффективных аллелей(Ne) был выше у 0,04% (1,232) и ниже у 0,06% (1,169), в среднем 1,205. Индекс Шеннона (I) колебался от 0,145 до 0,228, в среднем 0,192. He колебался от 0,099 до 0,147 со средним значением 0,127. Среднее значение uHe составило 0,380, при значениях 0,181 при 0,04%, 0,176 в контроле, 0,153 при 0,08% и 0,132 при 0,06%. Средний процент полиморфных локусов был ниже при концентрации 0,06% (23,92%) и выше при контроле (45,34%), в среднем 35,49%(таблица 32).

Таблица 32 – Информация о генетическом разнообразии проса в зависимости от различных концентраций колхицина, обеспечиваемая маркерами ISSR

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Концентрация колхицина, % | | среднее/SE | | Na | | Ne | I | He | uHe | P |
| контроль | | среднее | | 0,913 | | 1,224 | 0,228 | 0,147 | 0,176 | 45,34 |
| SE | | 0,023 | | 0,006 | 0,006 | 0,004 | 0,005 | 2,561 |
| 0,04% | | среднее | | 0,676 | | 1,232 | 0,199 | 0,136 | 0,181 | 32,85 |
| SE | | 0,022 | | 0,008 | 0,007 | 0,005 | 0,006 | 1,784 |
| 0,06% | | среднее | | 0,499 | | 1,169 | 0,145 | 0,099 | 0,132 | 23,92 |
| SE | | 0,020 | | 0,007 | 0,006 | 0,004 | 0,006 | 1,483 |
| 0,08% | среднее | | 0,801 | | 1,194 | | 0,199 | 0,128 | 0,153 | 39,84 |
| SE | | 0,023 | | 0,006 | | 0,006 | 0,004 | 0,005 | 2,457 |
| Примечание: Na-наблюдаемое число аллелей; Ne-количество эффективных аллелей; I-информационный указатель Шеннона; He-ожидаемая гетерозиготность; uHe-непредвзятая ожидаемая гетерозиготность; P-процент полиморфных локусов. | | | | | | | | | | |

С целью выявления влияния различных концентрации колхицина был проведен анализ главных компонентов (PCA) на М2растениях. Координаты главныхкомпонентовCoord. 1 и Coord. 2 составили 77,85% и 16,09% соответственно (рисунок 28).

1, 2, 1-10 – контроль; 1-12, 1-17 – 0,04%; 1-18, 1\_19 – 0,06%; 1-21, 1-22, 1-23 – 0,08%

Рисунок 28 – Анализ главных координат (PCoA) мутантных форма проса на основе ISSR-маркеров в зависимости от концентрации колхицина

Графическое представление результатов анализаPCAдля М2 растений проса на основе ISSR маркеров показал, что мутантные формы группируются отдельно от контрольных образцов. Все мутантные образцы частично перемешаны в зависимости от концентрации колхицина, что указывает на их генетический полиморфизм в сравнении с контролем.

Таким образом, анализ молекулярных данных с использованием маркеров ISSR показал наличие значительного генетического разнообразия между контрольными и образцами, подвергшимися воздействию различными концентрациями колхицина. Число генетических локусов, выявляемых ISSR-маркерами, колебалось от 4 до 53, всего по праймерам– 1333 локуса. PIC был выше для праймера ISSR 840 (0,322) и ниже для ISSR 819 (0,202). Из этих 1333 1281 локус оказался полиморфным, процент полиморфизма колебался от 80 до 100%. Можно отметить, что мутантные образцы сгруппированы тесно в левом углу и достоверно подтверждает эффект мутагена на М2 растения. Так, полученные результаты показали, что больше полос было амплифицировано при обработке 0,08% колхицина, что указывает на информативность маркеров ISSR для выявления мутагенных эффектов колхицина на молекулярном уровне.

**5 МУТАЦИОННАЯ И МОДИФИКАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ МУТАНТНЫХ ФОРМ М3РАСТЕНИЙ**

Морфологические, физиологические и генетические изменения, как высота растений, длина и окраска метелки, масса семян, длина вегетационного периода и другие, являются важными для оценки эффективности мутагенов. Эти макромутации могут оказать значительное влияние на продуктивность и другие агрономические характеристики растений. Использование таких морфологических изменений в селекционных программах позволяет создавать новые сорта с улучшенными характеристиками, такими как повышенная урожайность, устойчивость к стрессовым условиям, улучшенная адаптация к определенным климатическим зонам или болезням. Такие изменения могут быть отправной точкой для дальнейшего селекционного процесса, включая кроссинг и селекцию на основе желаемых свойств растений. Это позволяет селекционерам создавать новые сорта, отвечающие специфическим потребностям сельского хозяйства. На основании этого во втором поколении из всех полученных растений отобраны образцы с видимыми морфофизиологическими и мутационными изменениями. Из всего 45 вариантов растений М2, потомков растений обработанных азидом натрия всего было отобрано 18 вариантов с макромутациями. В опытах с колхицином из 30 вариантов М2идентифицированы 13 вариантов с морфофизиологическими изменениями.

**5.1 Изменчивость количественных признаков под влиянием мутагенов**

В течение вегетационного периода оценивали мутационную и модификационную изменчивость М3 растений. В результате изучения отобранных мутантных форм проса появление всходов и вегетативной массы в полевых условиях началось на восьмой день в контрольных вариантах и на двенадцатый день у мутантных вариантов. Вы описали интересные аспекты влияния факторов на рост и развитие проса в третьем поколении. Действительно, неблагоприятные условия, такие как недостаток осадков и низкая влажность почвы, могут значительно снижать полевую всхожесть семян. Кроме того, обработка семян азидом натрия и колхицином может вызывать мутации, которые в свою очередь влияют на генетические характеристики растений. Это может как положительно, так и отрицательно сказаться на их всхожести и устойчивости к стрессовым условиям.

В контрольных вариантах средняя полевая всхожесть генотипов проса при 4-часовой экспозиции составила 73,9%, тогда как у отобранных опытных вариантов при 0,2% - 72,9%, при 0,3% - 72,7%, при 0,4% - 70,0%, что на 12-30% выше в сравнении с результатами полевой всхожести растений М1-М2. В вариантах с 8- и 12-часовыми экспозициями также наблюдается уменьшение процента всхожести семян как и в предыдущих поколениях, но уже в незначительном количестве, что подтверждает о потери негативного действия мутагена на растения.

У колхимутантных растений наблюдения за динамикой развития не показали значительных отклонений от контрольной группы(таблица 33).

Таблица 33 – Полевая всхожесть семян и сохранность М3растений

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Азид натрия | | | | |
| Экспозиция обработки, ч | Наименование генотипа | Концентрации, % | Полевая всхожесть, % | Сохранность растений, % |
| 4 | Квартет | 0,0 | 74,3 | 71,5 |
| 0,2 | 72,5 | 71,6 |
| 0,3 | 72,0 | 68,8 |
| 0,4 | 68,8 | 66,7 |
| PI289324 | 0,0 | 75,5 | 72,4 |
| 0,3 | 73,5 | 71,5 |
| 0,4 | 70,7 | 66,4 |
| 0,5 | 65,5 | 61,2 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 72,5 | 71,4 |
| 0,2 | 73,4 | 70,6 |
| 0,4 | 70,5 | 67,5 |
| 8 | Квартет | 0,2 | 74,8 | 70,8 |
| 0,4 | 68,5 | 62,7 |
| PI289324 | 0,2 | 72,2 | 69,1 |
| 0,4 | 68,2 | 64,7 |
| Павлодарское 4 | 0,2 | 71,4 | 67,6 |
| 0,3 | 70,2 | 66,0 |
| 12 | Квартет | 0,4 | 69,3 | 66,7 |
| PI289324 | 0,2 | 72,6 | 70,2 |
| 0,3 | 69,7 | 66,8 |
| Павлодарское 4 | 0,2 | 70,5 | 66,9 |
| Колхицин | | | | |
| 6 | Квартет | 0,0 | 74,3 | 71,5 |
| 0,04 | 72,2 | 68,6 |
| PI289324 | 0,0 | 75,5 | 72,4 |
| 0,08 | 71,5 | 70,0 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 72,5 | 71,4 |
| 0,08 | 70,6 | 68,2 |
| 12 | Квартет | 0,06 | 69,7 | 66,4 |
| 0,08 | 68,3 | 64,8 |
| PI289324 | 0,06 | 71,9 | 67,8 |
| 0,08 | 68,1 | 65,9 |
| Павлодарское 4 | 0,06 | 67,5 | 64,7 |
| 0,08 | 65,9 | 61,8 |
| 24 | Квартет | 0,1 | 64,5 | 60,7 |
| PI289324 | 0,06 | 68,7 | 65,0 |
| Павлодарское 4 | 0,08 | 71,2 | 67,2 |
| 0,1 | 72,4 | 70,4 |

Это может свидетельствовать о том, что условия эксперимента не оказали существенного воздействия на рост и развитие растений, или же о том, что эффекты мутаций, вызванные обработкой, были недостаточно выражены при подсчете количества сохранных растений. Сохранность растений относительно полевой всхожести была снижена на -1,1%-4,0%, но следует отметить, что процент сохранности был незначительно ниже у мутантных вариантов, чем в М1 и М2 поколениях.

Таким образом, в опыте отмечено несущественное снижение числа взошедших семян и сохранных растений в вариантах и при минимальной, и при максимальной концентрациях азида натрия и колхицина. Исследование наследования морфологических и физиологических изменений показало, что некоторые из них являются стабильными и передаются следующему поколению. Это может свидетельствовать о том, что эти изменения имеют генетическую основу и могут быть результатом мутаций, вызванных обработкой семян и обусловлены мутациями и в третьем поколении отрицательное действие мутагенов уменьшалось.Варианты с более длительнымиэксзпозициями (12 ч и 24 ч) достоверно снижали полевую всхожесть и сохранностьМ3растений, в отличии от вариантов с 4 ч, 6 ч и 8-часовыми обработками.

Изучаемые в опыте факторы действительно могут оказывать различное влияние на морфометрические показатели и основные элементы продуктивности растений проса в третьем поколенении. Подтверждение мутантной природы у 75,7 % вариантов во втором поколении говорит о том, что обработка семян привела к значительным генетическим изменениям: форма метелки, очень сильная кустистость истерильная метелка. Наибольшее число мутантных растений в третьем поколении получено в вариантах с азидом натрия при 4-часовой экспозиции при 0,2% и 0,5% концентрациях, при 12-часовой экспозиции при 0,2% и 0,3%. Максимальная частота мутаций зафиксирована в вариантах при концентрации 0,2%.

В таблице 34 приведены результаты морфометрического и структурного анализов полученных М3 растений. Существует значительная разница между вариантами с азидом натрия и контрольными у сорта Квартет высота растений была на +11,4 см и по длине метелки на +1,5 см выше контрольных. По среднему значению количества междоузлий следует выделить 8-часовую экспозицию.

В третьем поколении преобладали мутации морфологических и количественных признаков. Это может указывать на то, что определенные типы мутаций стабилизировались и стали более выраженными в условиях, в которых растения развивались (таблица 35).

Таблица 34 – Морфометрический и структурный анализы мутантных форм проса М3, обработанных азидом натрия

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Наименование  генотипа | Концен-трация, % | Экспо-зиция, час | Высота  растений, см | Количество  междоузлий, шт | Длина метелки, см | Продуктив-ная  кустистость | Масса семян с метелки, г | Масса семян с растения, г | Масса 1000 семян, г | Урожайность, г/м2 |
| Квартет | 0,0 | 4 | 70,5 | 5,2 | 23,7 | 1,5 | 3,5 | 7,4 | 6,0 | 731,4 |
| 0,2 | 67,3 | 4,9 | 22,3 | 3,0 | 2,7 | 7,6 | 6,1 | 761,2 |
| 0,3 | 81,4 | 5,4 | 25,2 | 1,7 | 3,4 | 6,4 | 6,5 | 649,7 |
| 0,4 | 72,5 | 5,3 | 25,3 | 1,6 | 3,3 | 6,8 | 6,4 | 624,4 |
| PI289324 | 0,0 | 81,1 | 6,0 | 28,9 | 1,7 | 3,1 | 6,2 | 6,5 | 528,0 |
| 0,3 | 80,7 | 6,1 | 27,8 | 2,1 | 1,5 | 3,2 | 6,7 | 321,8 |
| 0,4 | 73,5 | 4,8 | 27,2 | 1,6 | 2,9 | 5,2 | 6,2 | 547,9 |
| 0,5 | 74,6 | 4,0 | 22,2 | 2,3 | 3,1 | 7,1 | 6,5 | 719,4 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 76,7 | 5,2 | 24,2 | 1,6 | 3,1 | 6,5 | 6,2 | 608,3 |
| 0,2 | 70,2 | 4,4 | 24,4 | 4,1 | 3,3 | 6,7 | 6,4 | 836,4 |
| 0,4 | 75,5 | 5,4 | 22,3 | 3,3 | 2,9 | 6,0 | 6,5 | 752,4 |
| Квартет | 0,2 | 8 | 67,0 | 6,0 | 23,6 | 2,0 | 2,2 | 4,5 | 5,4 | 456,7 |
| 0,4 | 65,0 | 6,1 | 22,4 | 1,5 | 2,8 | 5,8 | 6,0 | 496,2 |
| PI289324 | 0,2 | 66,5 | 5,2 | 23,1 | 1,7 | 2,4 | 4,3 | 6,0 | 304,3 |
| 0,4 | 66,0 | 6,0 | 18,0 | 2,5 | 1,4 | 3,6 | 4,7 | 367,7 |
| Павлодарское 4 | 0,2 | 62,0 | 4,5 | 24,0 | 1,5 | 1,1 | 4,4 | 7,3 | 445,4 |
| 0,3 | 78,2 | 6,1 | 23,0 | 2,0 | 1,2 | 1,4 | 6,5 | 445,1 |
| Квартет | 0,4 | 12 | 66,2 | 4,6 | 22,4 | 1,5 | 2,7 | 4,1 | 6,1 | 414,8 |
| PI289324 | 0,2 | 84,4 | 5,2 | 27,6 | 2,0 | 2,1 | 4,2 | 5,7 | 626,9 |
| 0,3 | 74,6 | 4,5 | 21,2 | 2,9 | 2,7 | 7,9 | 5,6 | 793,7 |
| Павлодарское 4 | 0,2 | 88,0 | 6,2 | 25,3 | 2,9 | 3,4 | 6,8 | 6,2 | 681,4 |

Таблица 35 – Морфометрический и структурный анализы мутантных форм проса М3, обработанных колхицином

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Наименование  гнотипа | Концентрация, % | Экспо-зиция, час | Высотарастений, см | Количествомеждоузлий, шт | Длина метелки, см | Продуктив-наякустистость | Масса семян с метелки, г | Масса семян с растения, г | Масса 1000 семян, гр | Урожайность, г/м2 |
| Квартет | 0,0 | 6 | 70,5 | 5,2 | 23,7 | 1,5 | 3,5 | 7,4 | 6,0 | 737,8 |
| 0,04 | 79,8 | 5,2 | 29,0 | 2,6 | 4,5 | 9,2 | 6,3 | 928,3 |
| PI289324 | 0,0 | 81,1 | 6,0 | 28,9 | 1,7 | 3,1 | 6,2 | 4,9 | 528,4 |
| 0,08 | 81,0 | 5,1 | 22,0 | 2,4 | 3,2 | 7,6 | 5,1 | 769,5 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 76,7 | 5,2 | 24,2 | 1,6 | 3,1 | 6,5 | 6,2 | 608,2 |
| 0,08 | 80,0 | 5,5 | 26,5 | 1,6 | 3,0 | 6,4 | 5,5 | 528,4 |
| Квартет | 0,06 | 12 | 61,6 | 4,4 | 19,6 | 1,5 | 3,4 | 5,1 | 5,3 | 509,6 |
| 0,08 | 72,4 | 4,5 | 22,3 | 2,4 | 3,3 | 7,0 | 6,1 | 784,7 |
| PI289324 | 0,06 | 70,4 | 4,3 | 24,1 | 1,6 | 3,7 | 7,8 | 5,9 | 642,4 |
| 0,08 | 78,0 | 5,0 | 21,0 | 1,5 | 1,8 | 2,8 | 6,2 | 282,5 |
| Павлодарское 4 | 0,06 | 76,0 | 5,3 | 23,0 | 1,5 | 2,0 | 4,3 | 5,7 | 438,2 |
| 0,08 | 64,0 | 4,0 | 21,8 | 1,5 | 2,4 | 5,0 | 5,7 | 513,7 |
| Квартет | 0,1 | 24 | 75,6 | 4,2 | 23,8 | 1,5 | 3,4 | 7,2 | 6,2 | 573,1 |
| PI289324 | 0,06 | 61,9 | 4,6 | 25,9 | 1,6 | 3,7 | 6,7 | 5,0 | 607,0 |
| Павлодарское 4 | 0,08 | 72,3 | 5,3 | 23,5 | 2,0 | 2,9 | 5,8 | 6,4 | 582,3 |
| 0,1 | 69,2 | 4,6 | 20,8 | 1,5 | 3,6 | 8,4 | 6,5 | 841,5 |

По результатам, видно, что спектр морфофизиологических мутацийсократился в третьем поколении. В контрольном варианте семей с мутациями не наблюдалось.

