

ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

І.О. Полякова, В.О. Лях

ОСНОВИ МУТАГЕНЕЗУ

Навчальний посібник
для студентів освітньо-кваліфікаційного рівня
«бакалавр» напрямку підготовки «Біологія»

Затверджено
вченою радою ЗНУ
Протокол № від

ЗАПОРІЖЖЯ

2013

УДК:575(075.8)

ББК: 28.04я73

П 542

Полякова І.О., Лях В.О. Основи мутагенезу: навчальний посібник для студентів освітньо-кваліфікаційного рівня підготовки «бакалавр» напрямку підготовки «Біологія». - Запоріжжя: ЗНУ, 2013. - 79 с.

Навчальне видання призначене для студентів біологічного факультету освітньо-кваліфікаційний рівня «бакалавр» напрямку підготовки «Біологія» спеціалізації «Генетика». У навчальному посібнику подано теоретичні відомості, про сучасні погляди на питання теоретичних основ мутаційної мінливості, механізмів спонтанного та індукованого мутагенезу, мутаційної теорії, висвітлено етапи історії розвитку експериментального мутагенезу, охарактеризовано досягнення мутаційної генетики та селекції, наведено питання контролю знань і словник термінів.

Рецензент

Н.І. Лебедева

Відповідальний за випуск

В.О. Лях

ЗМІСТ

ВСТУП3
МОДУЛЬ 1 МУТАГЕННІ ФАКТОРИ ТА ЇХ ВПЛИВ НА ЕВОЛЮЦІЮ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ І ГЕНЕТИЧНЕ ПОКРАЩЕННЯ ОРГАНІЗМІВ4
ЗАГАЛЬНІ ОСНОВИ МУТАГЕНЕЗУ. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ МУТАЦІЙНОЇ МІНЛИВОСТІ.....	...4
ЕВОЛЮЦІЯ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ. ТИПИ МУТАЦІЙ.....	...9
ГЕНЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ МУТАГЕННИХ ФАКТОРІВ. ГРУПИ МУТАГЕНІВ: ФІЗИЧНІ, ХІМІЧНІ, БІОЛОГІЧНІ.....	...13
МЕТОДИ ОТРИМАННЯ, ВИВЧЕННЯ ІНДУКОВАНИХ МУТАЦІЙ, ПІДВИЩЕННЯ ЇХ ЧАСТОТИ І РОЗШИРЕННЯ СПЕКТРУ.....	...18
ПИТАННЯ ДО МОДУЛЬНОГО КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ	...31
МОДУЛЬ 2 ДОСЯГНЕННЯ ТА ОСНОВНІ НАПРЯМИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗУ, МУТАЦІЙНОЇ ГЕНЕТИКИ ТА СЕЛЕКЦІЇ32
ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ, ОСНОВНІ НАПРЯМИ ДОСЛІДЖЕНЬ З ГЕНЕТИЧНОГО ПОКРАЩАННЯ ОРГАНІЗМІВ ТА ДОСЯГНЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗУ.....	...32
ДОСЯГНЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗУ, МУТАЦІЙНОЇ ГЕНЕТИКИ ТА СЕЛЕКЦІЇ.....	...44
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ МУТАГЕНЕЗ ТА МУТАЦІЙНА СЕЛЕКЦІЯ РІЗНИХ ГРУП КУЛЬТУРНИХ РОСЛИН.....	...51
ПИТАННЯ ДО МОДУЛЬНОГО КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ74
СЛОВНИК ТЕРМІНІВ74
ЛІТЕРАТУРА76

ВСТУП

Курс «Основи мутагенезу» є необхідною складовою частиною в системі базової вищої освіти при підготовці фахівців за спеціалізацією «Генетика» і складається з двох модулів. Шлях до генетичного удосконалення рослин, чистого та здорового навколишнього середовища, до зміцнення здоров'я людства лежить через пізнання механізмів спонтанного та індукованого мутаційного процесу і управління ними на всіх рівнях життєдіяльності живої матерії.

Вивчення даного курсу сприяє формуванню у студентів уявлення про сучасні методи експериментального отримання індукованих мутацій, ефективність фізичних та хімічних мутагенів, їх генетичну активність в поколіннях M_1 - M_3 , специфіку дії різних мутагенних факторів, застосування мутантів в селекційному процесі, досягнення мутантної генетики і селекції у різних живих організмів.

Мета вивчення курсу «Основи мутагенезу» - дати студентам комплекс теоретичних знань і практичних вмінь, необхідних для розуміння особливостей процесів мутаційної мінливості, теоретичних і практичних основ її використання в подальшій практичній діяльності, ознайомити студентів із основними питаннями, щодо виділення спонтанних мутацій та отримання їх експериментальним шляхом, проведення добору селекційно цінного матеріалу, складання колекцій мутантних форм, як джерела генетичного різноманіття.

За підсумками вивчення курсу студент повинен знати: генетичну активність фізичних та хімічних мутагенних факторів; групи мутагенів; шляхи одержання нового вихідного мутантного матеріалу; методикою та техніку обробітку матеріалу; методи отримання та вивчення індукованих мутацій; досягнення мутаційної генетики та селекції для застосування отриманих знань у справі генетичного поліпшення живих організмів і створенні нових сортів.

В результаті вивчення дисципліни студент повинен уміти: володіти методикою та технікою обробітку матеріалу; встановлювати критичні та оптимальні дози мутагенів для одержання нових форм; проводити масовий та індивідуальних добір серед мутантних родин; аналізувати частоту та спектр мутацій, індукованих різними групами мутагенів; визначати тип мутацій, її характеристики та ефективність залучення отриманих мутантів в генетико-селекційну практику.

Навчальний посібник відповідає навчальній програмі і складений відповідно курсу «Основи мутагенезу» для студентів освітньо-кваліфікаційного рівня «бакалавр» напряму підготовки «Біологія» спеціалізації «Генетика».

У навчальному посібнику використано сучасну українську термінологію, яка відповідає міжнародним стандартам ISO та вимогам IUPAC.

МОДУЛЬ 1. МУТАГЕННІ ФАКТОРИ ТА ЇХ ВПЛИВ НА ЕВОЛЮЦІЮ ГЕНЕТИЧНОГО МАТЕРІАЛУ І ГЕНЕТИЧНЕ ПОКРАЩЕННЯ ОРГАНІЗМІВ

Загальні основи мутагенезу. Теоретичні основи мутаційної мінливості

- поняття «мутація», «мутантний ген», «мутант»;
- природні (спонтанні) мутації;
- мутаційна теорія Гуго де Фріза;
- загальна класифікація мутацій.

Основні поняття: мутація, мутантний ген, мутант, спонтанні мутації, еволюція, мутаційна теорія, штучні мутації.

Стабільність генетичних структур не абсолютна. Під впливом певних фізичних або хімічних факторів вони здатні змінюватися. У іншому випадку не було б еволюційного розвитку.

Спонтанні мутації, обумовлені молекулярними змінами окремих генів, змінами числа та структури хромосом служать єдиним джерелом появи нових ознак і властивостей живих організмів. Переважна більшість вирощуваних рослин набула культурних ознак під впливом людини. Ці постійні впливи зі сторони природи та людини викликали кількісні і якісні мутаційні зміни. Мутаціям, як основному джерелу генетичного різноманіття належить основне значення в еволюції рослин. Мутаційний процес в еволюції органічного світу можна розглядати як шлях пошуків організму та виявлення неоднакової його реакції у відповідь на зміну середовища. У кожного виду збільшення генного різноманіття продовжується безперервно, хоча і дуже повільно. Саме завдяки мутаціям та їх накопиченню виникають спочатку різновидності, а потім нові види, розширюються та ростуть гілки дерева еволюції живої природи.

Мутації - генетично стійкі зміни в генах і хромосомах.

Змінені гени називають *мутантними*.

Новий організм зі зміненою ознакою внаслідок мутування гена або перебудови хромосоми називають *мутантом*.

Мутування генів — це процес, який відбувається постійно, це властивість живої матерії. Вважається, що мутації виникали починаючи з часів появи життя на землі і викликали спадкову мінливість.

Аналіз частки спадкових змін, які відбуваються у статевих клітинах представників дикої флори та фауни дає можливість впевнитись у тому, що накопичення великої кількості мутацій, що змінюють будову генів і хромосом, мають історичне походження.

В багатьох випадках не знайдено жодної особини з дикої популяції, в якій після детального генетичного аналізу не знайшлося для кожного організму хоча б однієї ознаки, яка відрізняла його від прийнятого за нормальний еталон.

Більшою різноманітністю відрізняються культурні рослини, які довго не піддавались добору і зовнішньо, здавалось би, достатньо однотипні.

Крок за кроком генні мутації створюють нові типи рослин в межах видів, роблячи їх гетерогенними. Порівняно рідкісною нам здається поява мутацій лише в наших малочисельних за масштабами експериментах. В незчисленних меристемних клітинах, спорах, гаметах та зиготах рослин на землі мутації здійснюються безперервно у величезних масштабах.

Постійно здійснювані мутації забезпечують насиченість популяцій багаточисельними змінами, внаслідок чого такі популяції несуть в собі величезні резерви прихованої спадкової мінливості. В результаті незалежного розподілу ці мутації вступають між собою в незліченні комбінації, створюючи широке поле комбінативної мінливості. Цей резерв спадкової мінливості підтримує пластичність виду і легко мобілізується при любых змінах зовнішнього середовища.

Природні мутації є постачальником нових ознак та властивостей рослин. Саме мутації обумовлюють виникнення нових властивостей організму, а для еволюції характерним є саме новоутворення, а не просте повторення і перекомбінування. Цілком очевидно, що мутаційна мінливість передує рекомбінативній мінливості, тому що безглуздо обмінюватися однаковими генами.

Основним матеріалом для дії природного добору та еволюції видів являються генні мутації. Фактичні дослідження складу культурних видів та їх еволюції підтверджують головну думку Ч. Дарвіна про роль дрібних спадкових змін, які, накопичуючись шляхом добору, приводять до крупних зрушень у спадковій конституції, до видового значення включено. Але великим також є еволюційне значення мутацій, пов'язі: із змінами структури хромосом або їх кількістю. Для багатьох економічно цінних культурних рослин поліплоїдія послужила фундаментом еволюції. Припускається, що поліплоїди служать більш благодатним матеріалом для еволюції, ніж диплоїди. Внаслідок великого запасу мутабельних генів вони володіють високою життєздатністю та мінливістю, які забезпечують їх еволюційну цінність, пристосованість до несприятливих умов середовища.

Мутаційна мінливість - це процес, що закономірно відбувається в природі та підлягає певним законам. М.І. Вавилов, вивчаючи різноманіття форм культурних рослин, встановив подібність у спадковій мінливості у близьких видів і родів і сформулював закон гомологічних рядів у спадковій мінливості в 1920 р.

Окремі природні мутації зіграли видатну роль у створенні рентабельних сучасних сортів і гібридів рослин. Так, гени карликовості японського сорту озимої пшениці Norin 10, що виникли в результаті природного мутагенезу, передані сотням короткостеблових сортів інтенсивного типу, які займають у світі величезні площі. Виявлення карликового природного мутанта рису Dee-Geo-Woo-Gen стало поворотним пунктом в історії селекції цієї культури. На його основі

отримані багато десятків сортів рису інтенсивного типу, що мають високу продуктивність та стійкість до вилягання.

Але внаслідок низької частоти природного мутування та труднощів виявлення змінених форм цей метод не може бути покладено в основу сучасної планової селекційної роботи.

Мутаційні зміни можуть торкатися будь-якої ознаки. Зустрічаються всі переходи від різких морфологічних змін до незначних відхилень у фізіології, які навіть важко виявити. Мутації можуть бути корисними, шкідливими і нейтральними для організму. Більшість із них - шкідливі, навіть летальні.

Мутації виникають у всіх класів і типів тварин, вищих рослин, багатоклітинних та одноклітинних організмів, у бактерій та вірусів. Мутаційна мінливість як процес якісних стрибкоподібних змін вважається загальним для всіх організмів. Коли мутації виникають в природі під впливом зовнішнього середовища або внаслідок фізіологічних та біохімічних змін в самому організмі без впливу людини, то такі мутації називаються *спонтанними*.

Серед факторів середовища, що викликають мутації, важливе значення для багаторічних дерев має природний радіаційний фон (приблизно 3 р за 30 років). На думку Густавсона (1962) природний фон радіації вважається головною причиною близько 40-50 % спонтанних мутацій у лісових і деревних видів.

Широко відомі у сільськогосподарських рослин хлорофільні мутації (повністю або частково у листків не утворюється хлорофіл) зустрічаються досить часто і у лісових хвойних та листяних дерев, особливо у клена ясенелистого. Найбільш ґрунтовні дослідження спонтанних хлорофільних мутацій у сосни звичайної були проведені шведським вченим Ейгес (1955). Він вивчав потомство від вільного запилення дерев, що взяті з насаджень різного географічного походження. В дослідках Ейгес, звертає на себе увагу, перш за все, досить велика частота спонтанних хлорофільних мутацій в соснових насадженнях. Це свідчить про часті випадки самозапилення або близькорідного запилення у окремих дерев сосни звичайної. Можливо у дерев, потомство яких дало мутанти мутації знаходились в рецесивному стані, тобто ці дерева були гетерозиготними за хлорофільними мутаціями.

Якщо ж застосувати штучне самозапилення (що і було зроблено у невеликій кількості шведськими ученими), то виявляється досить високий відсоток гетерозигот за хлорофільними та іншими морфологічними та фізіологічними порушеннями. І це підтверджує точку зору багатьох дослідників про велику гетерозиготність лісових видів. З цього випливає, що при наявності сприятливих умов для перехресного запилення (багато чужого пилку) різного роду мутації будуть з'являтися досить рідко і, навпаки, чим вище відсоток самозапилення, тим частіше вони будуть виникати.

Окрім хлорофільних мутацій, в природі досить часто зустрічаються і інші спонтанні мутації лісових дерев: надмірно розсічене листя (бузина, клен), пірамідальна форма крони (дуб, тополя), плакуча форма (верба, горобина,

ясен), кулеподібна форма крони (граб, в'яз). На це звернув увагу М.І. Вавилов, який сформулював відомий закон гомологічних рядів.

Протягом довготривалого розвитку лісові дерева нагромаджують велику кількість соматичних мутацій і стають химерами. Кожна соматична мутація на дереві може з'явитись, якщо з мутантних клітин утворюється брунька. Брунькові мутації описані у вільхи, маслини, евкалипта, ялини та інших дерев.

Мутації, особливо великі, як правило, призводять до зниження життєздатності організмів або зовсім летальні. Найчастіше мутації порушують рівновагу всередині комплексу генетичної системи, що склалася в процесі еволюції. Кожен вид протягом довготривалої еволюції пристосувався до відповідних умов і до відповідного способу існування. Всі корисні алелі, що можуть виникати мутаційним шляхом, уже включені в його генотип і більшість представників цього виду уже несуть їх в гомозиготному стані. Тому всі виникаючі знову мутації будуть в конкретних умовах, як правило, або шкідливими, або менш цінними.

Але бувають випадки, коли мутації виявляються корисними. Так, у ячменю, люпину та інших видів знайдені мутанти, які навіть при надмірному ухиленні від вихідної форми були життєздатними і мали практичну цінність.

Виникнення мутацій завжди означає зміну норми реакції. Тому нові мутації можуть виявитися корисними в нових умовах середовища. Наприклад, Густавсон описав один яскраво-зелений хлорофільний мутант ячменю, що дав значно більший урожай на півночі Швеції, ніж на півдні. Мутації, що виникають на межі ареалу цього виду, можуть дати вдалі зміни норми реакції, які дозволять йому розширити свій ареал за рахунок засвоєння нових районів, що відрізняються екологічним становищем.

Викладене вище показує, що всі мутації, в тому числі і «шкідливі», у відповідних умовах стають цінними у еволюційному відношенні і з точки зору селекції. Мутації створюють резерв спадкової мінливості цього виду, який дозволяє цьому видові пристосовуватись до змінюваних умов середовища і освоїти нові важливі для життя простори.

Для селекціонера мутації вважаються "сирим" вихідним матеріалом, який може бути успішно використаний у селекції рослин з потрібними для людини якостями. Але частота спонтанного мутування дуже низька для того, щоб її можна було використати в селекції. Тому останні 40-50 років вчені почали застосовувати різні фактори для підсилення мутаційних процесів у організмів, тобто індукувати мутації. Усе більше важливим у селекції рослин стає метод штучного одержання життєздатних корисних мутацій. Відомо багато прикладів створення практично цінних індукованих мутацій шляхом впливу на організми різними фізичними й хімічними факторами. При цьому можуть виникати мутації різних типів, селекційна цінність яких неоднакова.

Спадкову мінливість поділяють на :

- *комбінативну мінливість*, яка забезпечується пере комбінуванням генів, хромосом та їх сегментів, які несуть різні алелі. Це виявляється в різноманітті

організмів-нащадків, які отримали нові комбінації алелів в наслідок випадкового поєднання при заплідненні, або внаслідок кросинговеру.

- *мутаційну мінливість*, що є результатом виникаючих стійких змін генів/хромосом, які обумовлюють помітні якісні спадкові ознаки (під впливом добору, вони або зберігаються, або елімінують).

Автор теорії мутацій голландський ботанік Гуго де Фріз визначив «мутації як стрибкоподібні, переривчасті зміни спадкових ознак». Це чітке, хоч і недосконале, визначення дійсне і сьогодні. Він запропонував термін "мутація" в своїй класичній праці "Мутаційна теорія" (1901—1903), основні положення якої не втратили значення і дотепер. Гуго де Фріз сформулював наступні і положення теорії мутацій:

- мутації виникають раптово, дискретно, без переходів;
- мутантні форми є константними;
- мутації успадковуються;
- мутації виникають як якісні зміни і протікають як в плюс, так і в мінус сторони (можуть бути корисними і шкідливими);
- на виявлення мутацій впливає об'єм вибірки особин, залучених для виявлення мутацій;
- одні і ті самі мутації можуть виникати повторно, хоча і з нижчою частотою.

В більш пізніх своїх роботах у 1932 р. Гуго де Фріз зазначав, що багато з того, що здається недосяжним, опиниться під владою дослідника у випадку пізнання законів, на яких ґрунтується мутування видів. Автор вважав, що на дослідників чекає безмежне поле наполегливої роботи високої значимості як для науки, так і для практики в багатообіцяючій галузі володарювання над мутаціями. Для генетиків і селекціонерів в їх практичній роботі дуже важливо мати надійні критерії розпізнавання спадкових мутаційних змін і їх розмежування з модифікаціями.

На деякі найважливіші відмінності мутацій і модифікацій слід звернути особливу увагу. Ч. Дарвін називав мутаційну мінливість невизначеною, враховуючи те, що у відповідь на дію одного фактору можуть виникати зовсім різні спадкові зміни ознак і, навпаки, різні фактори зовнішнього середовища можуть призводити до однакових спадкових змін фенотипу. Що ж до модифікаційної мінливості, то Ч. Дарвін її називав визначеною, бо в цьому випадку характер фенотипових змін можна заздалегідь прогнозувати, знаючи, який фактор діятиме. Дійсно, можна з високим ступенем вірогідності передбачити характер неспадкових змін фенотипу рослин у відповідь на підвищену чи низьку температуру, умови посухи чи високої вологості тощо.

Питання для самоконтролю:

1. Охарактеризуйте особливості спонтанного та індукованого мутагенеза.
2. Яке значення мутацій у адаптації рослин?
3. Коли і ким була сформульована "Мутаційна теорія"?
4. Як відбувається процес мутаційної зміни організмів?

Еволюція генетичного матеріалу. Типи мутацій

Охарактеризувати з сучасних позицій таке складне явище як мутаційний процес надзвичайно складно. В основі існуючих класифікацій лежать різні принципи. В сучасній генетиці залежно від принципів класифікації мутації поділяють на наступні:

1. За походженням:

- а) спонтанні, що постійно виникають у природі без очевидних причин і з певною частотою;
- б) індуковані мутації, що виникають при експериментальному впливі на генетичний матеріал.

2. За виявом у гетерозиготному стані:

- а) домінантні мутації;
- б) рецесивні мутації.

3. За напрямом:

- а) прямі мутації, за яких гени дикого типу перетворюються в алельні форми;
- б) супресорні і зворотні мутації, за яких відновлюється дикий фенотип.

Повернення мутанта до дикого фенотипу (тобто реверсія) найчастіше є результатом супресії, тобто іншої мутації. Зворотні мутації, за яких ушкоджений ген повністю відновлює свою будову і перетворюється у вихідний ген дикого типу, бувають рідше.

4. За локалізацією в еукаріотичній клітині:

- а) ядерні, якщо мутації відбуваються в ДНК ядра;
- б) цитоплазматичні, якщо мутації відбуваються в ДНК цитоплазми (мітохондріальні, пластидні).

5. За місцем виникнення та характеру успадкування:

- а) генеративні — такі, що містяться в статевих клітинах і передається нащадкам;
- б) соматичні — такі, що виникають в соматичних клітинах і розповсюджуються за їх мітотичного поділу.

6. За характером прояву:

- а) морфологічні — мутації, що проявляються тими чи іншими змінами будови клітин та організмів, структури колоній прокариотів тощо;
- б) фізіологічні — супроводжуються порушенням фізіологічних функцій;
- в) біохімічні — мутації, для яких встановлені порушення обміну речовин, в першу чергу на рівні білкових молекул;
- г) етологічні (зміна поведінки).

7. За впливом на життєздатність та адаптивну здатність клітин і організмів:

- а) корисні мутації — такі, що за фенотиповим проявом імітують адаптивні модифікації і тому сприяють збереженню виду за даних умов;

- б) нейтральні мутації — такі, що не впливають на життєздатність клітин і організмів;
- в) стерильні – такі, що не впливають на життєздатність, але різко знижують плідність);
- г) субвітальні мутації — знижують життєвість генотипів на 10-50%;
- д) напівлетальні мутації — знижують життєвість генотипів на 50 - 90%;
- ж) умовно летальні – не виявляються в одних – пермісивних – умовах, однак летальні в інших – непермісивних – умовах;
- з) летальні — призводять до загибелі 100% генотипів, що мають таку мутацію;
- е) умовно-летальні мутації — проявляються лише за певних умов.

8. За силою прояву алелів:

- а) гіперморфні - призводять до посилення дії гена за рахунок збільшення кількості продукту, який синтезується під його контролем;
- б) гіпоморфні – послаблюють дію гена за рахунок зменшення кількості біохімічного продукту, що кодує алель дикого типу;
- в) неоморфні – кодують синтез продукту, який відрізняється від синтезованого під контролем алеля дикого типу і не взаємодіє з ним;
- г) аморфні – інактивують дію гена;
- д) антиморфні – діють протилежно алелям дикого типу.

9. Залежно від змін генотипу:

- а) генні або точкові мутації — зміни структури ДНК в межах гена;
- б) хромосомні мутації або хромосомні перебудови — порушення структури хромосом;
- в) геномні мутації—випадкові зміни кількості окремих хромосом або кількості хромосомних наборів.

З наведених класифікацій найглибше генетичне підґрунтя має класифікація, що заснована на характері змін у генотипі. На жаль, не для всіх мутацій відома сутність генотипових порушень. Тому поруч з класифікацією, що заснована на врахуванні змін у генетичному апараті, широко використовується найбільш екліктична класифікація, що ґрунтується на особливостях змін фенотипу, а також інші класифікації. Мутації можуть виникати в будь-якій клітині організму на різних стадіях його розвитку.

Мутації, що виникли в статевих клітинах або гаметах, називаються *генеративними*. Генеративні мутації передати,ся спадково наступним поколінням у процесі статевого розмноження. На випадок домінування генеративної мутації, статеві клітини, що несуть таку мутацію, утворюють зародок, а потім і рослину мутантної форми (Т. Морган, 1924).

Рецесивну мутацію можна виявити лише в другому поколінні при самозапиленні рослини, коли вона перейде гомозиготний стан. У перехреснозапилюваних рослин рецесивна мутація може перейти в гомозиготний стан і проявитись фенотипово лише тоді, коли обидві схрещуванні рослини будуть нести в гаметах цю саму мутацію. В

протилежному випадку мутація буде передаватись частині потомства в замаскованому гетерозиготному стані.

Мутації виникають не тільки в статевих клітинах, але і в клітинах інших тканин і в такому разі називаються *соматичними*. Соматичні мутації за своєю природою нічим не відрізняються від генеративних. В цьому випадку внаслідок диплоїдного набору хромосом у клітинах тканин мутації можуть проявитись лише тоді, коли мутантна алель буде домінантною або рецесивною, але в гомозиготному стані.

Мутантні клітини утворюють свою тканину, яка може бути виявлена на окремій гілці або на іншій частині рослини. Рослини, які несуть мутаційні тканини називають мозаїками, а також *химерами*. Чим раніше виникла соматична мутація, тим більша частина рослини буде мутантною. Якщо мутація виникла в зародку на стадії насіння, то мутантна клітина може дати початок всій рослині (якщо решта ініціальних клітин загинула) і тоді вся рослина буде мутантною або утвориться окремий сектор тканини, що охоплює половину рослини, або одну гілку. Мутантна тканина не завжди витримує конкуренцію з нормальною тканиною, які, як правило розвиваються краще. На якомусь етапі розвитку мутантна тканина може припинити свій ріст і бути зовсім непомітною під прикриттям нормальних тканин. Якщо з такої мутантної клітини утвориться спляча брунька, то при відповідних умовах (наприклад, обрізка частини рослини) можна отримати пагони, які будуть повністю мутантними. При вегетативному розмноженні можна отримати мутантні клони.

В еволюції організмів, які розмножуються виключно статевим шляхом і у яких генеративні органи закладаються на ранніх стадіях онтогенезу, соматичні мутації ніякої ролі не відіграють і не мають значення в селекції. Для них важливими вважаються лише мутації, що з'являються в зародкових клітинах. Але для видів, що розмножуються безстатевим шляхом, соматичні мутації мають величезне значення. У плодових, ягідних та інших деревних рослин, що розмножуються вегетативно, будь-яка соматична мутація може дати цілий клон або сорт з новими мутаційними ознаками. Одним з видів соматичних мутацій вважаються брунькові мутації, що виникають у материнських клітинах точки росту стебла. В такому випадку увесь пагін, якщо він розвивався з мутантної клітини, буде нести мутантну ознаку. Брунькові мутації були відомі давно і називались спортами. До речі, І.В. Мічурін одержав від подібного спорту сорт яблуні - Антонівка-600-грамова.

Не всі нові мутації можна відразу виявити у вигляді мутантного потомства. Так, при виникненні *рецесивної мутації* в гаметі диплоїдного виду утворюється зовні нормальне потомство (крім випадків неповного домінування). Це буде тривати доти, поки при утворенні зиготи не зустрінуться дві гамети, кожна з яких несе мутантний ген.

Домінантна мутація, на відміну від рецесивної, виявляється у безпосередньому потомстві особини, у якої вона вперше з'явилася в полових

клітинах. Така мутація проявляється в кожного організму, що одержав від батьківської або від материнської форми хоча б один мутантний ген.

Рецесивна *соматична мутація*, на відміну від домінантної, не може викликати видимого ефекту в присутності свого домінантного алелю (при повному домінуванні). У цьому випадку поява видимої зміни можлива тільки тоді, коли мутація виникає в клітині, що вже є гетерозиготною за даним геном.

Мутації, навіть домінантні або напівдомінантні, не завжди можна виявити в потомстві. Це, насамперед, відноситься до тих випадків, коли яка-небудь одна ознака визначається спільним впливом декількох або багатьох генів, кожний з яких окремо має слабку дію. Так успадковуються кількісні ознаки, наприклад, урожайність рослин, їхня висота й ін. Мутацію такого гена нелегко розпізнати, особливо тому, що її ефект може бути приписаний впливу середовища. У селекційному відношенні ці малі мутації, або *мікромутації*, можуть бути цінними.

Залежно від характеру зміни спадкових структур мутації діляться на такі основні типи:

- *генні*, або *точкові*, зумовлені змінами молекулярної структури мутантного гена, тобто порушенням специфічної послідовності нуклеотидів у молекулі ДНК. Оскільки вони не зв'язані зі структурними змінами хромосом, їхнє виникнення зазвичай не призводить до порушення кон'югації хромосом у мейозі та процесу кросинговеру;

- *хромосомні перебудови* характеризуються розривами й різними наступними структурними перебудовами хромосом. Кожна із цих змін звичайно супроводжується проявом якої-небудь нової ознаки або властивості.

геномні мутації - зміни, пов'язані з кратним збільшенням або зменшенням основного числа хромосом (поліплоїдія, гаплоїдія).

Для селекції більше важливі генні мутації, тому що хромосомні перебудови, зазвичай, призводять до негативних наслідків, зокрема до зниження плідності.

В залежності від характеру змін, що відбуваються в хромосомах генотипу, мутації підрозділяються на генні (точкові), хромосомні та геномні. У випадку генних мутацій зміни відбуваються в молекулярних структурах генів. Вони викликають порушення черговості розміщення нуклеотидів і ДНК внаслідок вставок, випадання або заміни окремих нуклеотидів. Внаслідок цього відбувається заміна зчитування і спадкової програми з ДНК при синтезі на ній і-РНК. Це призводить до змін черговості амінокислот або їх складу в поліпептидних ланцюгах білків і до виникнення біохімічних, фізіологічних та морфологічних мутацій, що вимагають спеціальних способів їх виявлення. Виникнення мутацій та їх проявлення за фенотипом досить складний і ще не вивчений процес. Генні мутації мають найбільше значення в еволюційному процесі і вважаються надзвичайно цікавими для селекції. Хромосомні мутації обумовлені перебудовою хромосом і порушенням їх структури, що відбувається при діленні клітин. В залежності від характеру виникаючих перебудов розрізняють: нестачі, делеції, дуплікації, інверсії та транслокації хромосом.

Нестачі - втрачається кінцева частина хромосоми і хромосома скорочується.

Делеція (втрата) - витрачається середня частина хромосоми.

Інверсія (перевертання) - хромосома розривається і знову з'єднується іншими кінцями.

Дуплікації (здвоєння) - відбувається здвоєння якої-небудь ділянки хромосоми.

Транслокація (переміщення) - взаємний обмін частинами негомологічних хромосом.

Зміна організмів при хромосомних перебудовах більшості випадків пов'язана не з порушенням структури генів, а зі змінами їх взаємного розміщення в хромосомі. При цьому було встановлено, що дія гена залежить від його положення в хромосомі та сусідства з іншими генами. Це явище було названо "ефектом положення". Перебудови хромосом викликають значні зміни спадкової програми, приводять, до значних порушень білкового синтезу і нерідко вважаються летальними для організму. При незначних перебудовах хромосом у організмів виникають нові властивості та ознаки. Багато дослідників вважають хромосомні мутації найбільш поширеними, особливо при штучному отриманні мутацій.

Геномні мутації - це зміна кількості хромосом в клітині, що виникають частіше за все внаслідок порушення процесу поділу клітин. При цьому може відбутись збільшення або зменшення кількості хромосом за рахунок нових гаплоїдних наборів і тоді виникають гаплоїди та поліплоїди, або за рахунок окремих хромосом в диплоїдному наборі в останньому випадку утворюються гетероплоїди.

Викликаючи зміни спадкової програми, а цим самим і білкового синтезу, мутації призводять до мінливості організмів, яка називається мутаційною. Всі зміни, що відбуваються в структурі ДНК, копіюються в її нових молекулах при редуплікації і передаються в новоутворені соматичні та статеві клітини. Внаслідок цього потомство отримує уже змінену спадкову програму.