В целом среди изученных вариантов по ряду признаков, составляющих продуктивность растений выделяютя варианты при применении различных концентрации и экспозиции обработки азида натрия при 4-часовой экспозиции у сорта Квартет 4 при концентрации 0,2% +30,0г/м2, у сортообразцаPI289324 при 0,5% +191,4г/м2 и при 12-часовой экспозиции у PI289324 при 0,3% +265,0г/м2 и у сорта Павлодарское 4 при 02% +73,0г/м2. В опытах с различными концентрациями и временами обработки колхицином урожайность мутантных форм превосходила контрольные варианты у сорта Квартет при 0,04% +191,0г/м2 и у генотипа PI289324 при 0,08% на +241,0г/м2 при 6-часовой экспозиции и при 12-часовой при концентрации 0,06% +112,5 г/м2, при 24-часовой экспозиции у PI289324 при 0,06% +78,5 г/м2 у сорта Павлодарское 4 при 0,1% +233,0г/м2. В результате у всех вариантов опыта были выявлены наследственные изменения различной природы.

Мутации являются основным источником генетических вариаций у всех видов растений и вносят ключевой вклад в фенотипической изменчивости [310]. Фенотипические изменения возникают в результате спонтанных мутаций под воздействием различных факторов, которые последовательно устраняются путем отбора и сохраняются в последующих поколениях на генном уровне, но изучение цвета цветков помогает пролить свет на этот вопрос [311, 312].Действительно, исследования с ячменем показывают, что применение химического мутагена, такого как фосфемид, может приводить к различиям в росте и развитии растений. Это, в свою очередь, отражается на фенотипическом проявлении морфологических признаков.И.А. Рапопорт правильно подметил, что фенотип в значительной степени зависит от взаимодействия генетической структуры и внешней среды. В этом контексте химические мутагены могут оказывать как положительное, так и отрицательное влияние на растения [313].

В М3 поколений хлорофилл-дефектные мутации в ходе полевых наблюдений не выявлены. Отсутствие хлорофилл-дефектных изменений таких как, albina и сhlorina в М3 поколений объясняется тем, что эти мутацийявляются летальными на ранних этапах онтогенеза, не передавая свои гены потомству.

При наблюдении за М3растениями проса посевного в полевых условиях было отмечено изменение количества продуктивных метелок на одном стебле и окраски растений под воздействием мутагенов. Анализ количества метелок на одном растений показал неодинаковую ответную реакцию на воздействие азида натрия (рисунок 29).



Рисунок 29 – Продуктивная кустистость сорта Павлодарское 4: а – контроль; с экспозицией 4 часа: б – 0,2 %, в – 0,4%; с экспозицией 12 часов: г – 0,2%

Так, эффект стимуляции роста растений по количеству метелок на одном стебле отмечен у образца Павлодарское 4 при двух концентрациях мутагена (0,2% и 0,4%) с различными временными экспозициями (4 и 12 часов) может действительно дать разные результаты в зависимости от специфики воздействия с 7 метелками и при 0,4% - 6 метелок, 12 часов и 0,2% - 6 метелок, при этом выполненность семян у боковых метелок была на уровне главной и созревание метелок было одновременным с главной. У отмеченных вариантов хоть и наблюдалось большее количество метелок на одном стебле, но при этом устойчивость к полеганию продолжала оставаться высокой. Обработка семян азидом натрия привела к схожим изменениям также у образцов Квартет и PI289324.

Аналогичная изменчивость под влиянием колхицина отмечена в вариантах у PI289324 с 0,08% при выдержке семян 6 часов,у сорта Квартет при экспозициях 6 часов с концентрацией 0,04% и 24 часа 0,1%, (рисунок 30).

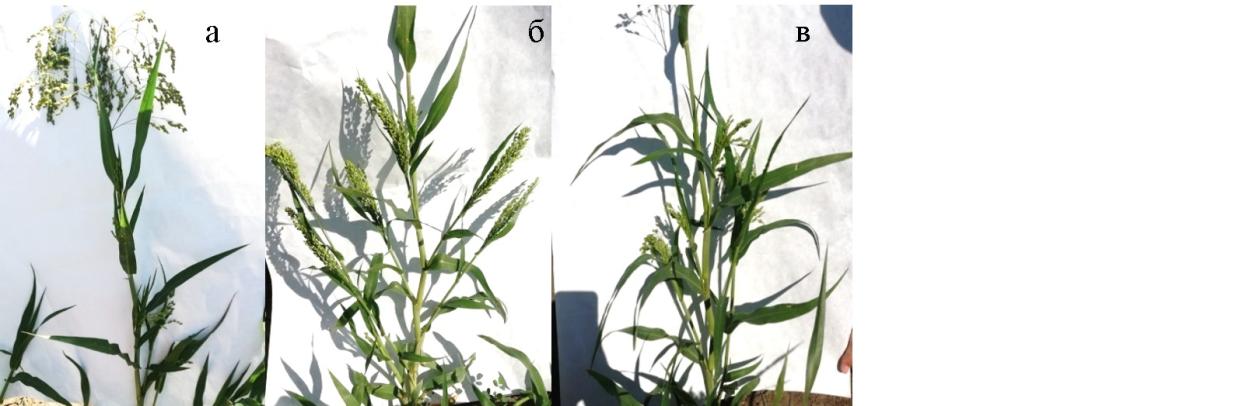


Рисунок 30 – Продуктивная кустистость сорта Квартет: а – контроль; б – 0,04% с экспозицией 6 часов; в – 0,08% с экспозицией 12 часа

Согласно рисунку 30у образца Квартет в варианте с концентрацией 0,04% при 6 часах количество метелок на одном стебле составило - 8 штук, с концентрацией 0,08% при 12 часах - 7 штук. В остальных случаях по значениям признака в контрольном и обработанном вариантах существенных отличий не обнаружено, это может указывать на несколько возможных причин.

Под воздействием колхицина у мутантных растений были обнаружены антоциановые пигментации в метелках, в то время как в контрольном варианте они отсутствовали (рисунок31).

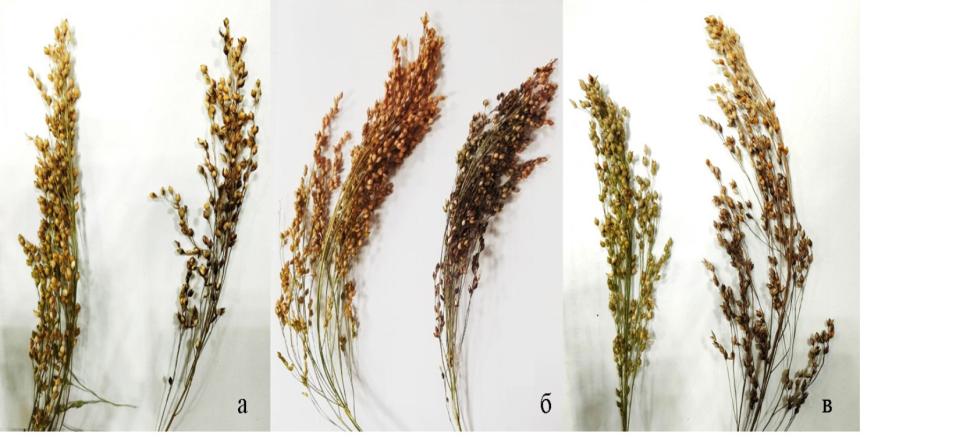


Рисунок 31 – Антоциановая окраска метелки мутантных форм проса: а – Квартет; б – PI289324; в – Павлодарское 4

В вегетативных тканях растений антоцианы могут играть защитную роль, например, в качестве солнцезащитного барьера, антиоксидантов или антипатогенов[314]. Растения с антоциановой окраской имеют способность уменьшать любые негативные плейотропные эффекты [315-316], тогда как растения без антоцианов часто демонстрируют недостатки к адаптации окружающей среде [317]. Установлено, что у антоциансодержащих растений устьица преимущественно открыты и функционируют на протяжении всего дня. Процесс фотосинтеза у них протекает интенсивнее, чем у растений не образующих данного пигмента[318]. На защитную роль антоцианов в свое время обратил внимание Ч. Дарвин, указывая на то, что пигментированные растения обладают большей устойчивостью к заболеваниям по сравнению с непигментированными представителями тех же видов [319]. Обнаруженные в метелках антоциановые пигментации могут влиять на способность усиление защитных механизмов мутантных растений от абиотических и биотических стрессов.

Таким образом,Проведенные исследования, подтверждающие, что 0,2-0,4% азид натрия является эффективным мутагенным фактором для культуры проса, действительно открывают интересные возможности для селекции. Получение наследственных изменений у растений третьего поколения (М3) свидетельствует о том, что мутации могут быть стабильными и передаваться потомству, что важно для дальнейшей работы в селекции, мутанты с увеличенной массой семян в метелке и повышенной продуктивностью куста. Эти виды могут представлять ценный материал для начального выбора в работе по селекции проса.

**5.2 Оценка физиологических параметров М3 растений**

Для изучения влияния мутагенов на М3 растений проведен анализ на физиологические параметры такие как, содержание пигментов (Chl*a*, Chl*b* и *car*) и размеры устьиц. Содержание пигментов М3 растений был определен спектрофотометрическим, а размеры устьиц микроскопическиманализом.

Физиологические параметры выявили значительные изменения в М3 поколений. При 4-часовой обработке более высоких концентрациях 0,2-0,5% азида натрия содержание Chl*a*значительно повышалось и был показатель выше, чем при контроле. Обработка 0,5% азидом натрия в большинстве образцах показала самое высокое содержание Chl*b*. По содержанию каротиноидов у М3 растений существенных отличий не выявлено, за исключением сорта Павлодарское 4 при 0,3% азида натрия в 12-часовой экспозиции наблюдалось 5-кратное увеличениесодержания каротиноидов.

Аналогичные данные получены также при обработке колхицином, по содержание Chl*a* максимальное значение показали образцы при более высоких концентрациях (0,08-0,1%). Содержание Chl*b*и *car*были значительно выше по сравнению с контролем во всех концентрациях колхицина. У сорта Квартет при 0,06 и 0,08% в 12-часовой обработке колхицина существенно повысился уровень каротиноидов(таблица 36).

Таблица 36 – Физиологические показатели М3 растений

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Экспозиция обработки, ч | Образцы | Концентрации, % | Chl*a* мг/г | Chl*b* мг/г | *car*, мг/г | Размер устьиц (длина/  ширина),мкм |
| Азид натрия | | | | | | |
| 4 | Квартет | 0,0 | 3,71 | 2,28 | 0,52 | 88,1/50,2 |
| 0,2 | 8,94 | 2,04 | 0,31 | 86,7/31,2 |
| 0,3 | 5,02 | 2,35 | 0,72 | 85,2/29,4 |
| 0,4 | 3,53 | 4,30 | 0,25 | 83,4/27,0 |
| PI289324 | 0,0 | 1,87 | 2,38 | 0,85 | 81,4/50,4 |
| 0,3 | 2,01 | 5,28 | 1,88 | 78,9/37,5 |
| 0,4 | 3,21 | 10,57 | 1,97 | 58,2/19,3 |
| 0,5 | 4,63 | 1,91 | 3,99 | 57,6/23,0 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 1,80 | 8,14 | 1,47 | 92,1/58,3 |
| 0,2 | 1,70 | 10,68 | 2,81 | 84,1/35,8 |
| 0,4 | 2,05 | 0,93 | 1,34 | 75,5/25,2 |
| 8 | Квартет | 0,2 | 1,94 | 8,45 | 1,01 | 77,6/33,9 |
| 0,4 | 0,23 | 2,74 | 0,95 | 75,4/30,1 |
| PI289324 | 0,2 | 2,35 | 0,10 | 2,06 | 54,3/35,7 |
| 0,4 | 1,46 | 5,61 | 0,95 | 51,0/33,2 |
| Павлодарское 4 | 0,2 | 4,39 | 1,15 | 2,93 | 82,6/27,6 |
| 0,3 | 2,72 | 1,92 | 0,40 | 81,4/25,8 |
| 12 | Квартет | 0,4 | 5,63 | 1,99 | 3,55 | 72,2/28,6 |
| PI289324 | 0,2 | 2,58 | 8,04 | 0,83 | 55,1/23,6 |
| 0,3 | 7,90 | 2,14 | 6,21 | 54,4/23,1 |
| Павлодарское 4 | 0,2 | 6,62 | 6,27 | 2,75 | 77,9/27,3 |
| Колхицин | | | | | | |
| 6 | Квартет | 0,0 | 2,37 | 4,80 | 0,34 | 88,1/50,2 |
| 0,04 | 2,82 | 11,46 | 2,31 | 75,1/34,6 |
| PI289324 | 0,0 | 4,15 | 4,35 | 0,73 | 81,4/50,4 |
| 0,08 | 2,95 | 9,08 | 1,23 | 79,7/45,6 |
| Павлодарское 4 | 0,0 | 2,24 | 0,56 | 0,81 | 92,1/58,3 |
| 0,08 | 0,76 | 8,66 | 3,14 | 89,5/52,4 |
| 12 | Квартет | 0,06 | 2,31 | 21,80 | 6,25 | 66,5/24,9 |
| 0,08 | 1,36 | 15,80 | 4,39 | 65,8/23,5 |
| PI289324 | 0,06 | 3,17 | 10,43 | 2,54 | 58,4/23,1 |
| 0,08 | 4,40 | 2,08 | 2,07 | 55,2/20,8 |
| Павлодарское 4 | 0,06 | 6,90 | 1,86 | 3,14 | 75,5/24,1 |
| 0,08 | 5,15 | 10,93 | 0,34 | 73,7/22,6 |
| 24 | Квартет | 0,1 | 3,06 | 3,83 | 1,22 | 58,0/21,6 |
| PI289324 | 0,06 | 2,60 | 10,46 | 1,64 | 47,5/19,4 |
| Павлодарское 4 | 0,08 | 3,11 | 13,58 | 2,93 | 66,4/22,4 |
| 0,1 | 4,28 | 2,12 | 2,04 | 64,8/21,5 |

У проса действительно есть несколько уникальных адаптаций, которые помогают ему выживать в условиях засухи. Одной из таких адаптаций является способность к C4 фотосинтетическому пути, который позволяет растению более эффективно использовать свет и углекислый газ, особенно в условиях высокой температуры и ограниченного водоснабжения.Кроме того, просо имеет глубокую корневую систему, что помогает ему добывать воду из более глубоких слоев почвы. Некоторые виды проса также могут накапливать специальные осмотические вещества, которые помогают сохранять водный баланс в клетках. Эти механизмы делают просо более устойчивым к засушливым условиям по сравнению с другими культурами. У пшеницы размер устьиц составляет 68,2 мкм, у овса – 72,8 мкм, а у проса – 35,2 мкм, что способствует эффективному сохранению влаги. Эти данные подчеркивают уникальную термостойкость проса по сравнению с другими зерновыми культурами. Паралич устьиц при высоких температурах (38-40 °C) — это защитный механизм, позволяющий растениям уменьшить потерю влаги. Однако, просо способно сохранять функциональность устьиц в течение гораздо более длительного времени в течение 48 часов, что позволяет ему более эффективно осуществлять фотосинтез и адаптироваться к жарким условиям. Тогда как у овса паралич устьиц наступает через 4 ч., у яровой пшеницы через 10-17 ч., у озимой пшеницы через 15-25 ч., у ячменя и озимой ржи через 20-35 часов. Эта особенность делает просо особенно ценным в регионах с высоким уровнем теплового стресса и дефицитом воды, так как оно может продолжать производить урожай даже в неблагоприятных климатических условиях

При достижении критической температуры (38-40 °C) паралич устьиц наступает через 4 часа у овса, через 10–17 часов у яровой пшеницы, через 15-25 часов у озимой пшеницы, через 20-35 часов у ячменя и озимой ржи, в то время как у проса этого явления не наблюдается в течение 48 часов. Его высокая водоэффективность — это результат не только C4 фотосинтетического пути, который позволяет растению более эффективно использовать углекислый газ, но и особенностей его физиологии и морфологии. Просо способно расходовать меньше воды для синтеза питательных веществ по сравнению с другими культурами, такими как суданская трава, овес и пшеница. Это позволяет ему продолжать расти и развиваться даже в условиях длительной засухи, что делает его особенно ценным для фермеров в регионах с нестабильным климатом.Эти адаптации способствуют не только выживанию, но и обеспечивают конкурентные преимущества в условиях нехватки воды, что делает просо одним из основных культурных растений для устойчивого земледелия в засушливых регионах[320].В ходе исследований был определен размер устьиц листьев на стадии выметывания метелок в контрольных, так и у М3 растений (рисунок 32).

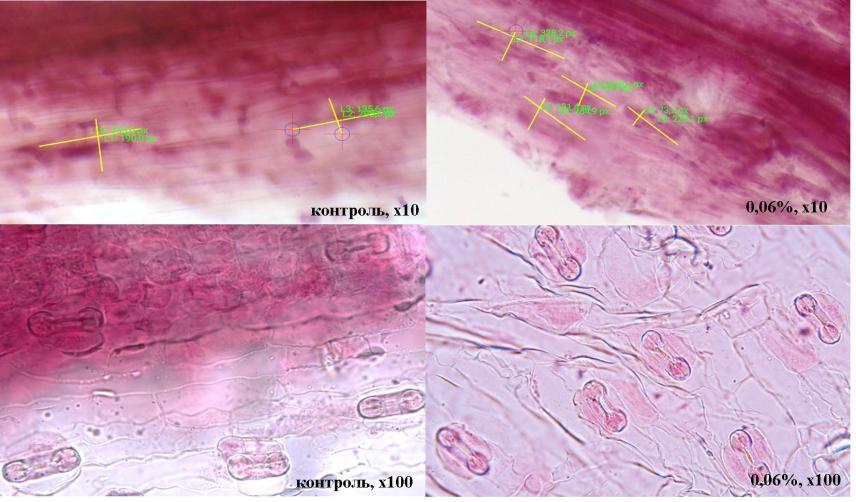


Рисунок 32 – Устьицы в эпидермисе листьевпроса абаксиальной стороны контрольного и мутантного М3растения

Для измерения размер устьиц брали небольшой участок листьев с абаксиальной стороны. Длина и ширина устьиц измеряли под световым микроскопом при 100-кратном увеличении, с помощью окуляр-микрометра[220].Микроскопический анализ показал, что обработка мутагеном снижала размер устьиц при более высоких концентрациях, показатель длины и ширины устьиц были значительно ниже, чем при контроле. Например, у PI289324 при контроле длина/ширина устьиц в среднем составили 81,4/50,4 мкм, тогда как при 4-часовой обработке 0,5% азидом натрия длина/ширина устьиц в среднем были 57,6/23,0 мкм. Это доказывает адаптивность и защитный механизм мутантных форм к стресс факторам окружающей среды.

**5.3 Характеристика мутантов с хозяйственно-полезными признаками**

Выделены 20 перспективных мутантных форм проса. представляющие селекционный интерес. Мутантные формы могут обладать разнообразными хозяйственно-ценными признаками. Отобранные формы были переданыв ТОО «Актюбинская сельскохозяйственная опытная станция» и в ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства имени А.И. Бараева».

Ниже приводитсякраткая характеристика некоторых мутантных форм.

Мутант АН 2-4-К выделен во втором поколении в течение 4 ч врастворе азида натрия с концентрацией 0,2%. Разновидность: кокцинеум. Растения имеют высоту от 70 до 140 см. Метелка средне развесистая. Масса семян с растениявысокая (7,6 г). Масса1000 зерен составляет 6,1 г и относится к средней группе крупности, зерна округлой формы, красноватого цвета.Продуктивная кустистость в среднем составила 2,5-3. Полная спелость наступает на 5-6 дней раньше контрольных образцов. Урожайность на +3 ц/га выше контроля.

Мутант АН 3-12-Р выделен в М2 поколении при обработке семян азидом натрия в течение 12 ч при концентрации 0,3%. Растения имеют высоту от 65 до 110 см. Метелка сжатая. Масса семян с растениявысокая (7,9 г). Зерно средней крупности с массой 1000 зерен - 6,5 г, круглой формы, кремового цвета.Продуктивная кустистость в среднем составила 2,7-2,9. Созревание наступает на 6-8 дней раньше контрольных образцов. Урожайность на +18 ц/га выше контроля.

Мутант АН 2-12-П выделен в М2 поколении при обработке семян азидом натрия в течение 12 ч при концентрации 0,2%. Растения высотой от 85 до 150 см. Форма метелкисреднесжатая. Семена относятся к средней группе крупности с массой 1000 зерен 6,5 г, округлой формы, красного цвета.Отличается высокой продуктивностью кустистостью и массой зерна с растения (6,8 г). Созревание наступает на 5-6 дней раньше контрольных образцов. Урожайность на +7 ц/га выше контроля.

Мутант К 4-6-К выделен во втором поколении при обработке семян раствором колхицина в течение 6 ч при концентрации 0,04%. Растения имеют высоту от 75 до 130 см. Метелка средне сжатая, длинная. Масса семян с метелки (4,5 г), с растениявысокая (9,2 г). Зерно средней крупности (масса1000 зерен 6,3 г), округлой формы, красного оттенка.Продуктивная кустистость в среднем составила 2,5-2,6. Созревание наступает на 6-7 дней раньше контрольных образцов. Урожайность на +19 ц/га выше контроля.

Мутант К 6-12-Р выделен во втором поколении при обработке семян раствором колхицина в течение 12 ч при концентрации 0,06%. Растения имеют высоту от 75 до 120 см. Метелка средне сжатая. Масса семян с метелки (3,7 г), с растениявысокая (7,8 г). Зерно средней крупности (масса1000 зерен 6,2 г), округлой формы, кремового оттенка.Продуктивная кустистость в среднем составила 2,4-2,8. Имеет сильный антоциановый окрас. Созревание наступает на 7-8 дней раньше контрольных образцов. Урожайность на +12 ц/га выше контроля.

Мутант К 1-24-П выделен во втором поколении при обработке семян раствором колхицина в течение 24 ч при концентрации 0,1%. Растения имеют высоту от 80 до 120 см. Метелка средне сжатая. Масса семян с метелки (3,6 г). Зерно средней крупности (масса1000 зерен 7,2 г), округлой формы, коричневого оттенка.Отличается высокойкустистостью (2,0) и массой зерна с растения (8,4 г).Созревание наступает на 7-8 дней раньше контрольных образцов. Урожайность на +21 ц/га выше контроля.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

По результатам исследований за 2020-2023 гг. была выявленаэффект использования азида натрия и колхицина при создании исходного материала проса (*Panicummiliaceum* L.) с хозяйственно-ценными признаками для селекции проса в условиях Северного Казахстана и на основе полученных результатов сделаны следующие выводы:

1. Определен мутагенный эффект различных концентрации и экспозиций обработки азида натрия и колхицина на лабораторную всхожесть семян и морфофизиологические параметры проростков и корешков проса. Тогда как, обработка азидом натрия при концентрации 0,1% раствора азида натрия и 0,04% колхицина оказывала стимулирующий эффект на лабораторную всхожесть семян, высокие концентрации азида натрия (0,4%-0,5%) и колхицина (0,08% и 0,1%) при 12- и 24-часовых экспозициях оказывали негативный эффект для проростков. Мутагенные свойства азида натрия и колхицина подтверждены цитогенетическим анализом, у обработанных мутагенами корешков в апикальной меристеме обнаружено значительно большее количество клеток и стадии деления клеток в митозе, чем у контрольных.

2. Установлено, что различные концентрации и экспозиции обработки мутагенов оказывали следующее действие на М1-М2растения в период вегетации:

-анализ полевой всхожести семян и сохранность растений М1 проса позволил определить концентрации азида натрия 0,1% и 0,3% и колхицина 0,04% и 0,06%, как наиболее оптимальные для роста и развития. Концентрации 0,4% и 0,5% в опытах с азидом натрия и 0,08%-0,1% с колхицином отнесены к сублетальным и летальным, так как всхожесть у данных вариантов была близка или ниже 50%. Полевая всхожесть у М1(68,0-73,0%) под действием мутагенов была значительно ниже, чем у М2 растений(71,7-81,5%).

-эффект применения высоких концентрации и длительных экспозиции мутагена зафиксирован по признаку скороспелость в вариантах азида натрия при 0,3-0,5% концентрациях с экспозицией 12 часов и колхицина при концентрациях 0,06-0,1% с экспозицией обработки 12 и 24 часов в М1-М2 поколениях. Образец PI289324 имел более короткий вегетационный период и при фиксации фаз вегетации отмечено более интенсивное созревание метелок и зеленой массы растений по сравнению с сортами Квартет и Павлодарское 4, что указывает на высокую мутабильность данного сортообразца.

-выявлена тенденция увеличения продуктивной кустистости при концентрациях азида натрия 0,2-0,5% и колхицина 0,08-0,1% в сочетании с длительностью воздействия в среднем отмечено увеличение на 25-35%, по сравнению с контролем.

3. По результатам анализа корреляций установлено, что продуктивность растений, обработанных азидом натрия, имеет положительную корреляцию и в большей степени обуславливается следующими свойствомполевой всхожестью семян (r=0,77) и признаками продуктивной кустистостью на 1 растений и массой семян с метелки (r=0,70).

4. Двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) подтверждает значимость влияния различных концентрации и экспозиции обработки колхицина на урожайность по агрономическим свойствамтаким как полевая всхожесть и сохранность растений при всех концентрациях колхицина (0,04%, 0,06%, 0,08% и 0,1%) с Р<0,001 и хозяйственно-ценным признакам: масса 1000 семян также была связана с 12- и 24-часовыми продолжительностью обработки и составляла 0,031 и 0,004 соответственно (P<0,05 и P<0,001) в поколении M1. В поколении М2 подтверждается влияние 0,08% и 0,1% концентрации мутагена на вегетационный период - P<0,05. Концентрации 0,06%, 0,08% и 0,1% были связаны с продуктивной кустистостью, P<0,05, P<0,001 и <0,01 соответственно.

5. Определение активности фотосинтетических пигментов в листьях М1-М2 растений при высоких концентрациях мутагена свидетельствует о негативном влиянии мутагенов на накопление Chl*a* иChl*b*за исключением каротиноидов, что может являться признаком скороспелости мутантных образцов так, как содержание каротиноидов показывает начало созревания и увядания растений. Концентрации 0,04-0,08% колхицина достоверно увеличивали содержание каротиноидов в 2-2,5 раза, относительно контроля.

6. Характеристика и сравнение хлорофилл-дефицитных мутаций: albina, сhlorina, viridis, lutescent, corroded, maculate, striataлистьев по типам в целом показали, что частота мутаций увеличивается с увеличением концентрации и продолжительности воздействия мутагенами, однако частота дефицита хлорофилла на листьях была выражена выше в М1, чем в М2 поколений. Установлено, что азида натрия приводит к уменьшению выхода хлорофилльных мутаций в М2 растений, по сравнению в опытах с колхицином. По признаку хлорофилл-дефектных изменений среди изучаемых генотипов сорт Павлодарское 4 показал низкую отзывчивость на мутагены. В М3поколений хлорофилл-дефектные мутации проявили модификационную природу.

7. Молекулярно-генетический анализ на основе ISSR­маркеров подтвердил наличие большей генетической вариабельности мутантных образцов по сравнению с контролем. Из всего протестированных 16 праймеров, максимальное количество локусов было амплифицировано при концентрации 0,2% азида натрия и 0,08% колхицина. При использовани азида натрия и колхицина полиморфизм составил 92,44% и 96,11% соответственно. Анализ главных координат (PCoA) с использованием данных ISSR-генотипированияконтрольных и мутантных М2 растений показал, что мутантные формы разделяется на отдельные группы в зависимости от концентрации мутагена.

8. Из всего 75 вариантов М2 растений выделены 31 вариант с видимыми макромутациями и морфофизиологическими изменениями. Во всех выделенных вариантах опыта получены наследственные изменения различного спектра у М3 растений. Обработка мутагенами снижала размер устьиц при более высоких концентрациях, показатель длины и ширины устьиц были значительно ниже, чем при контроле, что показывает защитную реакцию мутантных форм на засуху. В опытных вариантах выделены эффективные концентрации азида натрия - 0,2-0,4% и колхицина - 0,04% и 0,08%, с использованием которых получены раннеспелые формы, мутанты с увеличенной массой семян в метелке, повышенной продуктивностью растений и урожайностью. По результатам хозяйственно-ценных признаков М3 растений отобраны 20 перспективных мутантных форм. Отобранные формыпереданы в ТОО «Актюбинская сельскохозяйственная опытная станция» в ТОО «Научно-производственного центра зернового хозяйства имени А.И. Бараева».

**ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ МУТАЦИОННОЙ СЕЛЕКЦИЙ**

Для создания исходного материала проса эффективно использовать следующие концентрации и экспозиции мутагенных агентов:

- мутагенная обработка семян в лабораторных условиях проса в водном растворе 0,1% азида натрия и 0,04% колхицина с экспозицией воздействия 4 и 6 часов соответственно;

-в полевых условиях 0,2-0,5% азида натрия и 0,08-0,1% колхицина в сочетании с длительностью воздействия времени 12часов.

С целью выявления изменчивости на генном уровне мутантных форм проса рекомендуется использовать маркерыISSR 819, ISSR 835 иISSR 840.

**СПИСОКИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. [Послание Главы государства Касым-Жомарта Токаева народу Казахстана «Экономический курс Справедливого Казахстана» – Официальный сайт Президента Республики Казахстан (akorda.kz)](Послание%20Главы%20государства%20Касым-Жомарта%20Токаева%20народу%20Казахстана%20)<https://www.akorda.kz/ru/poslanie-glavy-gosudarstva-kasym-zhomarta-tokaeva-narodu-kazahstana-ekonomicheskiy-kurs-spravedlivogo-kazahstana-18588>
2. SeghatoleslamiM. J., Kafi M., Majidi E. Effect of drought stress at different growth stages on yield and water use efficiency of five proso millet (*Panicum miliaceum* L.) genotypes // Pak. J. Bot.,- 2008. - Vol. 40. - P. 1427-1432.
3. Penna S., ShiraniBidabadi S., Jain S. M. Mutation Breeding to Promote Sustainable Agriculture and Food Security in the Era of Climate Change // Breeding for Sustainable Food Production and Climate Resilience. - Singapore: Springer Nature Singapore,- 2023. -С. 1-23.
4. Amadou I., Gounga M. E., Le G. W. Millets: Nutritional composition, some health benefits and processing-A Review // Emirates Journal of Food and Agriculture,- 2013. - P. 501-508.<https://doi.org/10.9755/ejfa.v25i7.12045>
5. Ceccarelli S., Grando S. Drought as a challenge for the plant breeder // Plant growth regulation,- 1996. - Vol. 20. - P. 149-155.
6. Suprasanna P., Jain S. M. Biotechnology and induced mutations in ornamental plant improvement //II International Symposium on Tropical and Subtropical Ornamentals,- 2021. - №1334. -С. 1-12.
7. <https://www.fao.org/millets-2023/about/en>
8. Deepak Sood. MILLETS The Future Super Food for India //The Associated Chambers of Commerce and Industry of India, -June 2022.
9. Zotikov V.I., Sidorenko V.S., Bobkov S.V. Area and Production of Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) in Russia // Advances in Broomcorn Millet Research. Proceedings of the 1st International Symposium on Broomcorn Millet. Northwest A&F University (NWSUAF), 25–31 August. -Yangling, Shaanxi, People‟s Republic of China, - 2012. - P. 3-9.
10. Цыганков И.Г., Цыганков В.И., Цыганкова М.Ю. Просо в сухостепной зоне Западного Казахстана // Сельскохозяйственные науки. -2004, - С.91-95.
11. Зейнуллина А.Е., Рысбекова А.Б., Дюсибаева Э.Н., Жирнова И.А., Есенбекова Г.Т., Мухина Ж. М. Влияние колхицина на структурные параметры растений просо (*Panicummiliaceum*L.) поколения М1 // Вестник науки Казахского агротехнического исследовательского университета им. С. Сейфуллина (междисциплинарный).- Астана, 2023,- №3(118). -С.235-249. ISSN 2710-3757, ISSN2079-939Х
12. Sokurova L.H. Millet as an intermediate culture // Legumes and cereals culture,2012.№3. - P. 47.
13. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. - Кишинев: Штиинца, 1980. - 588 с.
14. Королев К.П. Индуцированный мутагенез как способ расширения генетического разнообразия и создание нового исходного материала для различных направлений селекционной работы// Проблемы развития АПК региона. - 2016. - Том 1. - С. 130-134.
15. Chaudhary J., Deshmukh R., Sonah H. Mutagenesis approaches and their role in crop improvement //Plants, - 2019. - Vol. 8. - P. 467.
16. Dhulgande, G.S., D.S.Ghogare, D.A.Dhale, and R.A.Satpute. Mutagenic effects of gamma rays and EMS on frequency and spectrum of chlorophyll mutations in pea (*Pisum sativum* L.) //JournalEcobiotechnol, - 2010.- №2. – Р. 4-7.
17. Liu L, Guo H, Zhao L, Xie Y, Xiong H. New Mutation Techniques Applied in Crop Improvement in China // 2018.No. IAEA-CN--263.
18. AviyaK**.**, MullainathanL. Studies on effect of induced mutagenesis on Finger millet (E*leusinecoracana*(l.) gaertn.) VAR-CO 13 in M1 generation // Horticultural Biotechnology Research, - 2018. - №4. - Р. 23-25 doi: 10.25081/hbr.2018.v4.3485.
19. KhanM., TyagiS. Induced morphological mutants in soybean (*Glycine max* (L.) Merill) // [FrontiersofAgricultureinChina](https://www.researchgate.net/journal/1673-7334_Frontiers_of_Agriculture_in_China), - 2010. Vol. 4, №2. - Р. 175-180.
20. MullainathanL., SrideviA. Effect of EMS and dES on oleoresin, capsanthin and ascorbic acid contents in chilli //Int. J. Cur. Tr. Res, - 2012. -Vol.1. – P. 110-114.
21. Wen, Y., J. Liu, X. Meng, D. Zhang, and G. Zhao. Characterization of proso millet starches from different geographical origins of China //FoodScienceandBiotechnology, - 2014. - Vol. 23. - P. 1371-1377.
22. ZarnkowM.Fermentedfoods. Beverages from Sorghum and Millet // [Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)](https://www.sciencedirect.com/science/referenceworks/9780123847331), -2014. - P. 839-845.
23. Алтунин Д.А.Влияние удобрений на урожай кукурузы и проса в условиях южной лесостепи Западной Сибири // Кукуруза и сорго, - 2003. - № 4. - С.9-10.
24. Бекетов Ш. Просо в засушливых условиях // Зерновое хозяйство, -1978.-№ 4.-С.31-32.
25. Беспалова Н.С. Влияние обеспеченности почвы элементами минерального питания на урожай и качество проса // Агрохимический вестник, - 2007. - №3. - С.27-28.
26. Влияние состава рациона коров-первотелок черно-пестрой породы на переваримость питательных веществ [Текст] = InfluenceofdietcompoundofBlack-and-WhiteFirst-calfcowsonnutritivesdigestibility / Е Н.Мартынова и др. // Зоотехния. - 2011. - N 8. - С.8-9.
27. Заводчикова, Л.Д. Воздействие регуляторов роста на физиологические показатели и урожайность проса [Текст]/Л.Д. Заводчикова, В.Н. Варавва, С.В.Харитонова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета.–2005. – Том 1. − № 5-1. – С.26-28.
28. Зеленев, А.В. Достижения селекции проса в сухостепной зоне Нижнего Поволжья [Текст]/А.В. Зеленев, А.Н. Неймышева, П.А. Смутнев // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. - 2017. - № 2 (46). - С.79-85.
29. Дюкин, Р. Влияние предшественника и предпосевной обработки почвы на продуктивность проса в Среднем Предуралье [Текст] /Р.Дюкин, С.Коконов// Главный агроном. - 2014. - № 10. - С.9-12.
30. Кадыргалиев, А.М. Влияние норм высева и минеральных удобрений на урожай проса [Текст]/А.М. Кадыргалиев // Зерновые, зернобобовые и крупяные культуры.-1987.- №3.- С.20.
31. Клыков, В.В. Влияние минеральных удобрений в сочетании с бактериальными препаратами на урожайность и качество проса [Текст]/В.В. Клыков // Современные проблемы устойчивого развития агропромышленного комплекса России: матер. IХ Междунар. дистанционной науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. – пос. Персиановский, 2012. – С.105– 107.
32. Коробков, С.Д. Применение удобрений под просо в условиях засушливой зоны [Текст]/С.Д. Коробов // Зерновые, зернобобовые и крупяные культуры. - 1988. -№2. - С. 22.
33. Лаптиев, А.Б. Защита посевов проса от сорной растительности [Текст] /А.Б. Лаптиев, В.И. Долженко // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2013. - № 2. - С. 30-33.
34. Лукин, С.М. Влияние биопрепаратов ассоциативных азотфиксирующих микроорганизмов на урожайность сельскохозяйственных культур [Текст] /С.М. Лукин, Е.В. Марчук // Достижения науки и техники АПК. – 2011. − № 8. – С.18-21
35. Нещерет, JI.K. Просо Саратовское 6 [Текст]/Л.К. Нещерет // Степные просторы. - 1986. -№2. - С.22.
36. Соловьев, А.В. Влияние срока и способа уборки проса на влажность зерна в валках [Текст]/А.В. Соловьев// Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2007. - № 3. - С.47-48.
37. Соловьев, А.В. Агротехнические особенности программирования урожайности проса в условиях северо-запада Поволжья [Текст] Дис. … канд. с.- х. наук: 06.01.09 / Соловьев Андрей Васильевич. – Москва, 2003. –170 с.
38. Karam, D. 2000. Wild proso millet (*Panicum miliaceum* L.): Growth analysis, competitive ability and genetic variation. PhDthesis, ColoradoStateUniversity, FortCollins.
39. Graybosch R. A., Baltensperger D. D. Evaluation of the waxy endosperm trait in proso millet (*Panicum miliaceum*L.) / Plant breeding. – 2009. – Vol. 128. – P. 70-73.
40. Habiyaremye, C., J.B. Matanguihan, J. D'Alpoim Guedes, J., Ganjyal, G. M., Whiteman, M. R., Kidwell, K. K., and K. M. Murphy, 2017. Proso Millet (*Panicum miliaceum*L*.*) and Its Potential for Cultivation in the Pacific Northwest. FrontiersinPlantScience. 7:1961.
41. Hunt, H.V., M.G.Campana, M.C.Lawes Y-J, Park, M.A. Bower, C.J. Howe and M.K. Jones, 2011. Genetic diversity and phylogeography of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) across Eurasia. MolecularEcology. 20:4756.
42. Hu B L, Wan Y, Li X, Lei J G, Luo X D, Yan W G, Xie J K. 2012. Analysis on genetic diversity of phenotypic traits in rice (*Oryza sativa*) core collection and its comprehensive assessment. ActaAgronomicaSinica, 38, 829–839. (inChinese).
43. Liu C Y, Cheng X Z, Wang S H, Wang L X, Sun L, Mei L, Xu N. 2006. The genetic diversity of mungbean germplasm in China. Plant Genetic Resources, 4, 459–463. (inChinese).
44. Hu X Y, Wang L, Zhang Z W, Lu P, Zhang H S. 2008. Establishment of broomcorn millet core collection in China. ScientiaAgriculturaSinica, 41, 3489–3502. (inChinese).
45. Upadhyaya H, Sharma S, Gowda C, Reddy V, Singh S. 2011. Developing proso millet (Panicum miliaceum L.) core collection using geographic and morpho-agronomic data. Crop&PastureScience, 62, 383–389.
46. Dikshit N, Sivaraj N. 2013. Diversity for protein and morpho agronomic characteristics in proso millet germplasm collections of Ratnagiri District, Maharashtra, India. Vegetos, 26, 164–170.
47. Wen Y, Liu J, Meng X, Zhang D, Zhao G. 2014. Characterization of proso millet starches from different geographical origins of China. FoodScience&Biotechnology, 23, 1371–1377.
48. Wang L, Wang X Y, Wang H G, Chen L, Wang J J, Cao X N, Liu S C, Kang G S. 2017. Preliminary appraisal of important proso millet germplasm resources quality traits in Shanxi Province. PlantGeneticResources, 18, 61–69. (inChinese).
49. Wang H, Chen L, Wang J, Cao X, Dong J, Wang L. 2015. Comprehensive assessment of drought resistance of proso millet germplasm resources in Shanxi. AgriculturalScience&Technology, 16, 1916. (inChinese).
50. Wang L, Wang X Y, Wen Q F, Wu B E, Cao L P. 2007. Identification of salt tolerance in Chinese proso millet germplasm. PlantGeneticResources, 8, 426–429. (inChinese).
51. Liu M X, Qiao Z J, Zhang S, Wang Y Y, Lu P. 2015. Response of broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) genotypes from semiarid regions of China to salt stress. TheCropJournal, 3, 57–66.
52. He J H, Liu T P, Dong K J, Liu M X, Lu P, Ren R Y, Zhang L, Yang T Y. 2016. Evaluation and identification on the drought resistance of broomcorn millet bred cultivars at adult stage. PlantGeneticResources, 17, 45–52. (inChinese).
53. Wang L, Wang X Y, Wen Q F, Zhao W H, Liu J Y. 2008. Identification and evaluation of resistance to dust brand in Chinese proso millet germplasm resources. PlantGeneticResources, 9, 497–501. (inChinese).
54. Wang L, Wang X Y, Wen Q F, Wang H G, Kang G S. 2016. Identification of lodging resistance and characterization of relevant traits of prosomillet germplasm resources in Shanxi Province. PlantGeneticResources, 17, 27–31. (inChinese).
55. Kothari S. L., Applications of biotechnology for improvement of millet crops: review of progress and future prospects / Kothari S. L., Kumar Satish., Vishnoi R. K., Kothari A., Kazuo N. Watanabe // Plant Biotechnology. – 2005. – Vol. 22. – P. 81-88.
56. Lu H., Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to 10,000 years ago / Lu H., Zhang J., Liu K. B., Wu N., Li Y., Zhou K., Li Q. //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2009. – Vol. 106. – P.
57. Changmei S., Dorothy J. Millet-the frugal grain/Changmei S., Dorothy J. // International Journal of Scientific Research and Reviews. – 2014. – Vol. 3. – P. 75-90.
58. Arendt E. K., Dal Bello F. Gluten-Free Cereal, Products and Beverages (Food Science and Technology). – 2011.
59. Корнилов А.А. Просо. Изд. 2-е, переработ. И доп. М., Сельхозгиз, 1960. 248 с.
60. Zhang, D., Panhwar, R. B., LIU, J. J., GONG, X. W., LIANG, J. B., Minxuan, L. I. U., and FENG, B. L. Morphological diversity and correlation analysis of phenotypes and quality traits of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) core collections //Journal of Integrative Agriculture. – 2019. – Т. 18. – №. 5. – С. 958-969.
61. P. Gepts, “Origins of plant agriculture and major crop plants,” in OUR FRAGILE WORLD: Challenges and Opportunities for Sustainable Development, pp. 629–637, 2001.
62. L.T. Evans, Crop Evolution, Adaptation, and Yield, vol. 11, Cambridge University Press, New York, NY, USA, 1993 Bradshaw J. E. Plant breeding: past, present and future //Euphytica. – 2017. – Т. 213. – С. 1-12.
63. Моргун, В. В. Мутационная селекция пшеницы / В. В. Моргун, В. Ф. Логвиненко // Киев: Наукова думка, 1995. - 627 с.
64. Van Harten A. M. Mutation breeding: theory and practical applications. – Cambridge University Press, 1998. – Т. 1.
65. Vries H. Die Mutationstheorie: Versuche und Beobachtungenüber die Entstehung von ArtenimPflanzenreich // (No Title). – 1901.De Vries H. Die Mutationstheorie II //Leipzig: Veit& Co. – 1903.
66. Wagner, A. (2012). The role of robustness in phenotypic adaptation and innovation. ProceedingsoftheRoyalSociety B: BiologicalSciences, 279(1732), pp. 1249–1258.
67. Morgan T. H. Sex limited inheritance in Drosophila //Science. – 1910. – Т. 32. – №. 812. – С. 120-122.
68. Митрофанов, В. Г. Иосиф Абрамович Рапопорт-ученый, воин, гражданин. Очерки, воспоминания, материалы / В. Г. Митрофанов // М. – Наука – 2001.
69. Надсон, Г. А. О влиянии рентгеновских лучей на половой процесс и образование мутантов у низших грибов (*Mucoraceae*) / Г. А. Надсон, Г. С. Филиппов // Классики советской генетики. – Л. – 1968. – С. 120-124.
70. Stadler L. J. Genetic effects of X-rays in maize //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1928. – Т. 14. – №. 1. – С. 69-75.
71. Дудин, Г. П. Индуцированный мутагенез и использование его в селекции растений [Текст]: монография / Г. П. Дудин, В. Н. Лысиков // Киров: Вятская ГСХА. – 2009. – 208 с.
72. Mir, A. S. Potential of Mutation Breeding to Sustain Food Security / A. S. Mir, M. Maria, S. Muhammad, S. M. Ali // Genetic Diversity. – IntechOpen. – DOI: 10.5772/intechopen.94087. – 2020.
73. Muller H. J. Artificial transmutation of the gene //Science. – 1927. – Т. 66. – №. 1699. – С. 84-87.
74. Shu, Q.Y., Forster, B.P. and Nakagawa, H.; Joint FAO/IAEA Programme, Nuclear Techniques in Food and Agriculture (eds). (2011) Plant Breeding and Genetics Section Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria: FAO/IAEA, pp. 1–595. ISBN 978-92-5-105000-0.
75. Delaunay L. N. ResultateeinesdreijährigenRöntgenVersuchsmitWeizen //Der Züchter. – 1931. – Т. 3. – №. 5. – С. 129-137.
76. Sapěhin A. A. Röntgen-MutationenbeimWeizen (*Triticum vulgare*) vorläufigeMitteilung //Der Züchter. – 1930. – Т. 2. – С. 257-259.
77. Sapehin A. A. X-ray mutants in soft wheat //Bull Appl. Bot., Genet. &PlantBreed. II. – 1936. – Т. 9. – С. 3-37.
78. Tollenaar D. Untersuchungenueber Mutation bei Tabak: I. Entstehungsweise und Wesenkünstlicherzeugter Gen-Mutanten //Genetica. – 1934. – Т. 16. – №. 1-2. – С. 111-152.
79. Tollenaar D. UntersuchungenÜber Mutation bei Tabak: II. EinigeKünstlicherzeugteChromosom-Mutanten // Genetica. – 1938. – Т. 20. – С. 285-294.
80. Kharkwal, M.C., 2012. A brief history of plant mutagenesis. Plant mutation breeding and biotechnology, Wallingford: CABI: 21-30.
81. Freisleben R., Lein A. Über die AuffindungeinerMehltauresistentenMutantenachRöntgenbestrahlungeinerallfälligenreinenLinie von Sommergerste //Naturwissenschaften. – 1942. – Т. 30. – №. 40. – С. 608-608.
82. Кашеваров, Н. И. Суданка в кормопроизводстве Сибири / Н. И. Кашеваров, Р. Н. Полюдина, Н. В. Балыкина [и др.]. – Новосибирск, 2004. – 224 с.
83. Gustafsson Å. Mutations in agricultural plants //Hereditas. – 1947. – Т. 33. – №. 12. – С. 1-100.
84. Nilsson-Ehle H. et al. The future possibilities of Swedish barley breeding //The future possibilities of Swedish barley breeding. – 1948.
85. Lundqvist U. During the Past 90 Years–a Historical //Mutation breeding, genetic diversity and crop adaptation to climate change. – 2021. – С. 10.
86. Auerbach C. The effect of sex on the spontaneous mutation rate in //*Drosophila melanogaster*. – 1941.