Питання для самоконтролю:

1. Як відбувається еволюція генетичного матеріалу ?
2. Охарактеризуйте сучасну класифікацію мутацій.
3. Що означає поняття «генна мутація»?
4. Визначте значення мутацій для розвитку живих організмів.

Генетична активність мутагенних факторів. Групи мутагенів: фізичні, хімічні, біологічні

- генетична активність мутагенних факторів;
- одержання мутацій під впливом фізичних мутагенів;
- одержання мутацій під впливом хімічних мутагенів;
- практичне використання індукованих мутантів.

Основні поняття: індукування мутацій, фізичні мутагени, хімічні мутагени, частота і спектр мутацій, покоління M_1 - M_4 , селекційна цінність.

Цікавість до мутагенезу обумовлена тим, що мутанти часто мають більшу селекційну цінність, тому, що в них можуть виникнути нові, раніше невідомі корисні ознаки.

Метод штучного одержання життєздатних корисних мутацій стає усе більше важливим у селекції рослин. Уже розроблено багато прийомів індукування мутацій. В основі їх лежить вплив на організми різними фізичними і хімічними факторами - *мутагенами*. З них використовують головним чином випромінювання різного типу й деякі хімічні речовини.

Впливаючи цими факторами на рослини, можна різко підвищити їх мутаційну мінливість. Маючи у своєму розпорядженні збільшене різноманіття вихідних форм, селекціонер відбирає серед багатьох шкідливих і марних мутантів одиничні цінні зразки й використовує їх при виведенні нових сортів.

Для отримання штучних мутацій в селекції застосовують:

- іонізуюче випромінювання;
- неіонізуюче випромінювання;
- хімічні речовини;
- низькі та високі температури.

Чутливість різних рослин до радіації неоднакова. При виборі дози опромінення доводиться враховувати не тільки видову приналежність матеріалу, але і його фізіологічний стан, а також деякі інші фактори.

Відповідно до системи СІ як одиниця поглиненої дози іонізуючого випромінювання прийнятий грей (Гр). $1 \text{ Гр} = 1 \text{ Дж/кг} = 100 \text{ рад}$.

Коротко зупинимось на мутагенах та механізмах їх дії. Виділяють дві великі групи мутагенів фізичні та хімічні. До групи фізичних мутагенів входять електромагнітні випромінювання гамма-промені, рентгенівські та ультрафіолетові промені, а також випромінювання ядерних частинок у вигляді протонів, нейтронів, бета -, альфа - та інших частинок. Випромінювання, яке викликає мутації, буває двох видів: іонізуюче та неіонізуюче. В якості мутагенних факторів можуть також бути використані різні зниження або підвищення температури, тиску та інші.

Для одержання мутацій застосовують різні джерела іонізуючого випромінювання, найчастіше рентгенівське й гамма-випромінювання, α і γ -частки, швидкі й повільні нейтрони. Високу мутагенну активність мають і радіоактивні ізотопи ^{32}P та ^{35}S . Однак через труднощі їх зберігання й використання останнє джерело випромінювання мало зручне для селекціонерів.

Іонізуюче випромінювання:

- рентгенівське випромінювання;
- γ - випромінювання;
- α - та β - частки;
- нейтрони;

- радіоактивні ізотопи ^{32}P ^{35}S
- *Неіонізуюче випромінювання*
- ультрафіолетові промені

Іонізуючі випромінювання відносять до головних мутагенів. У селекційній роботі можна використати будь-які види іонізуючого випромінювання. Однак більш широко застосовують рентгенівське, гамма - та нейтронне випромінювання, які одержали назву іонізуючого за здатність перетворювати атоми й молекули в електричні заряджені частки - іони, тобто викликати іонізацію. У результаті іонізації відбуваються хімічні зміни генетичного матеріалу та інших речовин, що поглинули енергію випромінювання, порушується структура хромосом і т. ін.

Іонізуючі випромінювання - це випромінювання з високою енергією, що мають здатність викликати іонізацію, тобто утворення пар іонів в поглинаючому їх середовищі. За виключенням ультрафіолетових променів всі згадані вище електромагнітні випромінювання та ядерні частинки здатні викликати іонізацію атомів та молекул

Рентгенівські та гамма-промені вважаються короткохвильовим випромінюванням (від 0,01 до 10 Е) і володіють високою енергією випромінювання. До того ж вони не мають заряду, що забезпечує їм високу проникаючу здатність. Фізичні та біологічні дії рентгенівських та гамма-променів на рослини досить близькі. Вони можуть суттєво змінюватись під впливом зовнішніх факторів (вологості, температури, ступеню дозрівання насіння та інше). Рентгенівські промені стали використовувати в селекції для одержання мутацій раніше інших джерел. Широко застосовують і зараз, оскільки рентгенівські апарати є в багатьох установах, керування ними не складає великих труднощів, рентгенівським випромінюванням відносно легко впливати як на насіння, так і на інші частини рослини, нескладно змінювати дози випромінювання.

Гамма-випромінювання (γ -випромінювання). Джерелом звичайно служить радіоактивний кобальт (^{60}Co) або цезій (^{137}Cs). На об'єкт можна впливати двома способами обробки: *гострим* (потужним джерелом при порівняно короткочасній його дії) і *хронічним* (тривалим, але значно більш слабким). Для короткочасного опромінення служать спеціальні потужні установки для опромінення.

Для дослідницької селекційної мети доволі широко застосовують *нейтрони*. Вони також не мають заряду і легко проникають в тканини живих організмів. Краще всього вивчена мутагенна дія швидких нейтронів, вона в 10-100 разів інтенсивніша, порівняно з рентгенівськими та гамма-променями. Нейтрони виникають у результаті деяких ядерних реакцій, зокрема при діленні ядер урану й плутонію. Розрізняють швидкі нейтрони й повільні, або теплові. Швидкі нейтрони роблять мутагенну дію переважно в момент опромінення, теплові викликають наведену радіоактивність у самій клітині. Відносна біологічна ефективність нейтронів в 10-40 разів вище, ніж гамма - і рентгенівського випромінювання.

Радіоактивні ізотопи. Як мутагенні фактори у ряді випадків можна застосовувати радіоактивні ізотопи, наприклад фосфору (^{32}P) і сірки (^{35}S). Мутагенна

активність їх висока, оскільки ці елементи грають винятково важливу роль в обмінних процесах, що відбуваються в ядрі клітини. Однак через труднощі зберігання й використання радіоактивних ізотопів дане джерело випромінювання мало зручне для селекціонерів.

Іонізуючий ефект всіх цих випромінювань обумовлений вторинними частинами (електронами та протонами), що вибиваються з атомів речовини. Повторно заряджені частинки в процесі іонізації утворюють пари іонів, що вважаються початком в опроміненій тканині складної ланки фізико-хімічних процесів. Ці процеси в кінці кінців призводять до перебудови молекул та зміни напряму біохімічних процесів, наслідком яких можуть бути мутації генів та порушення структури хромосом.

Біологічна дія іонізуючого випромінювання залежить не тільки від виду опромінювання, але і *дозы опромінювання* (вимірюється в радах та рентгенах) та від *потужності дози* (доза випромінювання за відповідний час).

В якості джерела рентгенівських променів використовуються рентгенівські апарати, що застосовуються в медицині (наприклад, РУМ 11). Для отримання гамма-променів застосовують установки з кобальтом 60 (Co^{60}) або цезієм (Cs^{137}). Гамма-установка дуже вигідна для хронічного (довготривалого) опромінювання матеріалів безпосередньо на полі або у лісі. Опромінювати нейтронами можна лише порівняно дрібні об'єкти і лише в циклотронах та атомних реакторах.

Частота появи мутацій залежить від дози випромінювання. Існує позитивна лінійна залежність між дозою випромінювання й частотою мутацій. Однак ця пропорційність (лінійна залежність мутацій від дози) спостерігається в основному в інтервалі 100% виживання. З переходом в інтервал «поріг виживання - загибель всіх рослин» вихід мутацій уже не може збільшуватися пропорційно дозі, тому що з її підвищенням буде зростати загибель рослин і відносне число життєздатних мутантів після досягнення максимуму почне знижуватися.

Чутливість різних рослин до випромінювання неоднакова. Отже, щоб викликати мутації у різних культур, необхідні різні дози мутагенів. Їх варто підбирати не тільки з урахуванням видової приналежності оброблюваного насіння або частин рослин, але й деяких інших факторів. Вегетативні органи рослин більш чутливі до випромінювання, ніж насіння. За роки досліджень підібрані рекомендовані оптимальні дози гамма і рентгенівського випромінювання, які дають високий вихід господарсько-цінних мутацій.

Неіонізуюче випромінювання. Генетично ефективним неіонізуючим випромінюванням вважають ультрафіолетове (УФ). Воно має значно більшу довжину хвилі (200-400 нм), ніж іонізуюче випромінювання, і меншу енергію. При його впливі відбувається не іонізація речовини, а тільки збудження молекул. Проникаюча здатність ультрафіолетового випромінювання дуже мала. Тому його можна використати тільки для обробки пилоквих зерен. Ультрафіолетове випромінювання викликає досить високу частоту мутацій,

Виявлено генетичну ефективність лазерного випромінювання видимого спектрального діапазону, а також перспективність його застосування в селекції рослин.

У селекції поряд з іонізуючими випромінюваннями використовують *хімічні мутагени*. Хімічні мутагени стали використовувати в селекції не так давно, близько 50 років тому назад, хоч можливість отримання мутацій під впливом хімічних речовин установили ще Г. Штуббе в 1930 р. та В.В. Сахаров в 1932 р. Пріоритет відкриття багатьох високоактивних мутагенів, які і зараз широко застосовуються, належить радянському вченому Йосипу Абрамовичу Рапопорту.

Для експериментального отримання мутацій застосовують *хімічні речовини (мутагени)*:

- етиленімін;
- етилметансульфонат;
- диетилсульфат;
- нітрузоалкілсечовина;
- нітрузометилсечовина;
- 1,4-бісді-азоацетилбутан.

Вплив хімічних речовин на мутаційний процес складніший. На відміну від іонізуючого випромінювання, яке проникає у всі живі тканини, хімічні з'єднання можуть затримуватись на поверхні насіння і довгий час не досягати зародкових клітин, Отож, дія мутагену буде залежати від оболонки насіння. Температура, *pH* розчину та вміст води в насінні також мають значення і будуть відповідно впливати на мутаційний процес.

В деяких випадках хімічні речовини значно сильніше впливають від іонізуючих променів, спектр їх дії також відрізняється. Так, шведський вчений Н.С. Ейгес (1961) відмітив, що етиленімін значно ефективніше діє від гамма-променів в 4-6 разів. В дослідях з нітрузометилсечовиною та нітрузоетилсечовиною, отримані дуже високі мутаційні ефекти. На спектр мутацій в значній мірі впливає концентрація мутагену. Наприклад, при дії 0,01-0,02% диметилетиленіміном на насіння пшениці було отримано багато мутантів, що відрізняються великим колосом і стійкістю до грибкових захворювань, а при більш високій концентрації (0,06-0,09%) виникало дуже багато форм зі зміненим типом колосу (Н.С. Ейгес, 1966).

Найбільш відомі мутагени та їх приблизні концентрації, що застосовуються для обробки насіння сільськогосподарських рослин (за Н.А. Зоз 1966): етилметансульфат - 0,015-0,2%; етиленімін - 0,001-0,005%; диетилсульфат - 0,05-0,12%; нітрузоетилсечовина - 0,01-0,015%; нітрузометилсечовина - 0,012%. Але в кожному окремому випадку концентрацію мутагену потрібно перевіряти експериментально, особливо при застосуванні до лісових дерев. Витримка насіння в розчині мутагену не повинна бути дуже короткою і надмірно довгою. В середньому рекомендовано замочувати насіння на 3-12 годин, в залежності від виду рослин. Хімічними

мутагенами можна діяти не тільки на насіння, але і на пилок, квітки, точки росту пагонів та живці. Очевидно, хімічні мутагени, завдяки їх високій мутагенній активності та простоті в застосування, в недалекому майбутньому найдуть ще більш широке застосування і використання в селекційній роботі.

Питання для самоконтролю:

1. Які методи індукування мутацій вам відомі?
2. Назвіть і охарактеризуйте відомі Вам мутагенні фактори.
3. Які особливості впливу різних груп мутагенів ви знаєте?
4. Охарактеризуйте генетичну активність різних мутагенних факторів.

Методи отримання, вивчення індукованих мутацій, підвищення їх частоти і розширення спектру

- прийоми індукування мутацій;
- передмутаційні зміни генетичного матеріалу;
- фізіологічна теорія мутагенезу;
- мутагенні фактори і ДНК;
- теорія мішені;
- екологія і мутагенез.

Основні поняття: *індукування мутацій, генетичний матеріал, ДНК, передмутаційні зміни, мутація, екологія.*

Метод штучного одержання життєздатних корисних мутацій стає усе більше важливим у селекції рослин. Уже розроблено багато *прийомів індукування мутацій*.

Вважають, що головне розходження між індукованими й природними мутаціями полягає в частоті, з якої вони виникають. Більшість індукованих мутацій так само, як і природних, шкідливі або марні для організму, а корисні з'являються досить рідко: зазвичай одна або дві з кожної сотні. Поняття корисна мутація - умовне. До цієї категорії відносять будь-яку мутаційну зміну ознаки, яку можна використати практично (міцність стебла, ранньостиглість та ін.).

Цінні мутантні форми можуть бути виділені й розмножені.

У селекційній роботі при використанні методу експериментального мутагенезу варто враховувати, що різні сімейства, роди, види й окремі сорти одного виду виявляють чітко виражену неоднакову чутливість як до типів мутагенних факторів, що впливають, так і до їхніх доз. Це проявляється в різному ступені виживання рослин, неоднаковій частоті виникнення індукованих мутацій і в розходженні спектрів мутацій. Різні сорти того самого виду часто різняться за чутливістю до дії мутагенів і мають неоднаковий спектр мутацій. Для одержання бажаних результатів варто задіяти в роботі якнайбільше сортів.

Фізичними і хімічними мутагенами можна обробляти сухе та проросле

насіння, пагони, бульби, цибулини, пилок, ін'єкувати ці речовини в стебло рослин перед вступом їх у генеративну фазу і т.д.

Тривалість обробки насіння варіює від 3 до 18 годин. Розроблено зразкові концентрації та дози мутагенів для обробки сухого насіння. Ці дані орієнтовні, для кожної культури й сорту їх доцільно уточнювати в попередніх дослідах. Установлено, що зі збільшенням концентрації мутагену до певного рівня частота життєздатних мутацій зростає, а потім відбувається її зниження в результаті загибелі клітин, у яких виникли зміни при підвищенні концентрації мутагену. Отже, у селекційній роботі використання високих концентрацій мутагенів недоцільно, але вони не повинні бути й занадто низькими, інакше вплив буде слабким. Хімічні мутагени виявилися в багатьох випадках значно ефективніше фізичних.

Завдання селекції дуже різнобічні: для рішення одних більше підходять хімічні мутагени, для рішення інших - випромінювання. При селекційній роботі з культурами, що розмножуються вегетативно, істотний практичний інтерес має індукування соматичних мутацій. Досягти цього можна, наприклад, шляхом впливу на бульби, цибулини, пагони і т. ін. рентгенівським і гамма-випромінюванням, а також швидкими й тепловими нейтронами.

У зв'язку з відносно рідкою частотою появи життєздатних корисних мутацій бажано мати порівняно великі популяції рослин. Для виділення мутантів потрібні ретельні спостереження.

Опромінене насіння зазвичай висівають в полі широкорядним способом, щоб за рослинами було легше вести спостереження. Рослини, вирощені з насіння, обробленого мутагенами, прийнято позначати M_1 , M_2 , M_3 .

У селекції за допомогою індукованого мутагенезу можна вирішувати різні завдання, з яких варто назвати три головні.