87. Auerbach, Ch., Chemical Production of Mutation / Ch. Auerbach, J. Robson // Nature. – 1946. – Vol. 157. – P. 302.
88. Brian P. Forster. A brief chronology and current status of plant mutation breeding Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und SaatgutkaufleuteÖsterreichs 2013, 3 ISBN: 978-3-902849-00-7.
89. Рапопорт И.А. Карбонильные соединения и химический механизм мутаций // Докл. АН СССР. – 1946. – 54, № 1. – C. 65–68.
90. Рапопорт И.А. Избранные труды. Открытие химического мутагенеза. – М.: Наука, 1993. – 304 с.
91. Калайджян А.А., Хлевной Л.В., Нещадим Н.Н. и др. Российский солнечный цветок. – Краснодар : Сов. Кубань, 2007. – 351 с.
92. Василенко В.Н., Грабовец А.И., Тимаренко А.И. и др. Сорта полевых культур. – Ростов на Дону, 2009. – 126 с. 9.
93. Shafique S., Bajwa R., Shafique S. Mutation of alternariatenuissima FCBP252 for hyperactive α amylase // Indian J. Exp. Biol. – 2009. – 47. – Р. 591–596.
94. Пыльнева Е. В. Химический мутагенез в селекции зерновых культур / Е. В. Пыльнева // Актуальные вопросы сельскохозяйственной науки. Научныетруды. – Тбилиси. – 2000. – С.156-159.
95. Рапопорт, И. А. Особенности и механизм действия супер мутагенов / И. А. Рапопорт // Супермутагены. – М. – 1966. – С. 9-23.
96. Никифоров, В. Г. Химический мутагенез / В. Г. Никифоров // Общая генетика. – М. – 1965. – С. 113-127.
97. Гуляев, Г. В. Селекция и семеноводство полевых культур. - 3-е изд., перераб. и доп. / Г. В. Гуляев, Ю. Л. Гужов // М.: Агропромиздат. – 1987. – 447 с.
98. Wang, C. S. Sodium azide mutagenesis generated diverse and broad spectrum blast resistance mutants in rice / C. S. Wang, K. L. Lo, A. Z. Wang // Euphytica. – 2019. – V. 215. – №. 9. – P. 1-11.
99. Acquaah G. Principles of plant genetics and breeding. JohnWiley&Sons; 2009 Mar 12.
100. <http://mvgs.iaea.org>
101. FAO/IAEA Mutant Variety Database (2022). [http://mvd.iaea.org](http://mvd.iaea.org/). AccessedMar 2022
102. Эйгес Н.С., Волченко Г.А., Кузнецова Н.Л. Химический мутагенез И.А. Рапопорта в создании признаков высоких адаптивных и высоких хлебопекарных свойств у озимой пшеницы // Проблемы и перспективы современной науки. – 2011. – Т. 3, №1. – С. 114–120.
103. Китаев А.И. Изучение действия химических мутагенов на рост и развитие сорго в М1 // Сборник научно–исследовательских работ аспирантов и молодых ученых. – 1972. – №4. – С. 18–24.
104. Кротова Л.А. Химические мутагены как фактор получения различных мутаций у яровой мягкой пшеницы // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2009. – №9. – С. 12–15.
105. Шумный В.К., Чекуров В.М., Сидорова К.К. Генетические методы в селекции растений. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд–ние, 1992. – 296 с.
106. Эйгес Н.С. Историческая роль Иосифа Абрамовича Рапопорта в генетике. Продолжение исследований с использованием метода химического мутагенеза // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17, №1. – С. 162–172.
107. Roychowdhury, R., Tah, J., 2013. Mutagenesis - a potential approach for crop improvement. Hakeem, K.R., Ahmad, P., Ozturk, M., (Eds.), Crop improvement: new approaches and modern techniques. New York (NY): Springer: 149-187.
108. Holme I. B., Gregersen P. L., Brinch-Pedersen H. Induced genetic variation in crop plants by random or targeted mutagenesis: convergence and differences //Frontiers in Plant Science. – 2019. – Т. 10. – С. 1468.
109. Kharkwal MC, Shu QY. The role of induced mutations in world food security. In: Shu QY, editor. Induced plant mutations in the genomics era. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2009. p. 33-38.
110. Forster BP, Shu QY. Plant mutagenesis in crop improvement: basic terms and applications. In: Shu QY, Forster BP, Nakagawa H, editors. Plant mutation breeding and biotechnology. Wallingford: CABI; 2012. p. 920.
111. Mba, C., Afza, R., Bado, S. and Jain, S.M., 2010. Induced Mutagenesis in Plants Using Physical and Chemical Agents. In: Davey, M.R. and Anthony, P., (Eds.), Plant Cell Culture: Essential Methods, Wiley & Sons Ltd., Chichester: 111- 130.
112. YusuffOladosu, Mohd Y. Rafii, Norhani Abdullah, Ghazali Hussin, Asfaliza Ramli, Harun A. Rahim, Gous Miah &Magaji Usman (2016) Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 30:1, 1-16, DOI: 10.1080/13102818.2015.1087333.
113. Mba C. Induced mutations unleash the potentials of plant genetic resources for food and agriculture. Agronomy. 2013;3(1);200231.
114. Govindaraj, M., Vetriventhan, M. and Srinivasan, M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: An overview of its analytical perspectives. GeneticsResearchInternational, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/431487>
115. Suprasanna, P., Mirajkar, S. J. and Bhagwat, S. G. (2015). Induced mutations and crop improvement. In Plant Biology and Biotechnology: Plant Diversity, Organization, Function and Improvement (Vol. 1, pp. 593–617). Springer India. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2286-6_23>
116. Lightner, J. and Caspar, T. (1998). Seed mutagenesis of Arabidopsis. In Arabidopsis Protocols (pp. 91–102). HumanaPress. DOI: <https://doi.org/10.1385/0-89603-391-0:91>
117. Shu, Q. Y., Forster, B. P. and Nakagawa, H. (2012). Plant mutation breeding and biotechnology. In Plant Mutation Breeding and Biotechnology. CABI Publishing. DOI: <https://doi>. org/10.1079/9781780640853.0000
118. Udage A. C. Introduction to plant mutation breeding: Different approaches and mutagenic agents //Journal of Agricultural Sciences (Sri Lanka). – 2021. – Т. 16. – №. 3.
119. Kharkwal, M.C. (2023). History of Plant Mutation Breeding and Global Impact of Mutant Varieties. In: Penna, S., Jain, S.M. (eds) Mutation Breeding for Sustainable Food Production and Climate Resilience. Springer, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-9720-3_2>.
120. Bahadur, B., Venkat, R. M., Sahijram, L. & Krishnamurthy, K.V. (2015). Induced mutations and crop improvement. *Plant Biology and Biotechnology,* V.1. P.593-617.
121. Khan, S., Al-Qurainy, F. & Anwar F. (2009). Sodium azide: a chemical mutagen for enhancement of agronomic traits of crop plants. Environment and We: *An International Journal of Science and Technology,4*, 1-21.
122. Krotova, L.A. (2015). Chemical mutagenesis as a method of creating starting material for the breeding of common wheat. *Electronic Scientific and Methodological Journal of the Omsk State Agrarian University*, *2*(2), 13-17.
123. C. M. McCallum, L. Comai, E. A. Greene, and S. Henikoff, “Targeted screening for induced mutations,” Nature Biotechnology, vol. 18, no. 4, pp. 455–457, 2000.
124. B. J. Till, S. H. Reynolds, E. A. Greene et al., “Large-scale discovery of induced point mutations with high-throughput TILLING,” Genome Research, vol. 13, no. 3, pp. 524–530, 2003.
125. H. Leung, C. Wu, M. Baraoidan et al., “Deletion mutants for functional genomics: progress in phenotyping, sequence assignment, and database development,” in Rice Genetics, D. Brar, B. Hardy, and G. Khush, Eds., vol. 4, pp. 239–251, International Rice Research Institute, 2001.
126. D. G. Caldwell, N. McCallum, P. Shaw, G. J. Muehlbauer, D. F. Marshall, and R. Waugh, “A structured mutant population for forward and reverse genetics in Barley (Hordeum vulgare L.),” Plant Journal, vol. 40, no. 1, pp. 143–150, 2004.
127. V. Talame, R. Bovina, M. C. Sanguineti, R. Tuberosa, U. ` Lundqvist, and S. Salvi, “TILLMore, a resource for the discovery of chemically induced mutants in barley,” Plant Biotechnology Journal, vol. 6, no. 5, pp. 477–485, 2008.
128. S. Gottwald, P. Bauer, T. Komatsuda, U. Lundqvist, and N. Stein, “TILLING in the two-rowed barley cultivar ’Barke’ reveals preferred sites of functional diversity in the gene HvHox1,” BMC Research Notes, vol. 2, article 258, 2009.
129. Gao, R., Guo, G., Fang, C., Huang, S., Chen, J., Lu, R., ... & Liu, C. et al. Rapid generation of barley mutant lines with high nitrogen uptake efficiency by microspore mutagenesis and field screening //Frontiers in plant science. – 2018. – Т. 9. – С. 450.
130. B. J. Till, S. H. Reynolds, C. Weil et al., “Discovery of induced point mutations in maize genes by TILLING,” BMC Plant Biology, vol. 4, article 12, 2004.
131. A. J. Slade, S. I. Fuerstenberg, D. Loeffler, M. N. Steine, and D. Facciotti, “A reverse genetic, nontransgenic approach to wheat crop improvement by TILLING,” Nature Biotechnology, vol. 23, no. 1, pp. 75–81, 2005.
132. Azad, M. A. K., Yasmine, F., Kamruzzaman, M., Rani, M. H., & Begum, H. A. Development of climate-adaptable/resilient crop varieties through induced mutation //Mutation breeding, genetic diversity and crop adaptation to climate change. – Wallingford UK : CABI, 2021. – С. 157-171.
133. C. Dong, C. Dalton-Morgan, K. Vincent, and P. Sharp, “A modified TILLING method for wheat breeding,” Plant Genetic, vol. 2, no. 1, pp. 39–47, 2009.
134. Рутц Р.И, Борадулина В.А. и др. Авторское свидетельство №153 Республика Казахстан. Сорт яровой мягкой пшеницы Росинка 3 /Р.И. Рутц, В.А. Борадулина, Н.А. Поползухина, Е.В. Веревкин, Л.Я. Чмут, С.С. Синицын, B.C. Омельченко, В.А. Кирьяш/ СибНИИСХ. - Заявка №0250463; дата приоритета 23.03.02 г.; выдано 10.06.03 г.
135. B. J. Till, J. Cooper, T. H. Tai et al., “Discovery of chemically induced mutations in rice by TILLING,” BMC Plant Biology, vol. 7, article 19, 2007.
136. J. L. Cooper, B. J. Till, R. G. Laport et al., “TILLING to detect induced mutations in soybean,” BMC Plant Biology, vol. 8, article 9, 2008.
137. Z. Xin, M. Li Wang, N. A. Barkley et al., “Applying genotyping (TILLING) and phenotyping analyses to elucidate gene function in a chemically induced sorghum mutant population,” BMC Plant Biology, vol. 8, article 103, 2008.
138. Human S., Sihono, Indriatama W. M. Mutation breeding of sorghum to support climate-smart agriculture //Mutation breeding, genetic diversity and crop adaptation to climate change. – Wallingford UK : CABI, 2021. – С. 120-126.
139. C. Le Signor, V. Savois, G. Aubert et al., “Optimizing TILLING populations for reverse genetics in *Medicago truncatula*,” Plant Biotechnology Journal, vol. 7, no. 5, pp. 430–441, 2009.
140. P. Stephenson, D. Baker, T. Girin et al., “A rich TILLING resource for studying gene function in *Brassica rapa*,” BMC Plant Biology, p. 10, article 62, 2010.
141. J. E. Knoll, M. L. Ramos, Y. Zeng et al., “TILLING for allergen reduction and improvement of quality traits in peanut (*Arachis hypogaea* L.),” BMC Plant Biology, vol. 11, article 81, 2011.
142. Abdalla, E., Ahmed, T., Bakhit, O., Gamar, Y., Elshaikh, S., Mohammed, Y., & Mardi, A. S. A. H. Groundnut mutants with end-of-season drought tolerance for the marginal dry lands of North Kordofan State, Sudan //Mutation breeding, genetic diversity and crop adaptation to climate change. – Wallingford UK : CABI, 2021. – С. 243-257.
143. W. Sabetta, V. Alba, A. Blanco, and C. Montemurro, “SunTILL: a TILLING resource for gene function analysis in sunflower,” Plant Methods, vol. 7, no. 1, p. 20, 2011.
144. Jeng, T.L., Shih, Y.J., Lai, C.C, Wu, M.T., Sung, J.M., 2010. Ant-oxidative characterization of NaN3 induced common bean mutants. FoodChemistry 119, 1006-1011.
145. Sarsu F., Forster B. Report of the FAO/IAEA coordinated research project on climate proofing crops: Genetic improvement for adaptation to high temperatures in drought-prone areas and beyond //Australian Journal of Crop Science. – 2021. – Т. 15. – №. 9. – С. 5-10.
146. Yashovsky, I.V. (1960). Results of experiments on the development of a new method of crossing millet. ScientificWorksofUkraine. ResearchInstituteofAgriculture, *10* (2), 132-140.
147. Altenburg, E. and L. S. Browning (1961). The relatively high frequency of whole-body mutations compared with fractional induced by X-rays in Drosophila sperm. Genetics 16: 203-212.
148. Muller HJ, Elof C, Abraham HS (1961). Mutation by alteration of the already existing gene. Genetics, 4, 218-226.
149. Wani, M.R., 2017. Induced chlorophyll mutations, comparative mutagenic effectiveness and efficiency of chemical mutagens in lentils (*Lens culinaris*Medik). Asian J. PlantSci. 16:221-22.
150. Sikora P, Chawade A, Larsson (2011). Mutagenesis as a tool in plant genetics, functional genomics, and breeding. Int J PlantGenomics. doi: 10.1155/2011/314829, ID 31482913
151. Greene EA, Codomo CA, Taylor NE (2003). Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reverse-genetic screen in Arabidopsis. Genetics 164:731–740.
152. Wilde HD, Chen Y, Jiang P, Bhattacharya A. Targeted mutation breeding of horticultural plants. EmiratesJournalofFoodandAgriculture. 2012;24(1):31-41. DOI: 10.9755/ejfa. v24i1.10596
153. Wang CT, Wang XZ, Tang YY, Chen DX, Zhang JC, Cui FG, Yu SL (2010). High yielding mutants achieved by injecting EMS into peanut flower organs. JournalofNuclearAgriculturalSciences; 24(2):239–242.
154. Wang CT, Wang XZ, Tang YY, Zhang JC, Chen DX, Xu JZ, Yang XD, Song GS, Cui FG (2011). Huayu 40, a groundnut cultivar developed through EMS mutagenesis. Journal of SAT Agricultural Research; 9. ejournal.icrisat.org/Volume9/Groundnut/Huayu40.pdf (accessed 6 June 2012)
155. Gowda MC, Nadaf HL, Sheshagiri R (1996). The role of mutations in intraspecific differentiation of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Euphytica. 90: 105-113.
156. Kharkwal MC, Nagar JP, Kala YK. BGM (2005). A high yielding chickpea (*Cicer arietinum* L.) mutant variety for late sown condition in north western plain zone of India. TheIndianJournalofGeneticsandPlantBreeding ; 65(3):229-30.
157. Khattak, G. S. S., M. Ashraf, R. Zamir, I. Saeed (2007). High yielding desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) variety “NIFA-2005”. Pak. J. Bot., 39 (1): 93-102.
158. Branch WD (2002). Variability among advanced gamma irradiation induced large-seeded mutant breeding lines in the „Georgia Brown‟ peanut cultivar. PlantBreeding, 121: 275.
159. Mashenkov A (1986). Induced mutation process as a source of new Mutants; Maize Genetics Cooperation newsletter 60, 70-71.
160. Kleinhofs A, Owais W, Nilan R (1978). Azide; MutationResearch 55, 165–195.
161. Sheteiwy, M.S., Gong, D., Gao, Y., Pan, R., Hu, J., Guan, Y., 2018. Priming with methyl jasmonate alleviates polyethylene glycol-induced osmotic stress in rice seeds by regulating the seed metabolic profile. Environ. Exp. Bot. 153, 236–248. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.06.001>.
162. Shasmita, Mohapatra, D., Mohapatra, P.K., Naik, S.K., Mukherjee, A.K., 2019. Priming with salicylic acid induces defense against bacterial blight disease by modulating rice plant photosystem II and antioxidant enzymes activity. Physiol. Mol. Plant Pathol.108, 101427 <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2019.101427>.
163. Sen, A., Puthur, J.T., 2021.Halo-and UV-B priming-mediated drought tolerance and recovery in rice seedlings.Plant Stress 2, 100011.<https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100011>.
164. Ahmad, F., Kamal, A., Singh, A., Ashfaque, F., Alamri, S., Siddiqui, M.H., Khan, M.I.R., 2021. Seed priming with gibberellic acid induces high salinity tolerance in *Pisum sativum* through antioxidants, secondary metabolites and up-regulation of antiporter genes. PlantBiol. 23, 113-121. <https://doi.org/10.1111/plb.13187>.
165. Nouairi, I., Jalali, K., Zribi, F., Barhoumi, F., Zribi, K., Mhadhbi, H., 2019.Seed priming with calcium chloride improves the photosynthesis performance of faba bean plants subjected to cadmium stress. Photosynthetica 57 (2), 438-445. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.055>.
166. Sagervanshi, A., Naeem, A., Geilfus, C.M., Kaiser, H., Mühling, K.H., 2021. One-time abscisic acid priming induces long-term salinity resistance in *Viciafaba*: changes in key transcripts, metabolites, and ionic relations. Physiol. Plant. 172 (1), 146-161. <https://doi.org/10.1111/ppl.13315>.
167. Kim DS, Lee IS, Jang CS, Kang SY, Seo YW. Characterization of the altered anthranilate synthase in 5-methyltryptophan-resistant rice mutants. PlantCellReports. 2005;24(6):357- 365. DOI: 10.1007/s00299-005-0943-y
168. Kim DS, Lee IS, Jang CS, Hyun DY, Seo YW, Lee YI. Selection of 5-methyltryptophan resistant rice mutants from irradiated calli derived from embryos. Euphytica. 2004;135(1):9-19. DOI: 10.1023/B:EUPH.0000009509.78515.8e
169. Hwang JE, Ahn JW, Kwon SJ, Kim JB, Kim SH, Kang SY, et al. Selection and molecular characterization of a high tocopherol accumulation rice mutant line induced by gamma irradiation. Molecular Biology Reports. 2014;41(11):7671-7681. DOI: 10.1007/s11033-014- 660-1
170. Lal JP, Tomer AK. Genetic enhancement of lentil (*Lens culinaris*Medikus) for drought tolerance through induced mutations. In: Induced Plant Mutations in the Genomics Era. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2009. pp. 151-154
171. Do KT, Dao MS, Hung PQ, Nguyen TC. Rice Mutation Improvement for Short Duration, igh Yield and Tolerance to Adverse Conditions in Mekong Delta of VietNam; Plant mutation reports. Vol. 1, No. 1, 2006
172. Tran DQ, Dao TTB, Nguyen HD, Lam QD, Bui HT, Nguyen VB, et al. Rice Mutation Breeding in Institute of Agricultural Genetics. International Atomic Energy Agency (IAEA). Viet Nam; 2006
173. González MC, Pérez N, Cristo E, Rodríguez M, Borras O. Development of salinity-tolerant rice varieties using biotechnological and nuclear techniques. In: Induced Plant Mutations in the Genomics Era. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); 2009. pp. 138-140
174. Ukai Y. Effectiveness and efficiency of mutagenic treatments //Gamma Field Symposia. – 2008. – С. 1-11.
175. Spencer-Lopes, M. M., Jankuloski, L., Mukhtar Ali Ghanim, A., Matijevic, M. and Kodym, A. (2018). Physical mutagenesis. In M. M. Spencer-Lopes, B. P. Forster, and L. Jankuloski (Eds.), Manual on mutation breeding. Plant Breeding and Genetics Sub programme. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.
176. Bhat, T.A., & Hakeem, K.R. (Eds.). (2023). Biotechnologies and genetics in plant mutation breeding Volume 1 Mutagenesis and Crop ImprovementApple Academic Press. ISBN: 978-1-00330-506-4<https://doi.org/10.1201/9781003305064>
177. Nilan, R.A.S., Kleinhofs, S.C. and Konzak, C.F. (1973). Azide-a potent mutagen. Mutation Research, 17: 142-144
178. Grant, W.F. and Salomone, M. F. (1994). Comparative Mutagenecity of Chemicals selected for test in the International Program on Chemical Safety Collaborative Study on Plant Systems for the Detection of Environmental Mutagens. MutationResearchFundamentalandMolecularMechanism, 310:187-209.
179. Rines, H.W. (1985). Sodium Azide Mutagenesis in Diploid and Hexaploid Oats and comparison with Ethyl Methane Sulfonate Treatments. EnvironmentalandExperimentalBotany, 25:7–16
180. Khan, M.R., Qureshi A.S., Syed, A.H. and Ibrahim, M. (2005). Genetic variability induced by gamma irradiation and its modulation with gibberellic acid in M2 generation of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). PakistanJournalofBotany, 37(2), 285-292
181. Maluszynski, M., Szarejko, I., Bhatia, C.R., Nichterlein, K. and Lagoda P.J.L. (2009). Methodologies for Generating Variability. Part 4: Mutation techniques pp. 159–194; in Ceccarelli et al. FAO, Rome. 671
182. Umar, D. M., Rafiq, A. M., Arif, M. and Ahmed, H. (2012). Effect of Sodium Azide on the Growth of Capsicum annum (Chili). PakistanJournalofBiotechnology, 9 (1) 13- 20.
183. Unche, P.B., Misal, M.B., Borgaonkor, S.B., Godhawale, G.V., Chavan, B.D. and Sawant, D.R. (2008). Genetic Variability Studies on Sweet Sorghum (Sorghum bicolor L. Moench). InternationalJournalofPlantScience, 3(1): 16-18
184. Nakweti, C.F., Rufin, K.andSébastien, L.N.(2015). Effects of Sodium Azide on Seeds Germination, Plantlets Growth and In vitro Antimalarial Activities of *Phyllanthus odontadenius*Müll. Arg. AmericanJournalofExperimentalAgriculture, 5(3): 226-238
185. Srivastava, A. and Singh, V.P. (2011). Induced high yielding Pigeon pea mutants. MutationBreedingNewsletter, 42:8-9
186. Abdul Rahaman, A. A., Afolabi, A. A., Olayinka, B. U., Mustapha, O. T., Abdulkareem, K. A. and Oladele, F. A.(2013). Effects of Sodium Azide and Nitrous Acid on the Morphology and Leaf Anatomy of Jatropha curcas L. (Euphorbiaceae). InternationalJournalofPhytofuelsandAlliedSciences, 1(2), 30-42
187. Tsubaki, M., Mogi, T., Anraku, Y. & Hori, H. 1993. Structure of the heme-copper binuclear center of the cytochrome bo complex of Escherichia coli: EPR and Fourier transform infrared spectroscopic studies. Biochemistry, 32(23): 6065–6072
188. Kleinhofs, A., Kleinschmidt, M., Sciaky, D. & Von Broembsen, S. 1975. Azide mutagenesis. *In vitro* studies. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 29(3): 497–499
189. FAO/IAEA. 2018. Manual on Mutation Breeding - Third edition. Spencer-Lopes, M.M., Forster, B.P. and Jankuloski, L. (eds.), Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. 301 pp.
190. Eze, J. J. &Dambo, A. (2015). Mutagenic effects of sodium azide on the quality of maize seeds. *JournalofAdvancedLaboratoryResearchin Biology,6* (III), 77-8
191. Herwibawa, B. &Kusmiyati, F. (2017). Mutagenic effects of sodium azide on the germination in rice (*Oryza sativa L*. cv. InpagoUnsoed 1). *JurnalAgroteknologi, 7* (2), 9-14
192. Srivastava, P., Marker, S., Pandey, P. & Tiwari, D.K. (2011). Mutagenic effects of sodium azide on the growth and yield characteristics in wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.). *AsianJournalofPlant Science,10* (3), 190-201 doi: 10.3923/ajps.2011.190.201.
193. Kulthe, M.P., Kothekar, V.S. (2011). Effects of sodium azide on yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journalof Phytology,3*(1), 39-42.
194. Sidduqui, S., Meghvansi, M. K. & Hasan, Z. (2007). Cytogenetic changes induced by sodium azide (NaN3) on *Trigonellafoenum-graecum* L. seeds. *SouthAfricanJournalof Botany,73* (4), 632- 635 doi: 10.1016/j.sajb.2007.06.005.
195. Elfeky, S., Abo-Hamad, S. &Saad-Allah, K.M. (2014). Physiological impact of sodium azide on *Helianthus annuus* seedlings. *InternationalJournalofAgronomyandAgriculturalResearch*, *4*(5), 102-109.
196. Hussain, S., Khan, W.M., Khan, M.S., Akhtar, N., Umar, N., Ali, S., Ahmed, S., Shah, S.S. (2017). Mutagenic effect of sodium azide (NaN3) on M2generation of *Brassica napus* L. (variety Dunkled). *PureandAppliedBiology, 6* (1), 226-236 doi: 10.19045/bspab.2017.60018.
197. El-Kaaby, E.J.S., Al-Ajeel, S.A., Al-Anny, J.A., Al-Aubaidy, A. A. & Ammar, K. (2015). Effect of the chemical mutagens sodium azide on plant regeneration of two tomato cultivars under salinity stress condition *in vitro*. *JournalofLife Sciences,9*, 27-31 doi: 10.17265/1934- 7391/2015.01.004.
198. Gruszka D., Szarejko I., Maluszynski M. Sodium azide as a mutagen //Plant mutation breeding and biotechnology. – Wallingford UK : CABI, 2012. – С. 159-166
199. Kumar M.K., Colchiploidy in fruit breeding. A review / Kumar M.K., Rani M.U. // Hortic. – 2013 – Vol. 2. – P. 325–326.
200. Hamill, S., Smith, M. &Dodd, W. 1992. In vitro induction of banana autotetraploids by colchicine treatment of micropropagated diploids. AustralianJournalofBotany, 40(6): 887– 896.
201. Maluszynski, M., Kasha, K. &Szarejko, I. 2003. Published doubled haploid protocols in plant species. DoubledHaploidProductioninCropPlants, pp. 309–335. Springer.
202. Yuan, S., Liu, Y.-M., Fang, Z.-Y., Yang, L.-M., Zhuang, M., Zhang, Y.-Y. &Sun, P.-T. 2009. Study on the relationship between the ploidy level of microspore-derived plants and the number of chloroplast in stomatal guard cells in *Brassica oleracea*. AgriculturalSciencesinChina, 8(8): 939–946.
203. Марьяхина И.Я., Полумордвинова И.В., Шевченко Н.П. Возможность использования метода полиплоидизации*invitro* в селекции лука // С/х биология. – 1994. – № 5. – С. 32–37.
204. Шоферистов Е. П. Получение полиплоидных растений нектарина (*Prunuspersica* (L.) Batschsubsp. nectarina (Ait.) Shof.) в Никитском ботаническом саду // Сортовивчення та охорона прав на сортирослин. – 2008. – № 2 (8). – С. 38–41.
205. Зільберварг І.Р. Біотехнологічніосновиодержанняполіплоіднихрослинм’ятикотячоїіззастосуваннямантимікротрубочковихсполук для цілейселекції: Автореф. дис…к. б. н. – Ялта, 2002. – 21 с.
206. Гирко В.С. Нетрадиционные методы создания селекционного материала пшеницы: Дис… д. с.-х. наук. – Киев, 1999. – 305 с.
207. Горина М.К., Смашных К.А., Таварткиладзе О.К., Горянинова О.С. (2016). Индуцированный мутагенез в культуре изолированных тканей сенполии. ActaBiologicaSibirica, 2 (4), 29–34.
208. El-Nashar Y. I., [Ammar](https://scholar.google.com/citations?user=-DhtIUEAAAAJ&hl=ru&oi=sra) M.H. Mutagenic influences of colchicine on phenological and molecular diversity of *Calendula officinalis* L/El-Nashar Y. I., [Ammar](https://scholar.google.com/citations?user=-DhtIUEAAAAJ&hl=ru&oi=sra)M.H. // Genetics and Molecular Research. – 2016. – Vol. 15. – P. 1-15.
209. Ade R., Review: Colchicine, current advances and futureprospects /Ade R., Rai M.K. // Nusantara Biosci. – 2010. – Vol. 2. – P. 90–96.
210. Garima Gupta., Colchicine Induced Mutation in *Nigella sativa* Plant for the Assessment of Morpho-Physiological and Biochemical Parameter/ Garima Gupta., Anjuman Gul Memon., Brijesh Pandey., Mohd Sajid Khan., Mohammed Shariq IqbalandJanmejai Kumar Srivastava. // Vis-A-Vis In Vit. TheOpenBiotechnologyJournal. – 2021. – Vol. 15. – P. 173-182.
211. Kobayashi N., Morphological characteristics and their inheritance in colchicine-induced Salvia polyploids / Kobayashi N., Yamashita S., Ohta K., Hosoki T. //Journal of the Japanese Society for Horticultural Science. – 2008. – Vol. 77. – P.186-191.
212. Balode A. Applying colchicine and oryzalin in *Lilium* L. polyploidization / Balode A. // AgronomijasVestis. – 2008. – Vol. 11. – P. 22-28
213. Prabhukumar K. M., Induced mutation in ornamental gingers (*Zingiberaceae*) using chemical mutagens viz. colchicine, acridine and ethyl methane sulphonate/ Prabhukumar K. M., Thomas V. P., Sabu M., Prasanth A. V., Mohanan K. V. // J. Hortic. For. Biotechnol. – 2015. – Vol. 19. – P. 18-27.
214. Sadhukhan R., Study of Induced polyploidyin African marigold (*Tagetesecrecta* L.) / SadhukhanR.,Ganguly A., Singh P.K., Sarkar H.K. // Environ. Ecol. – 2014. – Vol. 32. – P. 1219-1222.
215. Lertsutthichawan A., Induced mutation of chrysanthemum by colchicine / Lertsutthichawan A., RuamrungsriS.,Duangkongsan W., Saetiew K. //Int. J. Agric. Technol. – 2017. – Vol. 13. – P. 2325-2332.
216. Castro CM, Oliveira A.C. andCalvaho FIF (2003). Changes in allele frequencies in colchicine treated ryegrass population assessed with APD marker. Agrociencia 9: 107-112
217. Vichiato, M.R.D.M.; Vichiato, M.; Pasqual, M.; Rodrigues, F.A.; Castro, D.M.D. Morphological effects of induced pol-yploidy in Dendrobium nobileLindl. (*Orchidaceae*). CropBreed. Appl. Biot. 2014, 14, 154–159.
218. Ari, E.; Djapo, H.; Mutlu, N.; Gurbuz, E.; Karaguzel, O. Creation of variation through gamma irradiation and poly-ploidization in Vitexagnus-castus L. Sci. Hortic. 2015, 195, 74–81.
219. Wang, W.; He, Y.; Cao, Z.; Deng, Z. Induction of tetraploids in impatiens (*Impatiens walleriana*) and characterization of their changes in morphology and resistance to downy mildew. HortScience 2018, 53, 925–931.
220. Manzoor, A.; Ahmad, T.; Bashir, M.A.; Baig, M.M.Q.; Quresh, A.A.; Shah, M.K.N.; Hafiz, I.A. Induction and identification of colchicine induced polyploidy in Gladiolus grandiflorus ‘White Prosperity’. FoliaHortic. 2018, 30, 307–319.
221. Ayesha Manzoor, Touqeer Ahmad, Muhammad Ajmal Bashir, Ishfaq Ahmad Hafiz and Cristian Silvestri Studies on Colchicine Induced Chromosome Doubling for Enhancement of Quality Traits in Ornamental Plants / Plants 2019, 8, 194; doi:10.3390/plants8070194
222. Ahanchede A., Hamon S. P. and Darmency H. Why no tetraploid cultivar of foxtail millet? GeneticResourcesandCrop Evolution, 2004, 51 227–230
223. Fróna, D., Szenderák, J. and Harangi-Rákos, M. (2019). The challenge of feeding the world. Sustainability, 11(20). DOI: https://doi.org/10.3390/su11205816
224. Jiang LG. Molecular markers and marker-assisted breeding in plants. In: Plant Breeding from Laboratories to Fields. 2013. pp. 45-83
225. Shingane, S.; Patil, J. V.; Sunil Gomasheand Dinesh Chand. Assessing Genetic Diversity among Foxtail millet (*Setariaitalica* (L.) P. Beauv.) Accessions Using RAPD and ISSR Markers // *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 2018, 9(1):001-006
226. Venkatesan, Jayalakshmi.; Ramu,V.; Sethuraman, T.; Sivagnanam, C.; Ganesh, D. Molecular marker for characterization of traditional and hybrid derivatives of *Eleusinecoracana* (L.) using ISSR marker / *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology,* 2021, 19:178. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00277-1>
227. Panwar P, Saini RK, Sharma N, Yadav D, Kumar A. Efficiency of RAPD, SSR and cytochrome P450 gene-based markers in accessing genetic variability amongst finger millet (*Eleusinecoracana*) accessions. *MolBiolRep.*2010;37:4075–4082. doi: 10.1007/s11033-010-0067-5.
228. Rajendran HAD, Muthusamy R, Stanislaus AC, Krishnaraj T, Kuppusamy S, Ignacimuthu S, AlDhabi NA. Analysis of molecular variance and population structure in southern Indian finger millet genotypes using three different molecular markers. J Crop Sci Biotechnol. 2016;19:275–283. doi: 10.1007/s12892-016-0015-6.
229. Gupta R, Verma KK, Singh M (2012) Molecular characterization of different seed coat color varieties of finger millet (*Eleusinecoracana* L.) using ISSR marker. CurrBot p. 1–4.
230. Pérez de la Torre M, García M, Heinz R, Escandón A. Analysis of genetic variability by ISSR markers in *Calibrachoa caesia*. *Electron J Biotechnol.*2012;15(5):8–8. doi: 10.2225/vol15-issue5-fulltext-8.
231. Babu GA, Vinoth A, Ravindhran R. Direct shoot regeneration and genetic fidelity analysis in finger millet using ISSR markers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*2018;132(1):157–164. doi: 10.1007/s11240-017-1319-z.
232. Dida, M. M., Wanyera, N., Harrison Dunn, M. L., Bennetzen, J. L., & Devos, K. M. Population structure and diversity in finger millet (*Eleusinecoracana*) germplasm //Tropical Plant Biology. – 2008. – Т. 1. – С. 131-141.
233. Kumar, A., Babu, B. K., Yadav, S., & Agrawal, P. K. Allele mining for resistance gene analogs (RGAs) in crop plants: a special emphasis on blast resistance in finger millet (*Eleusinecoracana* L.) //Indian Journal of Genetics and Plant Breeding. – 2016. – Т. 76. – №. 01. – С. 1-9.
234. Gupta, R., Verma, K., Joshi, D. C., & Yadav, D. M. Singh, 2010, Assessment of genetic relatedness among three varieties of finger millet with variable seed coat color using RAPD and ISSR markers //Genetic Engineering and Biotechnology Journal. – 2010.
235. Karam, D.; Westra, P.; Niessen, S.J.; Ward, S.M.; Figueiredo, J.E.F. Assessment of silver-stained AFLP markers for studying DNA polymorphism in proso millet (*Panicum miliaceum* L.). RevBrasBot. 2006; 29:609-15.
236. Rajput, S.; Plyler-Harveson, T.; Santra, D. Development and characterization of SSR markers in proso millet based on switchgrass genomics. *Am J. PlantSci*. 2014, 05:175–86.
237. Nethra N, Gowda R, Rajendra Prasad S, Hittalmani S, Ramanjini Gowda PH, Chennakeshava BC (2014) Utilization of SSRs to estimate the degree of genetic relationships in *finger millet* (*Eleusinecoracana L.* Gaertn.) genotypes and subspecies. SABRAO J BreedGenet 46(1):136–149.
238. Colosi, J.C., Shaal, B.A. 1997. Wild proso millet (*Panicum miliaceum*) is genetically variable and distinct from crop varieties of proso millet. WeedScience 45:509-518.
239. Zuge SS, Kamble SR, Patil DM, Sawardekar SV. Assessment of genetic diversity among the promising mutants of finger millet (*Eleusinecoracana* L. Gaertn.) by using ISSR Markers. Int J PureAppBiosci. 2018;6(1):1003–1006. doi: 10.18782/2320-7051.614615.
240. Paul AJ, Panneerselvam R. Analysis of intra specific variation in *Setariaitalica* (L.) P. Beauv landraces using RAPD and ISSR markers. Int J ResinBiochemBiophy. 2013;3:15–20.
241. Gilande HG, Ghokhale NB, Sawardekar SV, Patil DM. Analysis of genetic variability in finger mutant lines using ISSR markers. *Agric Res Tech.*2015;40:233–238.