1. Забезпечення мінливості із широким спектром мутацій і високою частотою їхньої появи з метою одержання вихідного матеріалу для добору. Маючи у своєму розпорядженні більше різноманіття мутантних форм, селекціонер відбирає серед сотень марних або шкідливих змін одиничні цінні форми та використовує їх при виведенні нових сортів. У результаті мутацій у рослин можуть виникати нові, раніше невідомі, корисні ознаки, для передачі яких такий випробуваний і провідний метод, як гібридизація, може виявитися неефективним. Серед цього різноманіття форм відбираються мутанти з корисними змінами.

2. Індукування мутантів зі специфічними змінами окремих ознак з метою виправлення деяких дефектів сортів. При цьому важливо, щоб інші господарсько-цінні ознаки залишалися незмінними (стійкість до бактеріальних і грибних хвороб).

3. Рішення спеціальних селекційних завдань, наприклад, збільшення рекомбінації генів і розривів небажаних зчеплень, перенос фрагментів хромосом одного виду рослин у хромосоми іншого виду при віддаленій гібридизації, одержання гомозиготних мутантів шляхом впливу на гаплоїди випромінюванням і наступним подвоєнням у них числа хромосом і т. ін.

У зв'язку з виведенням цінних мутантних сортів, одержанням величезної кількості мутантів з окремими корисними ознаками й властивостями стало питання про збереження й раціональне використання такого багатого генофонду, створеного працею сотень дослідників з багатьох країн світу. Із цією метою в ряді країн почали організовувати банки інформації про всіх мутантів, наявних у різних наукових установах. Зокрема, у Польщі в Інституті селекції та акліматизації рослин у Радзикуві був створений центральний банк інформації про мутантів, отриманих у селекційних установах країн Східної Європи.

Відомо, що програма синтезу білка вміщена в кожній клітині живого організму, вона записана на ДНК хромосом в суворій послідовності нуклеотидів і представлена сукупністю генів. Ця програма в процесі ділення клітин точно відновлюється завдяки редуплікації ДНК і передається в ряді поколінь через статеві (при статевому розмноженні) або соматичні (при безстатевому розмноженні) клітини, тобто повторюючи та зберігаючи порядок нуклеотидів. В цьому випадку гени залишаються постійними, спадковість не змінюється, а мінливість осіб може бути лише фенологічною.

Але достатньо змінитись черговості нуклеотидів в ДНК хоча б за рахунок одного з них, як це одразу ж відіб'ється на білковому синтезі, що в свою чергу викликає зміни в організмі. Це лише частковий випадок. В дійсності перебудови ДНК і хромосом досить різноманітні. В процесі реплікації ДНК нерідко виникають помилки, особливо в процесі ділення клітини, які й називають *мутаціями*. Ці помилки і є основним джерелом генетичної мінливості, на які орієнтується селекція, виводячи різні різновидності. Вони є також джерелом мінливості, що створює можливості розвитку еволюційного процесу.

Частота таких помилок або мутацій досить мала, вчені визначають її відношенням 1:10000 та 1:1000000, тобто один ген може бути мутаційним на 10 тис. або мільйон осіб. Оскільки в кожній клітині існує кілька мільйонів генів, а у дерева кілька - мільйонів клітин, то абсолютна кількість мутацій може бути дуже великою. В одному дереві може виникнути кілька мільйонів мутацій. Але більшість цих мутацій настільки несуттєво впливають, що вони можуть залишитись непоміченими.

Мутації відбуваються в природних умовах постійно під впливом самих різних причин: природного радіаційного фону, ультратрафіолетового випромінювання, різких змін температури, дії деяких хімічних речовин і навіть масового поширення шкідників та хвороб. Мутаційний процес забезпечує існуючу мінливість живих організмів та постійно постачає матеріал для природного добору. Але більшість мутацій вважаються рецесивними і масово гинуть або не проявляють себе, якщо вони не відповідають навколишнім умовам середовища.

Передмутаційні зміни генетичного матеріалу. У відповідності з фізіологічною гіпотезою мутаційного процесу М. Є. Лобашова мутації слід розглядати як наслідок випадкових помилок або індукованих порушень

нормальних процесів клітинної фізіології і в першу чергу так званих "трьох Р": реплікації, репарації і рекомбінації. Ферменти цих найважливіших генетичних процесів одночасно забезпечують функціонування в клітині численних систем репарації та виправлення помилок. Завдяки наявності таких захисних механізмів не всякі зміни молекулярної організації генетичного матеріалу можна вважати мутаціями. Більшість із них усувається системами захисту ДНК, отже не успадковується і не є мутаціями. Такі тимчасові порушення структури ДНК називають **потенційними** або **передмутаційними** змінами генетичного матеріалу. Зазначені зміни можуть виникати внаслідок внутрішніх причин — тих чи інших помилок у функціонуванні ферментів реплікації, рекомбінації та інших, а можуть бути індуковані чинниками зовнішнього середовища. Отже, природні мутації, які ототожнюються із спонтанними, залежать як від зовнішніх, так і від внутрішніх факторів. Є чимало доказів того, що генотип істотно впливає на частоту природного мутування. Так, у дрозофіли частота появи летальних мутацій в Х-хромосомі в середньому дорівнює 0,15%, однак у природі є мухи із значно вищою мутабільністю, яка успадковується. Темп мутування визначається не тільки генотипом, але й віком особин, стадією розвитку статевих та соматичних клітин, в яких відбуваються мутації, і т. п. Особливе значення мають мобільні генетичні елементи, транспозиція яких у геномі супроводжується високою мутабільністю. Крім них, на частоту виникнення мутацій можуть впливати і окремі гени — як такі, що збільшують цю частоту (**гени-мутатори**), так і такі, що її зменшують (**гени-антимутатори**). Так, за наявності гена *mutT* частота мутацій типу трансверсій у *E. coli* збільшується в 10000 разів. Значно зростає кількість мутацій за SOS-репарації, яка йде з помилками, завдяки експресії генів *umuC*, *umuD* та інших. Механізм впливу генів-мутаторів на процес мутабільності сьогодні в загальних рисах з'ясований. Суть полягає в тому, що продукти деяких генів можуть модифікувати дію ДНК-полімераз та інших ферментів реплікації, репарації та рекомбінації, дозволяючи їм працювати з помилками. Останні, як вже зазначалось, лежать в основі як спонтанних, так і індукованих мутацій.

Фізіологічна теорія мутагенезу. Основною причиною природного та індукованого мутування слід вважати біохімічні зміни в клітині, що спричиняють порушення основних матричних процесів. Фактори зовнішнього середовища (ультрафіолет, іонізуючі опромінення, хімічні мутагени та ін.) значно модифікують інтенсивність мутаційного процесу за рахунок збільшення кількості передмутаційних змін у ДНК або шляхом впливу на ефективність генетико-біохімічних систем репродукції і захисту спадкового матеріалу. В протилежність цьому все, що сприяє зменшенню потенційних змін у ДНК або збільшує можливості репараційних процесів, буде виявляти антимутагенний ефект, який сьогодні відомий у численних хімічних сполук — **антимутагенів**.

Відомо, що частина помилок реплікації залежить від співвідношення полімеразної і 3' — 5'-екзонуклеазної активності ДНК-полімераз. Цей факт пояснюється тим, що 3' — 5'-екзонуклеазна активність ДНК-полімераз виконує

коректорську функцію, видаляючи щойно вбудовані в ДНК помилкові нуклеотиди. Співвідношення полімеразної до екзонуклеазної активності зменшується в ряду мутатор – дикий тип – антимутатор. Прикладом можуть бути деякі знайдені Дж. Спейсером мутанти по гену 43 фага T4, які відрізняються збільшеною або зменшеною частотою спонтанних мутацій в інших генах. З'ясувалось, що ген 43 у фага T4 кодує реплікативну ДНК-полімеразу. У окремих мутантів цей фермент відрізняється високим співвідношенням 5' — 3'-полімеразної до 3' — 5'-екзонуклеазної активності. Мутанти по локусу rII з такою ДНК-полімеразою в 2000 разів частіше, ніж звичайно, виявляли реверсію до дикому типу, тобто наявний у цих мутантів алель гена 43 виявляє властивості мутатора. Інші мутанти фага T4 по гену 43 в порівнянні з диким типом мали значно нижчий рівень як спонтанної, так і індукованої мутабільності, що вдалося пояснити особливими властивостями їх ДНК-полімерази. Ген 43 у цьому випадку виступає як антимутатор. В дослідях *in vitro* антимутаторна ДНК включала менше 2-амінопурина в ДНК, тобто допускала менше помилкових включень в порівнянні з нормальною і мутаторною ДНК-полімеразою.

Мутаторну і антимутаторну активність виявляють також деякі мутантні алелі ДНК-полімераз у бактерій і еукаріотів. Відповідний фермент з високою мутагенною активністю знайдено, наприклад, у людей, хворих лейкемією. Всі ці факти підтверджують думку про те, що виникнення мутацій у клітині – процес фізіологічний, який вимагає певного часу і участі в ньому ферментів.

Важлива роль ферментів репарації і рекомбінації в процесах мутагенезу добре з'ясована в дослідях на кишкової паличці. Саме ці процеси мають першорядне значення в перетворенні передмутаційних змін ДНК у мутації. Відомо, що структурні зміни генів *lexA* і *hcsA* впливають на ефективність рекомбінації, репарації і можуть призвести до часткового або повного пригнічення мутаційного процесу в умовах ультрафіолетового або іонізуючого опромінення, а також за дії деяких хімічних мутагенів. Мутації в генах *uvrA*, *uvrB*, *uvrC*, *uvrD*) підвищують частоту мутацій, які викликані дією на клітину ультрафіолетового опромінення. Мутації в гені *uvrE*, який контролює ліквідацію одониткових розривів в ДНК після ультрафіолетового опромінення, збільшує кількість транзицій АТ → GC у 350—400 разів, а транзицій GC — АТ у 150—200 разів. Кореляція високої спонтанної мутабільності з дефектами систем репарації у дріжджів-сахароміцетів була виявлена в 1968 році І. А. Захаровим (СРСР) і Р. фон Борстелом (США). Відомі факти залежності процесів мутабільності від генетичних систем репарації і рекомбінації у еукаріотів. Ген-мутатор *tni* у дрозофіли спричиняє підвищення мутабільності в умовах дії рентгенівського опромінення або мутагену метилметансульфонату. Порушення генів темної репарації у людини призводить до декількох форм спадкового захворювання *Xeroderma pigmentosa*, що супроводжується високою чутливістю шкіри до ультрафіолетового опромінення.

Безпосередню участь рекомбінації в мутаційних процесах засвідчує те, що змінені за структурою гени часто локалізуються там, де відбуваються обміни гомологічних послідовностей хромосом за рекомбінації. У дріжджів *Sacch. cerevisiae* описано так званий **мейотичний ефект**, суть якого полягає в тому, що деякі типи спонтанних мутацій значно частіше виникають у мейозі. Це відноситься як до вставок, так і до делецій окремих пар азотистих основ, які можуть бути наслідком не зовсім точної рекомбінації. Однак вклад рекомбінацій в мутаційний процес не обмежується тільки локальними помилками. Цілий ряд мутацій може виникати внаслідок реципрокних і нерципрокних переміщень ділянок ДНК, що супроводжуються інверсіями, транслокаціями, транспозиціями та іншими змінами хромосом. Крім того, ферменти рекомбінації необхідні для постреплікативної репарації, яка в свою чергу визначає подальшу долю передмутаційних змін в ДНК.

Мутагенні фактори і ДНК. Механізми виникнення мутацій в загальних рисах є спільними, однак кожний мутагенний агент виявляє ряд особливостей в процесі ушкодження ДНК. Детально ці особливості вивчаються науками радіобіологією і токсикологією. В рамках даного курсу розглянемо лише загальні та найбільш характерні закономірності.

Мутагенний ефект ультрафіолетового опромінення виявляється лише в клітинних моношарах, таких як мікроорганізми, пилок, спори, поверхневі клітини шкіри і т. п. Це пояснюється низькою проникливістю тканини для ультрафіолетового проміння. Найбільш мутагенним виявилось опромінення з довжиною хвилі близько 260 нм, бо воно поглинається молекулами ДНК. Фотони ультрафіолетового світла мають малу енергію (3—5 еВ), яка не може спричинити іонізації молекул. Під їх дією виникає лише збудження молекул, що в подальшому призводить до хімічних змін: утворення димерів тиміну, гідратації цитозину і урацилу, розриву водневих зв'язків і зшиванню ДНК з білками.

Під впливом ультрафіолетового опромінення виникають як генні мутації, так і перебудови хромосом. В межах зростання відносно невеликих доз опромінення частота мутацій зростає прямо пропорційно, а в межах високих доз кількість мутацій на одиницю затраченої енергії зменшується.

Серед димерів піримідинів циклобутанового типу, що утворюються за впливу ультрафіолетового опромінення на ДНК, найчастіше виникають димери тиміну, на долю яких випадає до 40% всього числа димерів. Димери ТС (тимін-цитозин) і СС (цитозин-цитозин) зустрічаються дещо рідше. За досить високої інтенсивності опромінення настає момент, коли ДНК насичується димерами (в останні включається до 15% всіх азотистих основ). Тоді одночасно з утворенням нових димерів відбувається їх розщеплення, і ці протилежні процеси врівноважуються. Вважають, що за дії ультрафіолетового світла *in vivo* виникнення тимінових димерів є найбільш типовою і найбільш розповсюдженою зміною будови ДНК. Підраховано, що кожний такий димер викликає затримку реплікації ДНК на 10-15 сек, і за відсутності репаративних

процесів накопичення згаданих змін могло б привести до дуже серйозних наслідків. Однак, завдяки репарації, ці ушкодження ДНК частково або повністю видаляються і тому можуть розглядатись лише як передмутаційні зміни.

Мутагенний ефект іонізуючих опромінь. В наші дні радіаційна генетика виросла в одну із головних наук сучасності, мета якої – оцінити і захистити спадковість людини від дії іонізуючих опромінь. Для країн, що зазнали лиха від Чорнобильської трагедії, і в першу чергу для України, вирішення проблем радіаційної генетики має першорядне значення.

Існуючі опромінення, як електромагнітні (рентгенівські і гамма-промені), так і корпускулярні (бета-частки, протони, нейтрони, альфа-частки), проходячи через клітину, виривають із зовнішньої оболонки атомів і молекул електрони, які, в свою чергу, продовжують цей процес. Втративши енергію, вільні електрони приєднуються до інших атомів і молекул. Відрив електронів від зовнішньої оболонки атомів (молекул) веде до появи позитивних, а приєднання – до негативних іонів. Вважають, що саме так утворюються вільні активні радикали із елементів води в тканинах, які можуть ушкоджувати інші молекули.

Одиницю дози іонізуючих випромінювань складає *рад*, що відповідає поглинанню 100 ергів енергії одним грамом речовини. В повітрі і в м'яких тканинах організму 1 рад дорівнює 1,07 рентгена. Сьогодні використовується інша одиниця дози опромінення, яка (за ім'ям англійського вченого С. Грея) отримала назву *грей (Гр)*. **Один грей дорівнює 100 рад** – це енергія в 1 джоуль будь-якого іонізуючого випромінювання, яка поглинається масою в 1 кг.

Різні види випромінювань за однакових значень енергії, поглиненої тканинами, виявляють різний генетичний ефект. Якщо прийняти генетичну ефективність гамма-випромінювань за одиницю, то повільні нейтрони ефективніші в 5 разів, α -частки і швидкі нейтрони – в 10, а важкі іони – в 20 разів. Однак для різних організмів, різних тканин і різних типів мутацій генетична ефективність окремих видів випромінювань може бути ще більш відмінною. Так, наприклад, деякі типи мутацій у рослин за дії швидких нейтронів виникають у 100 разів частіше, ніж за гамма-опромінювання.

Генетичні ефекти радіації залежать як від їх прямої дії на компоненти клітини (*теорія мішені*), так і від непрямого впливу на генетичний апарат, опосередкованого згаданими активними радикалами, перекисним окисненням макромолекул та іншими порушеннями обміну речовин.