242. Kelkar VG, Sawardekar SV, Bhave SG, Gokhale NB, Rasam DV, Sawant SS. Analysis of genetic variability among the finger millet germplasm by using ISSR markers. *Environ Ecol.*2017;35(2C):1233–1237.
243. Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Vandelee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. &Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA finger printing. Nucleic Acids Research 23:4407-4414.
244. Meksem, K., Leister, D., Peleman, J., Zabeau, M., Salamini, M., Gebhardt, C. 1995. A high-resolution map of the vicinity of the R1 locus on chromosome V of potato based on RFLP and AFLP markers. MolecularandGeneralGenetics 249:74-81.
245. Cervera, M.T., Gusmao, J., Steenackers, M., Gysel, A. Van., Motangu, M. van &BOerjan, W. 1996. Amplification of AFLP based molecular markers to breeding of Populus spp. PlantGrowthRegulators 20:47-52.
246. Tohme, J., Gonzales, D.O., Beebe, S. & Duque, M.C. 1996. AFLP analysis of gene pools of a wild bean core collection. CropScience 36:1375-1384.
247. Travis, S.E., Maschinski, J. &Kein, P. 1996. An analysis of genetic variation in *Astragalus cremnophylax* var. cremnophylax, a critically endangered plant, using AFLP markers. MolecularEcology 5:735-745.
248. Greef, J.M., Deuter, M., Jung, C. &Schondelmaier, J. 1997. Genetic diversity of European *Miscanthus* species revealed by AFLP fingerprinting. GeneticResourceinCrop Evolution 44:185-195.
249. Paul, S., Wachira, F.N., Powel, W. & Waugh, R. 1997. Diversity and genetic differentiation among populations of Indian and Kenyan tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) revealed by AFLP markers. TheoreticalandAppliedGenetics 94:255-263
250. Xingyu Hu, Jianfei Wang, Ping Lu, Hongsheng Zhang, Assessment of genetic diversity in broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) using SSR markers, Journal of Genetics and Genomics, Volume 36, Issue 8, 2009, Pages 491-500, ISSN 1673-8527, https://doi.org/10.1016/S1673-8527(08)60139-3
251. Zargar, M.; Dyussibayeva, E.; Orazov, A.; Zeinullina, A.; Zhirnova, I.; Yessenbekova, G.; Rysbekova, A. Microsatellite-Based Genetic Diversity Analysis and Population Structure of Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) in Kazakhstan. Agronomy, 2023, 13, 2514. https://doi.org/10.3390/agronomy13102514.
252. Gurushidze, M., Hiekel, S., Otto, I., Hensel, G. andKumlehn, J. (2016). Site-directed mutagenesis in barley by expression of TALE nuclease in embryogenic pollen. In J. Jankowicz-Cieslak, T. H. Tai, J. Kumlehn, and B. J. Till (Eds.), Biotechnologies for Plant Mutation Breeding: Protocols (pp. 1–340). Springer International Publishing. DOI: https://doi.org/10.1007/978- 3-319-45021-6
253. Bezie, Y., Tilahun, T., Atnaf, M. andTaye, M. (2020). The potential applications of site-directed mutagenesis for crop improvement: A review. BioRxiv, 2020.10.01.321984. DOI: https://doi. org/10.1101/2020.10.01.321984
254. Gilchrist EJ, Haughn WG. TILLING without a plough: A new method with applications for reverse genetics. CurrentOpinioninPlantBiology. 2005;8:1-5
255. A. Zeinullina, M. Zargar, A. Orazov, I. Zhirnova, G.Yessenbekova, L. Zotova, A. Rysbekova, Y.G. Hu Agro-Morphological Traits and Molecular Diversity of Proso Millet (Panicum miliaceum L.) Affected by Various Colchicine Treatments / Agronomy (2023), 13, 2973. 20.
256. Viana VE, Pegoraro C, Busanello C, Costa de Oliveira A. Mutagenesis in rice: The basis for breeding a new super plant. FrontiersinPlantScience. 2019;10:1326
257. Федорович Б.А. Природное районирование Северного Казахстана (Кустанайская, Северо-Казахстанская, Кокчетавская, Акмолинская и Павлодарская области). – М.; Л.: Академия наук СССР, 1960. – 457 с.
258. Байшоланова С.С. Агроклиматические ресурсы Акмолинской области: науч.-прикл. справоч. – Астана, 2017. – 133 с.
259. Чупахин В.М. Страна природных контрастов. – Алма-Ата.: Казахстан, 1973. – 133 с.
260. Байшоланова С.С. Агроклиматические ресурсы Северно-Казахстанской области: науч.-прикл. справоч. – Астана, 2017. – 125 с.
261. Байшоланов С.С. и др. Агроклиматические ресурсы Северного Казахстана // Гидрометеорологические исследования и прогнозы. – 2018. – №1(367). – С. 168-184.
262. Кузьмин, В.П. Вопросы селекции сельскохозяйственных культур / В.П. Кузьмин. – М., 1978. – 292 c.
263. [www.fieldclimate.com/station/00002BA2](http://www.fieldclimate.com/station/00002BA2)
264. [ПАВЛОДАРСКОЕ 4 - Reestr (sortcom.kz)](https://sortcom.kz/%D0%9F%D0%90%D0%92%D0%9B%D0%9E%D0%94%D0%90%D0%A0%D0%A1%D0%9A%D0%9E%D0%95-4/)
265. [КВАРТЕТ (gossortrf.ru)](https://gossortrf.ru/registry/gosudarstvennyy-reestr-selektsionnykh-dostizheniy-dopushchennykh-k-ispolzovaniyu-tom-1-sorta-rasteni/kvartet-proso-posevnoe/)
266. <https://ausgenebank.agriculture.vic.gov.au/gringlobal/accessiondetail?id=105270>.
267. Esson A.E., Adebola M.I., Yisa A.G. Frequency of mutation, lethality and efficiency of ethyl methanesulfonate and sodium azide on foxtail millet (*Setariaitalica* L.] P. Beauv.) // Journal of Scientific Agriculture, 2018, 2: P.9-13.
268. Rajani Prabha, Vineeta Dixit and B.R. Chaudhary Comparative Spectrum of Sodium Azide Responsiveness in Plants // World Journal of Agricultural Sciences 7 (1): 104-108, 2011.
269. Swathi L., Babu C., Iyanar K. Doubling of chromosomes of pearl millet napier hybrids and preliminary screening based on stomatal characteristics. ElectronicJournalofPlantBreeding. – 2019. – Vol. 10. – P. 47-57.
270. ГОСТ 12038-84. Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур. Методыопределениявсхожести.
271. Методика Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (Выпуск 2. зерновые, крупяные, зернобобовые, кукуруза и кормовые культуры)– Москва. – 1985 г.
272. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): учебник/ Доспехов Б.А. // 6-е изд., стереотип. – М.: Альянс. – 2011. –C. 352: ил. – Библиогр.: C.346.
273. Методика проведения сортоиспытания сельскохозяйственных растений: утв. Приказом Министра сельского хозяйства Республики Казахстан 13 августа 2015 года, № 06-2/254. // ИПС Әділетhttps: // tengrinews. Kz / zakon / pravitelstvo\_respubliki\_kazahstan\_premer\_ministr\_rk/selskoe\_hozyaystvo/id-V1500011879/
274. Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R. (1983) Determination of Total Carotenoids and Chlorophyll *a* and *b* of Leaf Extracts in Different Solvents. BiochemicalSocietyTransactions, 603, 591-603.
275. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. MethodsEnzymol. 148:350-382.
276. Lichtenthaler, H.K. and Pfister, K. 1978. Praktikum der Photosynthese. Quelle & Meyer, Heidelberg
277. Gustafsson, A., 1940. The mutation system of the chlorophyll apparatus. LundUniversity, Arskr, Sweden. 36:1-40
278. Goyal, S., Wani, R., Khan, S. Frequency and spectrum of chlorophyll mutations induced by single and combination treatments of gamma rays and EMS in Urdbean. *Asian J. Biol. Sci*., 2019, 12: 156-163.
279. Sidhu G.P.S., H.P. Singh, D.R. Batishand R.K. Kohli, 2017. Alterations in photosynthetic pigments, protein, and carbohydrate metabolismin a wild plant *Coronopusdidymus*L. (*Brassicaceae*) under lead stress. Acta Physiol. Plant. V. 39 (8). P.1.[10.1007/s11738-017-2476-8](https://doi.org/10.1007/s11738-017-2476-8)
280. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений **/** М.: Агропромиздат, 1988. - 271c. ISBN 5-10-000614-5.
281. Omidbaigi R., Yavari S., Hassani M.E., Yavari S., 2010. Induction of autotetraploidy in dragonhead (*Dracocephalummoldavica* L.) by colchicine treatment. J FruitOrnam. PlantRes. 18(1), 23-35
282. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight DNA // Nucleic Acids Res. 1980. N.8. - P.4321-4325.
283. ZdislavaDvořákováa, Petra HlásnáČepkováa\*, Dagmar Janovskáb, Iva Viehmannováa, Eva Svobodováa,1, Eloy Fernández Cusimamania, Luigi Milella Comparative analysis of genetic diversity of 8 millet generarevealed by ISSR markers / Emirates Journal of Food and Agriculture. 2015. 27(8): 617-628 doi: 10.9755/ejfa.2015.04.077 http://www.ejfa.me/
284. Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J HumGenet. 1980, 32:314–331.
285. Bayat, M.; Zargar, M.; Chudinova, E.; Astarkhanova, T.; Pakina, E. In Vitro Evaluation of Antibacterial and Antifungal Activity of Biogenic Silver and Copper Nanoparticles: The First Report of Applying Biogenic Nanoparticles against Pilidiumconcavum and Pestalotia sp. Fungi. Molecules, 2021, 26, 5402. <https://doi.org/10.3390/molecules26175402>
286. Рапопорт И.А. Химический мутагенез: проблемы и перспективы / И.А. Рапопорт,. И.Х. Шигаева, И.Б. Ахматуллина. - Алма-Ата: Наука Каз. ССР, 1980. – 320 с.
287. Wani, A.A. (2009). Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, ethyl methane sulphonate and their combination treatments in chickpea (*Cicer arietinum* L.) // Asian Journal of Plant Science, 8(4):318-32.
288. Kumar, R.R. and Ratnam, S.V. (2010). Mutagenic effectiveness and efficiency in varieties of sunflower (*Helianthus annuus*L.) by separate and combined treatment with gamma-rays and sodium azide. // African Journal of Biotechnology, 9(39), 6517-6521.
289. Тигова А.В., Сорока А.И. Направленность наследственных изменений льна (*Linumhumile*mill.) под действием новых производных диметилсульфата // Физиология растений и генетика. 2018, Т. 50. №5.
290. Akolo Elijah Esson Effects Of Fast Neutron, Ethyl Methane Sulphonate, Nitrous Acidand Sodium Azide on The Agromorphological Traits of Foxtail Millet (*SetariaItalica* [L.] p. Beauv.) / PhD Dissertation (Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria), December 2016.
291. Bashir, S., Wani, A.A. and Nawchoo, I. A. (2013). Studies on mutagenic effectiveness and efficiency in Fenugreek (*TrigonellaFoenum-graecum* L.). AfricanJournalofBiotechnology, 12(18), 2437-2440
292. ZeinullinaAiym, RysbekovaAiman, Dyusibaeva Elmira, Zhirnova Irina Influence of colchicine on seeds germination and coleoptile length of proso millet genotypes / V International Scientific and Practical Conference “World science priorities”, August 10 – 11, 2023, Vienna. Austria. P.5-10.
293. Dyulgerova B. Genetic diversity among induced mutants of winter barley (*Hordeum vulgare* L.) // Journal of Central European Agriculture. 2012. V. 13. P. 262–272.
294. Зейнуллина А.Е., Рысбекова А.Б., Дюсибаева Э.Н., Жирнова И.А., Цыганков В.И., Цыганков А.В. Натрий азидтің мутаген ретінде тары (Panicummiliaceum L.) генотиптерініңшаруашылыққұндыбелгілерінеәсері // «Вестник Кызылординского университета имени КоркытАта», №3-1 (66), 2023. <https://doi.org/10.52081/bkaku.2023.v66.i3.065>
295. Зейнуллина А.Е., Рысбекова А.Б., Дюсибаева Э.Н., Жирнова И.А., Есенбекова Г.Т, Мухина Ж.М. Эффект колхицина на структурные показатели растений проса посевного (Panicummiliaceum L.) в поколении М1 // Вестник науки Казахского агротехнического исследовательского университета им. С. Сейфуллина (междисциплинарный). – Астана: С. Сейфуллин атындағыҚазақагротехникалықзерттеууниверситеті, 2023. -№ 3(118). - С.235-249. – ISSN 2710-3757, ISSN 2079-939Х.
296. ZeinullinaAiymYerbolkyzy, RysbekovaAiman Mutagenic effect of colchicine on photosynthetic pigments of two proso millet genotypes / International Conference “Scientific research of the SCO countries: synergy and integration” July 12, 2023. Beijing, PRC. P.144-150.
297. Зейнуллина А.Е., Рысбекова А.Б., Дюсибаева Э.Н., Жирнова И.А., Цыганков В.И., Цыганков А.В. Активность фотосинтетических пигментов растений проса под воздействием азида натрия // «Вестник Кызылординского университета имени КоркытАта», №1 (64), 2023. С.144-154. https://doi.org/10.52081/bkaku.2023.v64.i1.014.
298. Zeinullina A.Y., Rysbekova A.B., Dyusibaeva E.N., Zhirnova I.A. Mutagenic effect of colchicine on photosynthetic pigments of proso millet M2 generation / Proceedings of the XXIX International Scientific and Practical Conference. Warsaw, Poland. 2023. P. 9-13.
299. Kacharava, N., Chanishvili, S., Badridze, G., Chkhubianishvili, E., Janukashvili, N., 2009.Effect of seed irradiation on the content of antioxidants in leaves of Kidney bean,Cabbage and Beet cultivars. Aust. J. Crop. Sci. 3 (3), 137. <http://www.cropj.com/gulnara_3_3_137_145.pdf>.
300. Ganesh B. Kulkarni, Umesh P. MogleEffectsofmutagenonchlorophyllmutationinhorsegram (*macrotylomauniflorum* (Lam) Verdcourt) // BioscienceDiscovery.-2013. - 4(2):214-219.
301. BindD., DwivediV.K., SinghS.K. (2016). Induction of Chlorophyll Mutations through Physical and Chemical Mutagenesis in Cowpea [Vigna unguiculata (L.) Walp.]. InternationalJournalofAdvancedResearch, 4 (2): 49-53.
302. Wani M.R., Khan S., Kozgar, M.I. (2011). Induced chlorophyll mutations. Mutagenic effectiveness and efficiency of EMS, HZ and SA in mungbean. FrontiersofAgriculture, 5(4):514-518.
303. Sharma R.P. Increased mutation frequency and wider mutation spectrum in barley induced by combining gamma rays with ethyl methanesulphonate // Indian J. Genet. 1970, 30, 180-186.
304. Reddi T.V., SuneethaJ. Chlorophyll-deficient mutations induced in rice by alkylating agents and azide // Cytologia. 1992, 57: 285-288.
305. AiymZeinullina, AimanRysbekova, Elmira Dyussibayeva, Irina Zhirnova, NursauleZhanbyrshina, ZhaziraZhunusbayeva and SvetlaYancheva Application of sodium azide for chemical induced mutagenesis of proso millet culture (Panicum miliaceum L.) / Bulgarian Journal of Agricultural Science, 29 (No 4) 2023, 623–631.
306. Aremu CO (2011) Genetic diversity: a review for need and measurements for intra-species crop improvement. J Microbiol Biotechnol Res 1:80–85 <https://www.researchgate.net/publication/268203271_Genetic_Diver> sity\_A\_review\_for\_need\_and\_measurements\_for\_intraspecie\_crop\_improvement
307. Egbadzor K, Ofori K, Yeboah M, Aboagye L, Opoku-Agyeman M, Danquah E, Offei S (2014) Diversity in 113 cowpea [*Vigna unguiculata*(L) Walp]accessions assessed with 458 SNP markers. SpringerPlus 3:1–15. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-541>
308. Lagercrantz U, Ellegren H, Kakanuga T (1993) The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. Nucl Acids Res 21:1111–1115
309. Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D (1994) Genomic fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20:176–183.
310. Freeman S., Herron J. C. Evolutionaryanalysis. – UpperSaddleRiver, NJ: PearsonPrenticeHall, 2007. – Т. 834.
311. Gigord LDB, Macnair MR, Smithson A. Negativefrequency-dependentselectionmaintains a dramaticflowercolorpolymorphismintherewardlessorchid*Dactylorhizasambucina* (L.) Soò. Proc Natl Acad Sci. 2001;98:6253–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.111162598>.
312. Mitchell-Olds T, Willis JH, Goldstein DB. Which evolutionary processes influence natural genetic variation for phenotypic traits? NatRevGenet. 2007;8:845–56.
313. Тетянников Н. В., Боме Н. А. ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ГОЛОЗЁРНОГО ЯЧМЕНЯ В СЕВЕРНОЙ ЛЕСОСТЕПИ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ //125 yearsofAppliedBotanyinRussia. – 2019. – С. 265-265.
314. Davies KM, Albert NW, Zhou Y, Schwinn KE. Functions of flavonoid and betalain pigments in abiotic stress tolerance in plants. AnnuPlantRev. 2018;1:1–41.
315. Coberly LC, Rausher MD. Pleiotropic effects of an allele producing white flowers in Ipomoea purpurea. Evolution. 2008;62:1076–85.
316. Sobel JM, Streisfeld MA. Flower color as a model system for studies of plant evo-devo. FrontPlantSci. 2013;4:321.
317. Levin DA, Brack ET. Natural selection against white petals in Phlox. Evolution. 1995;49:1017–22. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1995.tb02336.x>.
318. DelValle, J.C., Alcalde-Eon, C., Escribano-Bailón, M.T. etal. Stability of petal color polymorphism: the significance of anthocyanin accumulation in photosynthetic tissues. BMC PlantBiol 19, 496 (2019). https://doi.org/10.1186/s12870-019-2082-6.
319. Huxley J. Morphismandevolution //Heredity. – 1955. – Т. 9. – №. 1. – С. 1-52.
320. Васильченко В.А. Просо – культура засухоустойчивая // Зерновое хозяйство. - 1978. - № 12. - С. 33–35. 3. Елагин И.Н. Агротехника проса. – М.: Россельхозиздат, 1981. - 158 с.