Частота індукованих проникаючою радіацією генних мутацій пропорційна дозі випромінювання. Криві "доза – ефект" відображують не підсилення ураження із зростанням дози, а збільшення його ймовірності. Навіть найменші дози іонізуючої радіації можуть привести до виникнення мутацій, в тому числі й летальних. Із збільшенням дози (незалежно від часу і способу її надання) зростає лише частота мутацій. Характерним для деяких радіаційних уражень є так званий кисневий ефект: за наявності кисню в клітині радіобіологічний ефект гамма-опромінення (але не α -часток) зростає.

Щодо природи можливих ушкоджень ДНК в умовах дії іонізуючих випромінювань, то ці ушкодження можуть бути дуже різноманітними: розрив водневих зв'язків у подвійній спіралі ДНК, одно- і дво-ланцюгові розриви, зшивки між двома ланцюгами ДНК, між ДНК і білками та ін.

Згідно з **теорією мішені** виникнення генних порушень по типу модифікацій азотистих основ, незначних делецій і поодиноких розривів хромосом є наслідком поодиноких попадань іонізуючих часток, тобто одного акту іонізації певного об'єму мішені. Частота вказаних змін в структурі ДНК лінійно залежить від дози і не залежить від її потужності.

В протилежність генним ушкодженням частота перебудов хромосом, таких як симетричні і асиметричні обміни, кінцеві нехватки, парацентричні і перичентричні інверсії, часто виявляється пропорційною квадрату дози, що свідчить про двоударний механізм ушкодження. Однак аналіз дозової залежності перебудов хромосом в умовах рентгенівського опромінення показав, що пряма залежність їх частоти від квадрату дози спостерігається не завжди. Отримано докази того, що в дійсності виникає суміш перебудов, в основі яких лежать як одноударні, так і двоударні механізми. На відміну від рентгенівських і гамма-променів, нейтрони і альфа-частинки дають щільну іонізацію в межах одного трека і ймовірність виникнення двох розривів у хромосомі внаслідок одного "удару" за цих умов збільшується.

Пошкодження, що виникають в ДНК хромосом внаслідок прямої чи непрямої дії випромінювання, слід розглядати як такі, що потенційно здібні фіксуватись як мутації. Показано, що поява мутацій – це складні молекулярно-генетичні перетворення в хромосомах, які залежать від загального стану метаболізму і можуть бути модифіковані різними зовнішніми умовами (наявність кисню, температурні умови, інші чинники). Поява спадкових змін з цієї точки зору можлива лише через деякий час після перетворення потенційних змін у генні мутації та хромосомні перебудови.

Вважають, що існує два класи потенційних змін, що виникають під впливом іонізуючих випромінювань:

- перший – це мутації, що фіксуються у фазі G1.
- до другого відносяться такі передмутаційні ушкодження, які перетворюються в мутації лише у фазі синтезу ДНК.

Максимальний вихід мутацій із таких ушкоджень спостерігається тоді, коли опромінення проводиться як можна ближче до S-фази клітинного циклу. З подовженням строку між опроміненням і синтезом ДНК більша частина цих потенційних змін зникає і тому вихід мутацій зменшується.

Мутагенний ефект при хімічному мутагенезі. Завдяки дослідженням Й. А. Рапопорта (СРСР) і П.І. Ауербах (Великобританія), було вперше виявлено 100 % мутагенний ефект у окремих хімічних сполук – **супермутагенів**. Сьогодні відомо дев'ять основних класів хімічних сполук, здатних спричинити передмутаційні зміни в ДНК, які можуть згодом фіксуватись як мутації:

1. Алкілюючі сполуки;

2. Перекиси;
3. Альдегіди;
4. Гідроксиламіни;
5. Азотиста кислота і її похідні;
6. Антиметаболіти, в тому числі аналоги азотистих основ;
7. Солі важких металів;
8. Акридинові барвники;
9. Ряд речовин, різних за будовою, – уретан, гідроксиламід, алкалоїди, вільні радикали, деякі лікарські речовини, гербіциди, інсектициди та ін.

За механізмами мутагенної дії всі ці сполуки можна віднести до таких основних груп:

1. Хімічні агенти, що модифікують азотисті основи нуклеїнових кислот;
2. Аналоги азотистих основ, що можуть залучатись до складу полі-нуклеотидів;
3. Речовини-інтеркалятори, що здатні вбудовуватись між двома сусідніми азотистими основами полінуклеотидного ланцюга ДНК;
4. Сполуки з комбінованою мутагенною дією.

Проблема молекулярної специфічності хімічного мутагенезу вирішується не тільки пошуком нових перспективних сполук, але й методами генної інженерії. Сьогодні досліди по спрямованому, локалізованому мутагенезу в основному обмежуються рівнем бактерій і фагів. Синтезують фрагменти ДНК (олігонуклеотиди), комплементарні досліджуваному локусові, але при цьому в структуру синтезованого фрагмента вноситься певна зміна (вставка, делеція, заміна нуклеотиду тощо). Такий синтетичний полінуклеотид може в умовах досліду з'єднуватись з комплементарною ділянкою ДНК фага або бактерії, завдяки чому набуває мутагенної здатності. Використанням синтетичних олігонуклеотидів можна спричинити мутації в будь-якому гені фага M13. О. Б. Василик та інші в 1980 р. цим способом вперше отримали поодинокую нуклеотидну заміну в промоторній області гена кональбуліну.

Більш розповсюдженим підходом у генній інженерії є метод виділення індивідуальних генів і модифікація їх структури (мутагенез *in vitro*) з наступною пересадкою цих генів у біологічні системи.

Для характеристики дії того чи іншого мутагену важливе значення має поняття **порогової дози**. Так називають ту дозу, зменшення якої виключає появу мутацій. Відомо, що у випадку іонізуючих випромінювань порогу дози нема, і мутації появляються за будь-яких незначних доз радіації. За дії хімічних мутагенів у малих дозах вихід мутацій може зменшуватись до нуля за рахунок метаболітної дезактивації, репарації, впливу антимутагенів та ін. Однак для багатьох хімічних сполук, як і для радіації, порогової дози не виявлено. Відсутність або слабкість ефекту від малих доз мутагенів пояснюється не тим, що дана хімічна сполука в малих концентраціях не діє на ДНК, а тим, що пошкоджень у ДНК не дуже багато, і вони повністю усуваються системами репарації.

За вивчення дії малих доз хімічних мутагенів на спадковість Л. Самсоном і Дж. Кернсом встановлено явище так званої **адаптивної відповіді**. Автори показали, що після обробки клітин кишкової палички невеликими концентраціями N-метил-N-нітро-N-нітрозогуанідину у цих клітин виникає певна стійкість до наступної обробки великими дозами цього мутагену. Наявність адаптивної відповіді встановлена для багатьох алкілюючих речовин, таких як N-метил-N-нітрососечовина, метилметансульфонат та інші. Є докази, що зазначена адаптивна реакція клітин полягає в запуску механізмів індукованої репарації, яка заданими П. Джего і співавторів, не має нічого спільного з SOS-репарацією.

Екологія і мутагенез. Чимало хімічних речовин, що сьогодні забруднюють довкілля є відходами промисловості або речовинами, що використовуються в народному господарстві, виявляють **генетичну активність**. Серед цих речовин — диетилсульфат, β -пропіолактон, етиленімін, радіоактивні відходи, пестициди (інсектициди, фунгіциди, гербіциди) та ін. На жаль, мутагенна активність досить часто виявляється і у таких хімічних сполук, з якими людина щоденно зустрічається в побуті, — наприклад, у консервантів і харчових барвників, лікарських препаратів, косметичних засобів і таке інше. Збільшення концентрації мутагенів в навколишньому середовищі сприяє розповсюдженню мутацій серед живих організмів і збільшує генетичний тягар усіх популяцій, включаючи і людину.

Здібність викликати мутації за незначних концентрацій та доз, відсутність порогових доз у іонізуючих випромінювань і деяких хіміопрепаратів, здатність радіоактивних і інших мутагенів накопичуватись у клітинах, — все це значно збільшує загрозу ушкодження генетичних систем, що існують на нашій планеті. Зростання частоти мутацій являє серйозну загрозу збереженню майбутніх поколінь. Досліди показали, що хромосомні перебудови в лейкоцитах крові жителів Хіросими і Нагасакі, японських міст, що перенесли атомне бомбардування у 1945 році, виявляються й досі. Чимало вродливостей і інших генетичних порушень знаходять у потерпілих за Чорнобильської трагедії і їх нащадків. Ці факти свідчать про те, що використання атомної енергії завжди таїть у собі генетичну загрозу, і тому мусить бути не тільки жорсткий контроль технічної безпеки, але й надійний контроль за станом біологічних систем у зоні можливого опромінення чи забруднення радіонуклідами.

Постійний контроль (**моніторинг**) генетичних змін природних популяцій необхідний у зв'язку з загальним погіршенням екологічних умов існування. Однією з причин такого погіршення ряд вчених вважає збільшення впливу на організми довгохвильового (280—320 нм) ультрафіолетового випромінювання або так званого ближнього ультрафіолетового світла, яке випромінюється сонцем, але в нормі затримується озоновим шаром атмосфери. Спостереження показали, що цей озоновий шар може рідшати або зовсім порушуватись як за деяких техногенних впливів, так і за інших не зовсім ще з'ясованих причин. Розвиток нових технологій з використанням джерел

ультрафіолетового випромінювання, ультразвуку, струмів високої частоти електромагнітних полів і т. п. вимагає постійного генетичного контролю з метою профілактики і своєчасного виявлення генетичних наслідків дії цих факторів.

Справжнім екологічним лихом можна вважати забруднення середовища хімічними речовинами, серед яких чимало сполук з мутагенною і канцерогенною дією на живі об'єкти. Хімічному забрудненню докільля сприяють високі темпи хімізації сільського господарства, розвиток хімічної промисловості, великі об'єми сміття та інших відходів повсякденної діяльності людини. Мутагенний ефект може бути наслідком дії на організм самих різноманітних забруднень атмосфери, води і ґрунту, завдяки наявності в них алкілюючих сполук, нітратів та нітритів, органічних сполук ртуті і т. п. Багато хімічних речовин (промутагенів) перетворюються у мутагени в організмах тварин та рослин. Послідовність цих перетворень, виникнення змін на рівні ДНК, виникнення мутацій та можливості їх фенотипового прояву.

Слід зазначити, що мутагенна активність може виявлятися також у деяких агентів біологічного походження — продуктів життєдіяльності мікроорганізмів (антибіотиків і токсинів), чужорідної ДНК, вірусів віспи, корі, грипу, гепатиту та інших, багатьох вакцин тощо.

До класу мутагенів відносяться також деякі ендogenous метаболіти, що іноді виникають спонтанно в багатоклітинних організмах. Відомо, що частина пагонів, які виростають із калюсних тканин, можуть бути поліплоїдними. Вважають, що метаболіти калюсної тканини є чинниками, які викликають геномні мутації. За культивування рослинних клітин *in vitro* часто спостерігаються генні мутації, хромосомні аберації, анеуплоїдія та ін. Ці генетичні порушення лежать в основі так званої **сомаклональної мінливості**, причини якої ще мало з'ясовані.

Оцінюючи біологічні ефекти мутагенів зовнішнього і внутрішнього середовища, слід вважати, що вони діють не тільки зокрема, але й сумісно, і це значно збільшує їх ефективність.

Взаємодію організмів і популяцій з факторами навколишнього середовища, особливо мутагенними, з'ясовує прикладна наука, що виникла на стику досліджень мутаційних процесів, генетики популяцій і екології, — так звана **екологічна генетика**. Складовою частиною цієї науки є генетична **токсикологія**, яка вивчає дію хімічних мутагенів антропогенного походження, розробляє методи і способи оцінки генетичної активності численних ксенобіотиків, тобто чужорідних для організмів сполук, які постійно створюються людиною в інтересах медицини та народного господарства.

Враховуючи велику кількість ксенобіотиків, треба мати прості, надійні і дешеві методи, з допомогою яких можна швидко визначити, які із досліджуваних сполук є мутагенами. Це попереднє "просіювання" хімічних сполук називають **скринінгом**, для якого створені спеціальні **тест-системи**. Кожна із тест-систем являє собою якомога простіший біологічний об'єкт

дослідження, що чуйно реагує на дію мутагену зміною тієї чи іншої фенотипової ознаки (появою генних мутацій, хромосомних і хроматидних перебудов, нерозходженням хромосом у мейозі, зміною частоти реверсій, рекомбінацій тощо). Деякі із тест-систем, що сьогодні використовуються, наведені в табл. .

Скринінг з використанням мікробіологічних тест-систем дуже продуктивний, але виникають деякі утруднення в екстраполяції результатів на вищі організми, включаючи людину. Однак в поєднанні з іншими тест-системами використання мікроорганізмів для скринінгу дуже себе виправдовує. Так, широке застосування знайшла тест-система Б. Еймса, розроблена на основі серії His^- - мутантів *S. typhimurium*, які мають заміни азотистих основ, а також їх вставки і делеції на ділянці гістидинового оперону. Ці ж мутанти мають порушену систему ексцизійної репарації та деякі інші зміни геному, що значно підвищує чутливість об'єкту до мутагенів. Мутагенний ефект фіксується по частоті реверсій $\text{His}^- \rightarrow \text{His}^+$ після висіву His^- -мутантів на живильне середовище без гістидину, але з добавкою того чи іншого потенційного мутагену.

Для виявлення серед досліджуваних ксенобіотиків промутагенів їх наносять на чашку Петрі, засіяну тест-об'єктом, в суміші з ферментами мікросомної фракції клітин печінки мишей, які необхідні для метаболітної активації про мутагену.

Таблиця 1. Деякі тест-системи для швидкої оцінки генетичної активності хімічних сполук (за С. Г. Інге-Вечтомовим).

	Об'єкти	Ефект, що враховується
1.	Бактерії	Реверсії $\text{His}^- \rightarrow \text{His}^+$
	<i>S. typhimurium</i>	Зміна стійкості $\text{Aza}^S \rightarrow \text{Aza}^r$
	<i>E. coli</i>	Індукція профага λ
2.	Гриби	Реверсії ауксотрофних мутантів
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	"Незаконні" злучення $\alpha \times \alpha$
		Мітохондріальні мутації
		Мітотична конверсія, мітотичний кросинговер
		Нерозходження хромосом у мітозі у анеуплоїдів (враховується по рецесивних маркерах)
	<i>Shiz. pombe</i>	Реверсії ауксотрофних мутантів
	<i>Asp. nidulans</i>	Мутації по біосинтезу метионіну
		Мітотичний кросинговер
3.	Вищі рослини	Хромосомні аберації в кінчиках коренів
	Традесканція, боби	
4	<i>D. melanogaster</i>	Соматичні мутації: мозаїчність очей, крил та ін.
		Збільшення частоти домінантних алелів
5	Культура клітин ссавців	Одноланцюгові розриви ДНК
	Гепатоцити щурів та ін.	Індукований синтез ДНК
	Культура клітин HeLa	Цитогенетичні ефекти: хромосомні аберації, обміни сестринських хроматид
	Лімфоцити людини	Генні мутації стійкості

Використовують не тільки мікросоми печінки, але й кров, сечу тварин і людини, екстракти тканин тощо.

Тест-система Б. Еймса в поєднанні з метаболітною активацією промутагенів дає можливість швидко і чітко визначитись щодо мутагенної активності досліджуваної сполуки. Завдяки використанню цієї системи вдалося встановити чітку кореляцію між мутагенною і канцерогенною дією хіміопрепаратів.

Незважаючи на зручність мікробіологічних тест-систем, для заключних однозначних висновків необхідно провести скринінг за повною програмою, тобто з проведенням дослідів на більш складних тест-системах — на багатоклітинних тваринах (дрозофіла, миша) і культурах клітин різного походження, включаючи і людину.

Найкраще відповідає всім вимогам тест-система з використанням культури клітин ссавців, яка дає можливість враховувати хромосомні аберації і частоту обмінів між сестринськими хроматидами. Спостерігати ці обміни можна після включення в ДНК 5-бромдезоксирідину, що є аналогом тимідину. За першого поділу клітини аналог включається лише в один ланцюг обох дочірніх ДНК. Якщо другий поділ клітин здійснюватиметься у відсутність 5-бромдезоксирідину, то в клітинах буде міченою лише одна хроматида із двох сестринських і реципрокні обміни між ними легко виявити. Визначити хроматиди, що містять 5-бромдезоксирідин, можна з допомогою барвників (акридинового оранжевого, азуреозину та ін.) з наступним вивченням флуоресценції хроматид. Після забарвлення акридиновим оранжевим хроматиди, що не містять бром, світяться в зеленому спектрі, а ті, що містять бром, — в червоному. Якщо під дією хіміопрепарату частота обмінів між сестринськими хроматидами зростає, то це свідчить про генетичну активність досліджуваної сполуки. Цей сучасний метод аналізу було запропоновано для культури лімфоцитів периферійної крові людини (А. Ф. Захаров, Н. А. Єголіна, 1972), але може бути використаний для дослідження інших клітин.

В зв'язку з тим, що кількість хімічних сполук, які підлягають скринінгу, невпинно зростає, дуже гостро стоїть питання подальшого пошуку нових чутливих тест-систем, і ця робота ведеться широким фронтом.

Не менш важливе значення має своєчасна оцінка впливу забруднення довкілля мутагенами на стан рослин, тварин і мікроорганізмів. Такий постійний контроль (моніторинг) за зміною генетичної будови природних популяцій інколи дає можливість рано виявити сам факт забруднення і вчасно виправити екологічну ситуацію. Проте найважливіша мета моніторингу разом з комплексом наступних досліджень — визначити суть генетичних порушень у популяції і спрогнозувати їх подальші наслідки. Такі спостереження постійно проводяться в регіонах, що постраждали під час Чорнобильської трагедії. Радіоактивні забруднення прилеглих до АЕС територій спричинили значне збільшення генетичного тягаря популяцій, негативні наслідки якого для людства ще належить визначити.

Питання для самоконтролю:

1. Що таке критичні і оптимальні дози випромінювань і хімічних мутагенів.?
2. Які методи підвищення частоти індукування мутацій ви знаєте?
3. Які особливості росту і розвитку оброблених мутагенами організмів в поколіннях M_1 - M_4 ?
4. Як проводять аналіз частоти і спектру індукованих мутацій?

ПИТАННЯ ДО МОДУЛЬНОГО КОНТРОЛЮ ЗНАТЬ

1. Яке визначення мутаційному процесу надав М.І. Вавилов?
2. Хто є автором теорії мутацій?
3. Який вплив мають мутації на життєздатність та адаптивну здатність клітин і організмів?
4. Назвіть основні принципи та підходи сучасної класифікації мутацій.
5. Які гени називають мутантними?
6. Які мутації називають летальними?
7. Назвіть механізми мутагенної дії фізичних мутагенів.
8. Як визначають дозу опромінювання?
9. Як змінюється чутливість різних рослин до радіації?
10. Які мутації називають генними?
11. Дослідження яких вчених вперше виявили мутагенний ефект у хімічних сполук?
12. Які хімічні речовини застосовують для експериментального отримання мутацій ?
13. Які сполуки відносять до супермутагенів?
14. Зазначте механізми мутагенної дії хімічних мутагенів.
15. Назвіть відомі вам хромосомні перебудови.
16. Які мутації за зміною кількості хромосом в клітині ви знаєте?
17. Які фізичні мутагени застосовують в дослідженнях з експериментального мутагенезу найчастіше?
18. Які фізичні чинники застосовують для експериментального отримання мутацій ?
19. Охарактеризуйте властивості та дію радіоактивних ізотопів.
20. Які прийоми індукування мутацій ви знаєте?
21. Яке практичне використання мають індуковані мутанти?
22. Що таке «хлорофільний мутант»? Як їх отримують?
23. Які завдання селекції можна вирішувати при застосуванні експериментального мутагенезу?
24. Які хімічні мутагени антропогенного походження ви знаєте?
25. Що таке «тест-система Б. Еймса» і як вона працює?
26. Які питання вивчає екологічна генетика?
26. Які хімічні речовини є забруднювачами довкілля?
27. Які організми застосовують як тест-систем при вивченні дії мутагенів?

МОДУЛЬ 2 ДОСЯГНЕННЯ ТА ОСНОВНІ НАПРЯМИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МУТАГЕНЕЗУ, МУТАЦІЙНОЇ ГЕНЕТИКИ ТА СЕЛЕКЦІЇ

Історія розвитку, основні напрями досліджень з генетичного покращання організмів та досягнення експериментального мутагенезу

- перші тлумачення мутаційної мінливості;
- вивчення спонтанної мінливості та її використання в селекції;
- дослідження підсилення мутаційної мінливості рослин мутагенними чинниками;
- розвиток експериментального мутагенезу в Україні;
- сучасний стан досліджень з експериментального мутагенезу в Україні та Світі.

Основні поняття: мутації, мутанти, генетична природа, мутаційна мінливість, мутагени, експериментальний мутагенез.

Перші мутації були описані декілька сотень літ тому назад. Це ланцетоподібні форми чистотілу (*Chelidonium majus*), виявлені в 1590 р. аптекарем із Гейдельберга, "рис імператора", знайдений китайським, імператором Канг-Хі (1662—1723) на рисовому полі. Цей мутант рису відрізнявся високою якістю зерна та особливою скоростиглістю.

Протягом всієї історії розвитку рослинництва та тваринництва природні мутації послужили першоджерелом для поліпшення сортів і порід. Десятки сортів декоративних рослин зобов'язані своєю появою природним мутаціям. Здавна садоводам відомі; брунькові мутації, описані у багатьох випадках ще Дарвіним. Вони широко використані для отримання нових цінних сортів у плодових рослин і citrusових, особливо в США та Японії. В минулому столітті селекціонери Англії на основі спонтанних мутацій створили сорти пшениці, які вирощуються у виробництві. Висока ступінь природної гетерогенності дозволяє селекціонерам виділити серед взятих із природи рослин більш урожайні, пристосовані до сучасної агротехніки, кліматичної та фітопатологічної обстановки. Раптові рідкісні зміни рослин Ч. Дарвін назвав "одичними змінами" або "спортами".

Але вирішальний імпульс вивченню мутацій дав Гуго де Фріз (1901), який першим висловив обґрунтовану ідею про мінливість спадкової речовини шляхом мутацій. Хоча перші тлумачення щодо мутаційної мінливості були викладені російськими вчені І.І. Герасимовим (1890) та С.І. Коржинським (1899).

Оскільки в основі спадкової мінливості рослин лежать мутаційна та комбінативна мінливість, то дуже важливим є правильне розуміння ролі в еволюції та селекції рослин. Визнаючи величезну роль гібридизації, М.І. Вавилов застерігав від думки, яка мала місце у працях голландського ботаніка Лотсі який зводив еволюцію, головним чином, до результатів

гібридизації. Ідея про першорядну роль рекомбінацій в природній еволюції та селекції рослин також розвивалася і в працях О.О. Жученка (1980, 1988).



Рис. 1. Гуго де Фріз (1848-1935 рр.) – творець теорії мутацій



Рис. 2. Л.Н. Делоне (1891-1969) – один із перших дослідників генетичної активності рентгенівських променів на пшениці. Засновник мутаційної селекції рослин.

М.І. Вавилов спростовує висновки Лотсі багаточисельними прикладами та і широким поширенням мутацій. Десятки тисяч точно встановлених вегетативних мутацій у самих різноманітних рослин свідчать про широку розповсюдженість їх поза гібридизацією.

Однотипні рослини та тварини, які є представниками одного виду в роді, виявляють тим не менше величезну мінливість. Ще Ч. Дарвін на прикладі свійських голубів показав велику роль спадкових змін без участі гібридизації.

Дослідження складу видів культурних рослин, пише М.І. Вавилов [8], проведені ним на величезній світовій різноманітності сортів, в тому числі і на ряді однотипних видів, показали домінуючу роль мутаційної мінливості у формуванні видів культурних рослин. Часто можна спостерігати наочно величезну амплітуду мінливості поза будь-якою участю в цьому гібридизації. У межах Азербайджану можна спостерігати всю еволюцію граната та айви, однотипних видів від крайніх дрібних кислих диких форм, що ростуть в

заростях, до гігантських солодких форм, отриманих шляхом добору спадкових мутаційних змін. Ряд фактів щодо поширення природної гібридизації у рослин, цитовані нами вище, заслуговують на увагу, але їх цілковито недостатньо, щоб звести-формоутворення в природі, а тим більше еволюцію, до гібридизації. Величезну роль у розумінні еволюції культурних видів рослин відіграв закон гомологічних рядів у спадковій мінливості та теорія генетичних центрів М.І. Вавилова. Він показав, що в основних центрах походження культурних рослин виникла велика кількість домінантних генів, які убувають від центру до периферії розповсюдження виду, внаслідок чого у вторинних центрах зосереджуються головним чином рецесивні гени. Спостерігається ніби убування домінантів від центрів до периферії розповсюдження. Ми приходимо до висновку, писав М.І. Вавилов, що основні центри формоутворення, осередки різноманітності, що мають першочергове значення для селекції, характеризуються не тільки наявністю великої кількості форм, але і, що не менш важливо, наявністю великої кількості домінуючих ознак. З віддаленням від основних географічних генетичних баз світлішає культурний тип рослин. Європа характеризується переважно білоколосим житом, білоколосою пшеницею, білоколосим ячменем; світлішають також породи тварин. Північний тип неначе є результатом випадання домінантних генів. Пропорційно географічній ізоляції йде накопичення рецесивних форм. Так створюються рецесивні бореальні типи. Рецесивні форми, відокремлені в просторі, відділяючись від домінантних типів і розмножуючись в собі, дали початок масивам рецесивних рас та різновидностей. Природні мутації та гібридизація у вторинних осередках можуть сприяти виявленню нових форм, які часто мають велике практичне значення для селекції. Зимостійкі форми пшениці зосереджені, головним чином, не в первинних областях, а на периферії, біля межі культури у високогірних районах або на півночі; в деяких випадках, це, очевидно, пов'язано з рецесивністю ознаки холодостійкості у ряду сортів, як показали генетичні дослідження. Дуже ймовірно, найбільш цікавими для європейської культури є якраз рецесивні сполучення, рецесивні гени. Отже, відмічає М.І. Вавилов [8], культурний тип — це рецесивний тип, як це можна бачити наочно на рослинах, тваринах та самій людині. Географічні центри різноманіття, ймовірні осередки походження культурних рослин та тварин цікав практично як поклади руди генів домінантних та рецесивних, із яких належить взяти що цікавить селекціонера, залишаючи в стороні найбільш часті домінантні форми, які переважають внаслідок вільного поєднання.

Мутації зіграли величезну роль в еволюції та окультуренні сільськогосподарських рослин. Обстеживши різноманіття корисних рослин у трьох центрах походження культурних рослин (Африканський, Середземноморський, Південноазійський тропічний) дев'яти країн світу під час експедиції 42-го рейсу науково-дослідного судна "Академік Вернадський", було виявлено протікання активного мутаційного процесу. Тому можна припустити, що і в спадковій різноманітності та еволюції рослинних форм у

центрах походження культурних рослин, описаних М.І. Вавиловим, величезну роль зіграли спонтанні мутації, підвищенню частоти та виживанню яких сприяли оптимальні кліматичні фактори.

Різноманіття пшениць, очевидно, обумовлене, з однієї сторони, мутаціями, а з іншої – широким поширенням у минулі часи та в період сьогодення процесів гібридизації. Подвоєння хромосом, мутації та перехресне запилення зразків, отриманих результаті природного та штучного добору, сприяли виникненню багаточисельних сортів та різновидностей цієї культури.

Генним та хромосомним мутаціям належить ще більша роль, особливо у походженні нових різновидностей.

Природні мутації серед пшениць Закавказзя описані багатьма авторами. Виявлені експедицією ВІР природно виниклі у Закавказзі мутанти пшениці свідчать про наявність там активного формотворчого процесу. Про це писав М.І. Вавилов у своїй роботі «Теоретические основы селекции». "Гени нам уявлялись, так само як і генетикам перших десятиліть нашого століття більш стабільними, чим це виявилось згодом. Фактично ми знайшли в осередках величезну кількість генів, навіть більше, чим припускали на початку, в той же час у вторинних районах на периферії та на просторах між периферією і центрами виявлялось новоутворення нових генів, причому часто надзвичайно цінних". Мутанти, виявлені на Закавказзі, виходять за межі ботанічної різновидності, підвиду і навіть виду. Ряд серед них характеризується цінними для селекції ознаками.

Вагомий внесок у розвиток теоретичних основ мутаційної теорії, вивчення спонтанної мінливості та її використання в селекції зробили українські вчені Л.М. Делоне А.О. Сапегін, М.С. Навашин, І.І. Шмальгаузен, В.П. Зосимович. В.І. Дідусь, О.О. Горлач, СМ. Гершензон та інші.

В.П. Зосимовичем була обґрунтована ідея про необхідність пошуку природних однонасінних форм у посівах багатонасінного цукрового буряка. В 1934 році співробітниками ВНІС було ретельно обстежено 22 млн. рослин і виявлено всього 109 рослин з різним ступенем (10 – 90 %) однонасінності. Згодом ця робота привела до створення однонасінного цукрового буряка, а її автори І.Ф. Бузанов, О.К. Коломієць, В.П. Зосимович, О.В. Попов, Г.С. Мокан, М.Г. Бордонос були удостоєні в 1960 році Ленінської премії СРСР.

Яскравим прикладом ефективності використання спонтанних мутацій у селекції є залучення до селекційного процесу генів карликовості. Ці дослідження привели до створення принципово нового типу напівкарликових пшениць з рекордною врожайністю. Напівкарликова пшениця з мутантними генами карликовості займає у світі основні посівні площі і як соціальне явище отримала назву "зеленої революції". Автора цієї ідеї. Нормана Борлауга удостоєно Нобелівської премії.

На сьогодні тисячі створених у світі сортів є наслідком спонтанної мінливості або її поєднання з комбінативною мінливістю. Саме спонтанна

мінливість у переважній більшості випадків забезпечує успіх від внутрішньо лінійний та внутрішньосортових доборів.

Л.М. Делоне вважає, що спонтанний мутаційний процес відіграє надзвичайно важливу роль в процесі як видоутворення, так і сортоутворення і не має ніякого сумніву у тому



Рис. 3. А.О. Сапегін (1883 – 1946) – один із перших дослідників генетичної активності рентгенівських променів на пшениці



Рис. 4. І.І.Шмальгаузен (1884-1963) - видатний дослідник закономірностей спонтанного та індукованого мутагенезу

що поява деякої кількості мутантів може дати початок новим видам або сортам. Це цілком переконує нас, відмічає Л.М. Делоне один із перших необхідності проведення детального вивчення явища; спонтанного мутування, його значення в процесах сортоведення та сорторозмноження.

Активному мутаційному процесові сприяє багато природних та техногенних факторів середовища. Ще Ч. Дарвін вважав, що джерелом невизначених спадкових змін є фактори зовнішнього середовища.

Вивчення географії сортового різноманіття вирощуваних рослин привело до визнання виняткової ролі гірських азіатських, африканських та південноамериканських районів. Вони являються розсадниками сортів і потребують детального спеціального вивчення. Велику кількість природних мутантів у Закавказзі пов'язують з наявністю спеціальних природних умов (вертикальна зональність, контрастний клімат, неоднорідні ґрунти, підвищена інсоляція). Вивчення спонтанної мутаційної мінливості диких видів пшениці

Еребунійського заповідника дало змогу виявити високий рівень хромосомних перебудов в їх репродукції 1984 р. Найбільш висока частота аберацій хромосом виявлена у пшениці Урарту (5,22 %), у егілопса циліндричного (5,73 %). Природними факторами мутаційного процесу є коливання температури дня, ночі та сезону, підвищена природна радіація повітря, сонячна інсоляція та ряд інших.