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

**Приложение А**

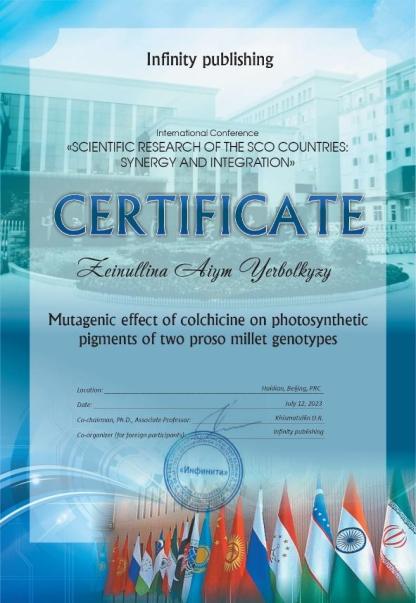




Рисунок А.1 – Участие в международных научно-практических конференциях

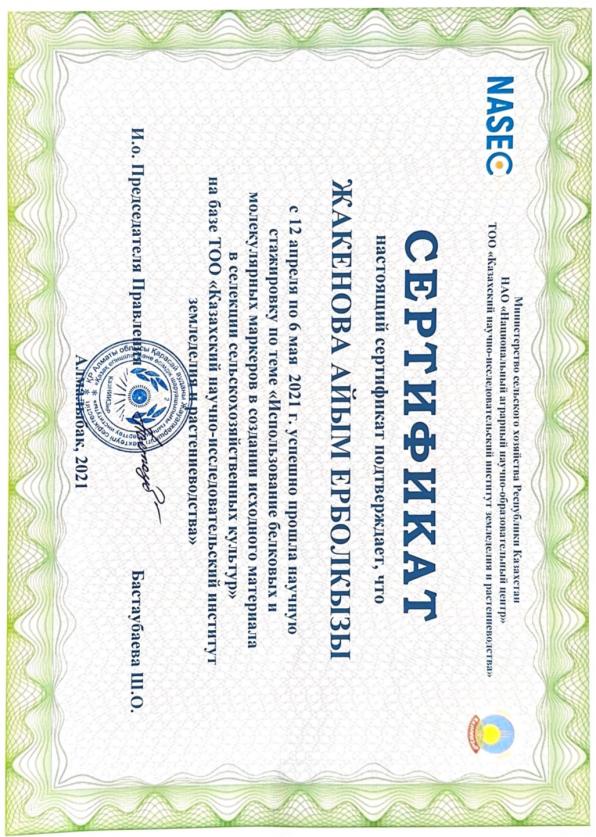
**ПриложениеБ**

****

****

Рисунок Б.1 – Лабораторные и полевые исследования

**ПриложениеВ**

****

РисунокВ.1 – Научная стажировка по теме исследования

**ПРИЛОЖЕНИЕ Г**

Акт внедрения результатов исследовании в селекционный процесс



Рисунок Г.1– Акт внедрения мутантных форм проса

в ТОО «Актюбинская СХОС»

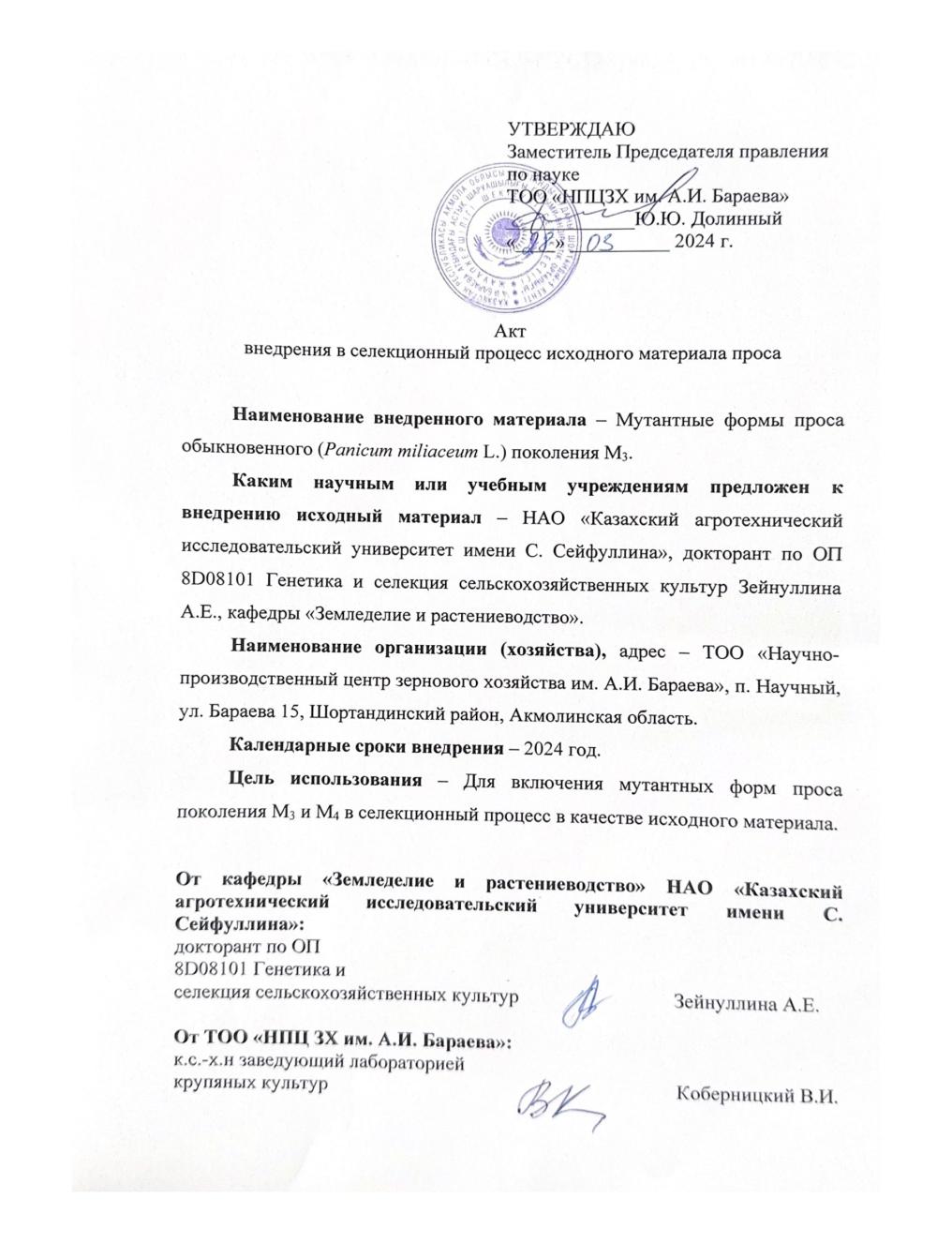


Рисунок Г.2– Акт внедрения мутантных форм проса

в ТОО «НПЦЗХ им. А.И.Бараева»