Рис.5. С.М. Гершензон (1906-1998) – відкрив мутагенну дію нуклеїнових кислот і вірусів.

Рис.6. Норман Борлауг на основі карликових мутантів шляхом мутаційної селекції першим в світі створив новий тип напівкарликової пшениці, автор «зеленої революції».

Шляхом детального проморожування проростків отримують відхилені форми, на основі яких можна створювати нові лінії та сорти. Частота мутацій у природному середовищі може підвищуватись під дією температури, ультрафіолетового світла (253,7 нм), іонізуючої радіації. Сам процес старіння насіння, заданими М.С. Навашина, являється сильним мутагенним фактором.

До категорії найважливіших зовнішніх умов, які формують організм і викликають при тривалому застосуванні "ланцюгову реакцію" мутацій, слід віднести агротехніку. Тільки в умовах тривалої спеціальної агротехніки можна було створювати крупноплідні форми рослин.

Суттєвий внесок у підвищення природної мутабільності рослин робить аварія на Чорнобильській АЕС. Всі названі фактори викликають постійне, спостережуване із року рік, підвищення рівня природного мутування живих

організмів. Тому знання законів природного мутування являють не тільки теоретичний, але і практичний інтерес з метою охорони нашого здоров'я, навколишнього середовища, рослинного і тваринного світу, селекції та насінництва рослин.

Вивчення спонтанної мутаційної мінливості в наш час має величезне значення для визнання еволюції та селекції. Спонтанні мутанти з великим успіхом використовують в селекції рослин. У законах щодо природного мутування закладено глибокі основи для розробки цілеспрямованого поліпшення рослин, тварин та мікроорганізмів. Але частота появи спонтанних мутацій дуже низька для отримання генетично поліпшено-матеріалу, очікуваного від селекції рослин у наш час.

На початку ХІХ століття з відкриттям мутагенної дії рентгенівських променів та хімічних мутагенів була показана реальна можливість значного



Рис.7. ГДж. Мьоллер (1890 – 1967) – відкрив мутагенну дію рентгенівських променів на дрозофілі, засновник радіаційної генетики



Рис.8. Льюїс Дж. Стадлер (1896–1954) – відкрив мутагенну дію рентгенівських променів на рослинах

підсилення мутаційної мінливості рослин. Г.А. Надсон та Г.С. Філіпов у нас (1925 р.) Г. Мьоллер в США (1927 р.) відкрили мутагенну дію рентгенівських променів. У 30-і роки виявлена можливість індукції мутацій за допомогою різних хімічних речовин: водню, оцтової кислоти, аміаку, йоду. Цим роботам передували дослідження І.І. Герасимова, Е. Баура (1916) в яких приведені перші дані про мутагенність хімічних сполук.

І.І. Герасимов експериментально обґрунтував можливість отримання індукованих мутацій у гаплоїдній водорості спірогири, використовуючи для цього хлоралгідрат ефір та інші речовини.

У роботах Г. Мьоллера частота мутацій, індукованих рентгенівськими променями, перевищувала спонтанний рівень більше, ніж в 100 раз. Г. Мьоллеру за короткий час за допомогою рентгенівських променів вдалося створити стільки мутантів, скільки вся школа Моргана зібрала у природі мутантів у плоді мушки дрозофіли, виявлених за 20 років. Це послужило стимулом для проведення подібних досліджень у пшениці та інших рослинах.

Одним із перших за методом Г. Мьоллера в Україні почав працювати Л.М. Делоне. Одночасно з ним рентгенівськими мутаціями у рослин займались в Україні А.О. Сапегін та в США — Л. Стадлер. Л. Стадлеру вдалося отримати у пшениці лише хлорофільні мутанти. В той же час у працях Л.М. Делоне та А.О. Сапегіна, проведених на багатьох сортах м'якої та твердої пшениць, отримано широкий спектр мінливості морфологічних ознак.

Заслугою Л.М. Делоне та А.О. Сапегіна є те, що вони показали широкі можливості іонізуючої радіації в індукуванні спадкових змін у пшениці, залежність їх виходу від дози радіації, а також, що при належному дозуванні рентгенівських променів можна отримати масове мутування.

Як вважають автори, розширення та поглиблення досліджень відносно отримання штучних мутацій у пшениці неминуче приведуть до створення нових цінних форм пшениці.

Отже, є всі підстави стверджувати, що саме українські вчені стояли у першоджерел розвитку ідеї штучного індукування мутацій та їх використання в селекції рослин.

Роботи М.С. Навашина відносно ролі в мутагенезі таких факторів як тривалість збереження насіння, температура, газовий склад та вологість навколишнього середовища, поклали початок новому напрямку в мутаційній селекції рослин, у завдання якого входило вивчити роль фізіологічних факторів у мутаційному процесі.

На ранньому етапі мутаційної селекції Р. Фрейслебен та А. Лейн (1942, 1943) і. Халле (Німеччина) одними з перших використали мутагенез для селекції та розробили методику практичної мутаційної селекції. Друга світова війна не дала можливості завершити їм ці роботи.

У Швеції продовжувались експериментальні роботи з рентгенівськими променями. Були отримані дані відносно оптимальних для мутагенів умов обробки, порівняльного вивчення генетичної активності фізичних та хімічних (ЕІ) мутагенів. У цих фундаментальних дослідженнях були отримані результати, що являли інтерес для мутаційної селекції рослин.

Розквіт "атомного віку", який послідував за Другою світовою війною, викликав величезний інтерес до використання існуючого випромінювання у мирних цілях. Перші 10 років дослідження були спрямовані, головним чином,

на пошук дії радіації, які б сприяли підвищенню частоти та спектру корисних мутацій.



Рис.9. Й.А. Рапопорт (1912 –1990)- відкрив високоактивні хімічні супермутагени, засновник досліджень по хімічному мутагенезу рослин в колишньому СРСР

Рис.10. М.П. Дубінін (1907–1998) – видатний дослідник спонтанного та індукованого мутагенезу

В цей час незалежно один від одного уродженцем України Й.А. Рапопортом і Шарлоттою Ауербах були відкриті високоактивні хімічні мутагени. Й.А. Рапопортом була відкрита ціла серія високоактивних сполук, в тому числі супермутагенів, лише 10 з яких широко використовуються в селекції рослин. До 1950 року дослідження з індукованого мутагенезу стали бурно розвиватись в деяких інших країнах, таких, як США, Італія, Франція, СРСР, Голландія та Японія. Стимулом для їх проведення послужили видатні результати шведських учених в галузі експериментального мутагенезу ячменю. На цей час Густафсоном та іншими авторами була отримана серія практично-цінних мутантів на різних культурах, зокрема на ячмені: з міцною соломинуою, короткостеблові, ранньостиглі, стійкі до вилягання, які дали початок новим сортам.

Інтенсивність експериментальної розробки проблем і методів мутагенезу була пов'язана з роботами академіка М.П. Дубініна, якому належить обґрунтування необхідності подальшого підсилення досліджень з

найважливіших напрямків сучасної генетики, в тому числі експериментального мутагенезу та мутаційної селекції.

Значному розвитку досліджень у галузі експериментального мутагенезу сприяли роботи, які проводились в 1956—1957 рр. у відділі радіаційної генетики Інституту біофізики АН СРСР (Москва) та у знов організованому Інституті цитології і генетики СВ АН СРСР (Новосибірськ).

Відповідно з Постановою Президії АН СРСР при Інституті хімічної фізики АН СРСР в 1965 р. був створений центр по хімічному мутагенезу, завдяки чому стало можливим проведення випробувань мутагенів на великому наборі сільськогосподарських культур.

З 1960 р. все більшу роль у роботах з питань мутаційної селекції почали відігравати країни, які розвивались. В 1969 р. спільне ФАО/ІАЕА відділення (Відень) почало організовувати практичні курси для селекціонерів з питань індукування та використання індукованих мутацій. На цей час уже було відкрито 117 мутантних сортів, які у переважній більшості були побічними продуктами теоретичних досліджень. Тому 1969 р. вважається поворотною точкою, головним чином, від фундаментальних досліджень з мутагенезу до практичної мутаційної селекції, роком становлення мутаційної селекції як інструмента в селекції рослин, не дивлячись на те, що мутаційна селекція використовувалась для генетичного поліпшення рослин починаючи з 40-х років.

Одним з перших способів застосування індукованих мутацій було отримання сорту шляхом розмноження мутанта. Цей спосіб і було названо *мутаційною селекцією*.

Координацію досліджень у колишньому СРСР з питань експериментального мутагенезу при використанні іонізуючих випромінювань виконував Відділ радіаційної генетики і радіобіології Московського відділення ВДНІ рослинництва. По хімічному мутагенезу ці функції взяв на себе Центр по хімічному мутагенезу під керівництвом Й.А. Рапопорта.

Великою заслугою Й.А. Рапопорта та його співробітників організація у співдружності з іншими установами широкої мережі випробувань ефективності ряду хімічних сполук для одержання практично-цінних мутацій у найважливіших сільськогосподарських культур та пропаганда наукової інформації і досягнень галузі хімічного мутагенезу. Розвиненню цих досліджень сприяла діяльність Секції селекції та генетики рослин Об'єднаного відділу Продовольчої та сільськогосподарські організації ООН, Міжнародного агентства з питань використання атомної енергії сільському господарстві (МАГАТЕ), Європейської організації з питань використанні атомної енергії (ЄВРАТОМ), Європейського товариства з питань використання ядерних методів у сільському господарстві (ЄСНА), а також Секції мутагенезу та поліплоїдії; Європейського товариства селекціонерів рослин ЕУКАРПІЯ.

На сьогодні в Україні координаційну діяльність щодо розробки методів та застосуванню індукованого мутагенезу в селекції рослин здійснює відділ

експериментального мутагенезу Інституту фізіології рослин і генетики НАН України під керівництвом академіка НАН України В.В.Моргуна. В країнах СНД дослідження з питань експериментального мутагенезу проводяться в більш, ніж 200 установах, які відносяться до різни міністерств та відомств.

Під егідою МАГАТЕ та ФАО здійснюється координація досліджень з питань експериментального мутагенезу та мутаційної селекції рослин, проводяться симпозіуми, і яких узагальнюються результати досліджень з наступних напрямків: індуковані мутації, спрямовані на підвищення імунітету, вмісту та якості білка; індуковані мутації та прогрес генетики; індуковані мутації та еволюція рослин; індуковані мутації та фізіологія рослин; індуковані мутації та рослинні паразити; індуковані мутації та симбіоз; індуковані мутації та культура *in vitro*; індуковані мутації та геноекологія; індуковані мутації та селекція рослин.

В Україні слідом за піонерськими роботами Л.М. Делоне та А.О. Сапегіна дослідження з питань індукованого мутагенезу традиційно мали пріоритетний характер. Перш за все необхідно відмітити дослідження В.І. Дідуса, М.О. Письменна, О.І. Супруненка. С.С. П'ятницького, І.М. Голубинського, О.М. Луткова, А.К. Лещенко. М.Ф. Терновського та інших, виконаних у довоєнний час. Узагальнення результатів ранніх досліджень можна знайти у книзі В.Л. Рижкова (1930) "Проблема мутацій в сучасній генетиці".

Ці дослідження були перервані війною та антинауковою діяльністю Т.Д. Лисенка. В Україні вони відновились на початку 60-х років у відділі генетики рослин АН УРСР під керівництвом члена-кореспондента АН УРСР В.П. Зосимовича. В 1961 році В.П. Зосимович та його співробітники виконали дослідження з питань індукування мутацій озимого жита та пшениці за допомогою фізичних і хімічних мутагенних чинників У 1967 році ці дослідження суттєво розширено у зв'язку з організацією В.П. Зосимовичем та П.К. Шкварниковим відділу експериментального мутагенезу при Інституті ботаніки ім. М.Г.Холодного НАН України. Згодом на базі генетичних відділів було створено Сектор молекулярної біології і генетики, перетворений з часом в Інститут з тією ж назвою. В 1986 році відділ експериментального мутагенезу разом з іншими генетичними відділами було переведено в Інститут фізіології рослин, який перетворено в Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. З 1967 р. завідував відділом доктор біологічних наук, професор П.К. Шкварников, аз 1974 р. по теперішній час — академік НАН України, проф. В.В.Моргун.

Співробітниками відділу експериментального мутагенезу в співдружності з іншими відділами інституту (Шкварников П.К., Кулік М.І., Моргун В.В., Ларченко К.А., Логвиненко В.Ф., Борейко В.С., Левенко В.О., Чугункова Т.В., Шевцов І.А., Кунах В.А., ЧеченеваТ.М., Труханов В.А., Бондаренко А.М.) почали широкі дослідження з питань теорії та методів експериментального мутагенезу озимих пшениці та жита, ярої пшениці, ячменю, кукурудзи,

цукрових буряків та інших культур, а також в культурі рослинних клітин і тканин.

За ініціативою відділу експериментального мутагенезу розпочато спільні дослідження з Черкаською та Тернопільською дослідними станціями з питань індукованого мутагенезу озимої пшениці, кукурудзи, сої, ячменю, томатів (І.П. Чучмій, О.С. Хроменко, А.О.Усикова, В.В. Мальченко, В.А.Борисенко).

С.М. Гершензоном із співробітниками (Ю.М. Александров, С.С. Малюта, Т.І. Бужінська, І.С. Карпова, К.А. Ларченко) відновлено розпочаті в довоєнні роки дослідження по вивченню генетичної активності нуклеїнових кислот та вірусів. Ними обґрунтовано та експериментально доведено явище мутагенної дії нуклеїнових кислот різної природи і походження на організми різних рівнів організації. З'ясовано найважливіші особливості мутагенезу, викликаного нуклеїновими кислотами. Постульовані та експериментально підтверджені можливі механізми взаємодії екзогенних нуклеїнових кислот з геномами реципієнтних клітин. На основі проведених наукових досліджень отримані нові мутантні форми кукурудзи, обґрунтована необхідність розробки антивірусних вакцин без нуклеїнових кислот, сформульовано загальнобіологічне положення про віруси як фактори біологічної еволюції. Ця вагома робота відзначена в 1998 р. Державною премією України в галузі науки і техніки.

На початку 60-х років активні дослідження з питань експериментального мутагенезу та мутаційної селекції розвернулися у багатьох наукових установах України: Всесоюзному селекційно-генетичному інституті — Ф.Г. Кириченко, В.М. Пильнев, А. Литвиненко, А.П. Орлюк, Г.П.Шведов, А.Х. Стельмах (1968); Українському науко-дослідному інституті землеробства — Ф.Ф. Юхимчук, В.І. Головченко, І.В. Яшовський, Н.Ф. Панченко, Н.В. Солодюк, А.Т. Фартушняк, І.К. Котко, В.Г. Михайлов (1967); Українському науково-дослідному інституті рослинництва, селекції і генетики ім. В.Я. Юр'єва та Харківському с.-г. інституті — В.Т. Манзюк, С.Л. Константинов, М.Р. Козаченко, М.В. Проскурнін та інші (1969); Науково-дослідному інституті землеробства і тваринництва західних районів УРСР — О.С. Алексеєва, Г.М. Гаврилюк, П. Бочкарьова та інші (1963); Полтавському с.-г. інституті — М.М. Чекалін та інші (1977); Немішаєвському науково-дослідному інституті картоплі — В.О. Оверчук, А. Пика та інші (1966); Всесоюзному науково-дослідному інституті цукрових буряків З.О. Болелова, М.П. Петрушина, А.В. Корнієнко та інші (1971); Донецькому державному університеті — Ф.Л. Щепотьєв, С.М. Образцова, Л.А. Цекан, Л.М. Подкоритова, М. Сумська та інші (1966); Центральному республіканському ботанічному саду — М. Антонюк, Н.М. Каплуненко, О.К. Дорошенко, М.П. Яценко та інші (1961); Білоцерківському с.-г. інституті — В.І. Князюк, І.Д. Лішенко, О.І. Кононенко, С.П. Васильківський, М.С. Одинокий та інші (1975); Інституті виноградарства та виноробства ім. В.С. Таїрова та Інституті винограду і вина "Магарач" —М.І. Тулаєва, П.Я. Голодрига і інші (1969).

Пізніше перелік закладів, в яких проводяться різнопланові дослідження з проблем експериментального мутагенезу значно розширився. Це такі заклади як: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України, Нікітський та Донецький ботанічні сади, Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла УААН, Український науково-дослідний інститут садівництва УААН, Інститут зрошувального землеробства УААН, Інститут ефіроолійних культур УААН, Інститут зрошувального садівництва УААН, Державні університети та с.-г. вищі учбові заклади, педагогічні інститути, дослідні селекційні станції УААН та інші заклади.

В дослідженнях по експериментальному мутагенезу використовують доволі широкий набір культурних рослин: зернові, зернобобові, олійні, технічні, овочеві, кормові, плодові, деревні, декоративні, квіткові та інші групи рослин, культура клітин і тканин названих груп рослин, мікроорганізми, комахи та інші.

Чисельність дослідників в Україні, які тим чи іншим чином займалися названою проблемою сягає за 300 осіб. Серед них: Ю.Ю. Глеба, В.С. Гірко, В.В. Губернатор, Л.А. Бурденюк, С.І. Константинов, А.Й. Курінний, Б.П. Мацелюх, В.І. Ніколайчук, В.І. Січкач, В.А. Сідоров, Н.В. Сідорова, С.І. Стрельчук, М.І. Туровцев, В.А. Туровцева, А.П. Орлюк, Є.В. Олексієнко, М.А. Пилінська, А.М. Шевченко та багато інших.

Суттєвий внесок у розвиток індукованого мутагенезу зробили українські вчені, які працюють за межами України – В.К. Шумний, І.В. Чорний та інші.

Бурхливий і вельми плідний етап розвитку досліджень з питань експериментального мутагенезу та мутаційної селекції рослин було призупинено з розпадом Радянського Союзу. Економічний спад, який почався в 1990 році, привів до різкого скорочення наукових досліджень взагалі, в тому числі і з питань експериментального мутагенезу. Хоча в інших країнах ці дослідження продовжували інтенсивно розвиватись.

Питання для самоконтролю:

1. Охарактеризуйте основні напрями досліджень з генетичного покращання організмів.

2. Назвіть відомі Вам роботи Рапопорта Й.А.

3. Які досягнення радянської школи експериментального мутагенезу Ви знаєте?

4. Які досягнення української школи Вам відомі?

Досягнення експериментального мутагенезу, мутаційної генетики та селекції.

- ефективність факторів штучного індукування мутацій;
- залучення індукованих мутантів в селекційний процес;
- досягнення мутаційної генетики та селекції;

Основні поняття: супермутагени, доза, індукування мутацій, тести, спектр і частота мутацій, розширення генетичної мінливості, селекційна цінність, мутаційна селекція.

Дослідження з питань експериментального мутагенезу та мутаційної селекції рослин відносяться до періоду відкриття та вивчення нових хімічних супермутагенів. Головна увага приділялась вивченню генетичної активності мутагенних чинників, способів дії ними на насіння та рослини, вивченню генетичної природи отриманих мутантів, розробці методів використання індукованих мутантів у практичній селекції.

В результаті багаторічних досліджень розроблено методичні питання відносно методів індукування, виділення, вивчення та використання мутацій (вибір вихідного матеріалу, мутагенного чинника, підбір доз, концентрацій та експозицій, способів мутагенної дії, облік, виділення та вивчення мутацій у поколіннях M_1 — M_4 , їх використання в селекції).

На широкому вихідному матеріалі проведено вивчення генетичної активності основних типів іонізуючої радіації, ряду фізичних факторів (імпульсного концентрованого сонячного світла – ІКСС, підвищеної та понаднизької температури), відомих хімічних мутагенів, а також серії супермутагенів, які належать до класів нітрузоалкілсечовин (НАС) та діазокетонів (ДАК), ДНК рослинного і тваринного походження.

Показано, що найбільш надійними тестами на чутливість рослин до дії мутагенів є їх життєздатність на стадії повного дозрівання, висота та продуктивність.

Одним із важливих показників ушкоджувальної дії мутагенів та основних показників генетичної мінливості організмів на клітинному рівні є хромосомні перебудови. Показано, що під впливом іонізуючого випромінювання частота їх по мірі підвищення дози променів неухильно підвищується, наближаючись до 100 % клітин з абераціями, що в кінцевому підсумку може стати причиною зменшення виходу життєздатних мутантів. В інтервалі доз 100–150 Гр гамма- і рентгенівських променів та 5–20 Гр швидких і понадшвидких нейтронів підвищення частоти аберацій відбувається майже у лінійній залежності.

Ефект дії хімічних мутагенів на хромосомні перебудови різний. Дуже сильні змінюють структуру хромосом N-нітрузо-N-метилсечовина (НМС), етиленімін (ЕІ), диметилсульфат (ДМС) та N-нітрузо- N-етиленсечовина (НЕС). Порівняно з ефективністю ДЕС, прийнятою за 1, відносна ефективність названих мутагенів становила 16,3, 9,9 2,3 та 2,1. Ефективність дії етилметансульфонату (ЕМС), 1,4-біс-діазаацетилбутану (ДАБ) та гідроксиламіну (ГА) у всіх дослідах була нижчою, ніж ефективність ДЕС, що являється характерною особливістю даної групи мутагенів. При цьому, як буде показано нижче, вони індукують з високою частотою мутації видимих морфологічних ознак у пшениці та кукурудзи.

На цих культурах показано, що ІКСС, підвищена температура та екзогенні ДНК мають слабку генетичну активність, не викликаючи "різких", депресивних мутацій, тому найбільш доцільно використовувати ці фактори для поліпшення окремих ознак існуючих, особливо цінних сортів. Понаднизькі температури порядку $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ у вивчених нами режимах проявили дуже низьку, ледь уловиму з окремих тестів, генетичну активність, вони можуть бути використані для збереження генетичного матеріалу. Підтверджено виявлену раніше іншими авторами можливість індукції мутацій у кукурудзи за допомогою вірусу штриховатої мозаїки ячменю.

Іонізуючі випромінювання та хімічні мутагени підвищують в 11,0 – 20,9 рази частоту мутацій у кукурудзи та в 2,1 – 180,7 рази в озимій пшениці порівняно із спонтанним рівнем мінливості.

Серед вивчених факторів найбільшу активність в індукуванні видимих мутацій пшениці та кукурудзи виявили супермутагени із класу НАС і ДАК. Досліджувані мутагенні фактори індукували широкий спектр мутацій за самими різноманітними ознаками та властивостями, в тому числі селекційно-цінними. Встановлені багаточисельні приклади отримання специфічних мутацій. Показана суттєва різниця між НАС та ДАК, а також між етил - та метильними групами НАС в індукуванні окремих селекційно цінних мутацій. Згідно отриманих нами результатів хімічні мутагени з етильними групами більш ефективні в індукуванні практично-цінних мутацій у рослин. Так, ДАБ і індукує мутації, які характеризуються могутністю розвитку та зміненям вегетаційним періодом. Виявлено мутагени з високою активністю індукування загальної частоти видимих мутацій, а також мутагени, які дають більший вихід селекційно-цінних форм, це дає змогу проводити більш усвідомлений вибір мутагенів у залежності від селекційних цілей. При цьому необхідно враховувати також роль генотипу. Багаточисельними дослідженнями встановлено, що генотип у більшій мірі визначає характер індукованої мутаційної мінливості, ніж мутагенний чинник. Тому знання вихідного матеріалу, правильний його підбір в значній мірі визначають успіх досліджень.

Багаторічне вивчення частоти і спектру мутацій, індукованих різними мутагенами в широкому діапазоні доз і концентрацій дало можливість визначити оптимальні дози мутагенів при дії на насіння та пилок кукурудзи і пшениці для отримання максимальної загальної частоти та максимальної частоти селекційно-цінних мутацій. Це дозволяє найбільш раціонально поєднувати об'єми досліджуваного матеріалу з практичними результатами. Показано, що для отримання максимальної кількості мутацій дози мутагенів повинні бути в 2—3 рази нижчими за критичні. Для виділення селекційно-цінних мутацій доцільно використовувати ще більш низькі дози.

Встановлено, що низькі дози мутагенних чинників індукують специфічні спектри мікромутацій, не порушуючи генетичної структури вихідного сорту. Стимуляція впливом низьких доз мутагенів захисно-відновлюваних систем рослин приводить до підвищення стійкості їх до стресових умов

навколишнього середовища, що суттєво підвищує ефективність позитивного добору.

Значна частина досліджень була присвячена вивченню генетичної активності факторів навколишнього середовища. На пшениці та кукурудзі широко вивчена мутагенність пестицидів — представників різних груп, які широко використовують у різний час для захисту посівів рослин від бур'янів та шкідників — гербіцидів, фунгіцидів, інсектицидів, гаметоцидів. Спадкові зміни, які виникають під дією таких речовин, можуть мати далеку післядію порушення природних агро- та біоценозів, еволюційній зміні флори і фауни. Важливість такої перевірки пов'язана також із захистом генофондів живих організмів у зв'язку із спільністю мутагенних і канцерогенних властивостей багатьох хімічних речовин. На жаль, навіть у високорозвинених країнах, наприклад в США, щорічно проводять дослідження всього лиш половини пестицидів, які застосовуються в наш час.

У роботах українських вчених показано, що більшість вивчених пестицидів суттєво підвищують частоту хромосомних та видимих мутацій і являються генетично активними. Але особливу небезпеку для рослин являють банвел-Д, трефлан, лінурон та інші, особливі ртутьорганічні препарати. Ці та інші препарати, які мають мутагенну активність, повинні бути виключені із використання у сільськогосподарській практиці.

Вагомий внесок у зміну рівня природної мутаційної мінливості живих організмів вносить штучна радіоактивність, пов'язана з ядерними вибухами та радіаційними аваріями. Із більш, ніж 100 радіаційних аварій найбільш великою за масштабами забруднень біосфери радіонуклідами є аварія на Чорнобильській АЕС (26 квітня 1986 р.) Загальна площа забрудненої території (без зони відчуження) складає 41 тис. км².

Радіоактивні забруднення зареєстровано в 11 областях, 74 адміністративних районах України і охоплюють повністю або ж частково Київську, Житомирську, Чернігівську, Рівненську, Волинську, Вінницьку, Івано-Франківську, Сумську, Тернопільську, Черкаську та Чернівецьку області.

Підсиленню негативного впливу екологічної ситуації, що склалася, сприяє на явність у ґрунті важких металів, пестицидів, нітратів та інших хімічних сполук. В зв'язку з цим виникає необхідність проведення ретельних досліджень по вивченню генетичної післядії аварії на Чорнобильській АЕС на рівні клітин і організму в цілому; представників рослин, тварин, людини та інших організмів.

Нами виконані унікальні дослідження стосовно генетичної загрози аварії на Чорнобильській АЕС. З цієї метою ми з 1986 р. вивчали 14 тисяч сімей сортів озимої пшениці, вивезених у рік аварії (1986) з районів, які прилягають до ЧАЕС і постраждали внаслідок аварії.

В результаті вивчення процесів протікання мітозу в меристемі первинних коренів та аналізу мутаційної мінливості видимих ознак рослин M_1 - M_9 встановлено підвищення частоти хромосомних аберацій порівняно із

спонтанним рівнем 2,7–32,3 рази та частоти видимих мутацій в 2,7–8,7 рази. Спектр мутацій включав 27 типів. Характерним для нього була поява з високою частотою мутацій, по в'язаних з генами карликовості (0,2—1,3 %).

Через 9 років частота хромосомних аберацій у мейозі озимої пшениці двох сортів вирощених в зоні відчуження внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, була підвищеною в 2,5 – 6,4 рази, а частота видимих мутацій — в 2,6 – 13 разів.

В зоні Чорнобильської АЕС, через 13 років після аварії, спостерігається зниження рівня генетичної післядії радіонуклідних забруднень, але він продовжує бути ще досить високим, що являє собою генетичну загрозу для живих організмів. Підвищений 4,4 рази рівень мутаційної мінливості виявлено на території Запорізької атомної електростанції. Отримані нами протягом тривалого часу з моменту аварії на ЧАЕС дані свідчать про порушення хромосом з високою частотою і багаточисельні видимі мутації кількісних та якісних ознак доміантного та рецесивного характеру. Це дозволяє стверджувати, що радіонуклідні забруднення є одним із факторів навколишнього середовища, який підвищує спонтанний рівень мутаційної мінливості і в зв'язку з цим являє серйозну загрозу для живих організмів на значних територіях, що викликає необхідність генетичного обстеження діючих в Україні атомних електростанцій і введення Державної служби генетичного контролю за їх впливом на довкілля.

Мутації за кількісними ознаками відносно елементів продуктивності, строків дозрівання, стійкості до стресових умов середовища свідчать про те, що радіонуклідні забруднення можуть бути причиною втрати типовості сортів, продуктивності, і стійкості до хвороб та шкідників.

Значні зусилля співробітників відділу експериментального мутагенезу Інституту фізіології рослин та генетики рослин (м. Київ) були направлені на розробку методів підвищення виходу мутацій, в тому числі корисних. З метою розширення спектра корисних мутацій розроблені ефективні методи мутагенної дії, показана доцільність поєднання комбінативної та мутаційної мінливості для підсилення ефективності добору корисних мутацій, вставлені специфіка мутагенної дії окремих класів мутагенів, а також специфічна реакція генотипів на мутагенну дію. Розкриття цих закономірностей відкриває шлях до управління мутаційною мінливістю і створює основу для розробки мутаційних програм залежно від завдань селекції.

Встановлено, що повторна та комбінована дія мутагенними чинниками, а також дія на рослини у різні етапи онтогенетичного розвитку сприяє суттєвому підвищенню частоти та розширенню спектра мутацій. Найкращі результати отримано при поєднанні мутагенів з високою генетичною активністю, які розрізняються між собою; за природою, так і за спектром індукованих ними аберацій хромосом та видимих, мутацій. З використанням цих методів отримано значно більше різноманітних мутантів, у тому числі практично-цінних порівняно з однократною дією мутагенів на сухе насіння. З обробкою

гібридного матеріалу в наступних поколіннях підвищувалось (у 3–5 разів) частота позитивних трансгресій порівняно с контролем, – у випадках звичайного розщеплення. Ефективною є дія хімічними мутагенами на замочене насіння в період вступу меристемних клітин у стадію синтезу ДНК. При цьому число мутацій збільшилось в 1,4–4,7 рази.

Розроблено ефективні методи мутагенної дії на пилок у різні етапи органогенезу, забезпечили підвищення частоти та розширення спектра мутацій у пшениці і кукурудзи. Для досягнення максимального ефекту при гамма-опроміненні озимої пшениці рекомендується використовувати фазу спілого пилку, спілого пилку та яйцеклітин фаза квітучих колосів), а при дії хімічних мутагенів — фазу глобулярного зародка 2 год після запліднення) шляхом замочування колосів у розчинах мутагенів або обробці у газовій фазі. Для кукурудзи ефективною є обробка мутагенами спілого пилку.

Встановлено, що опромінений критичними та летальними дозами гамма-променів пилок має також мутагенну активність. Метод дії мутагенними чинниками на пилок рекомендовано для використання у мутаційній селекції як більш ефективний порівняно з методом дії на насіння. При цьому використання пилку, як об'єкта мутаційної дії приводить до ранньої гомозиготизації, прискореного отримання константних форм, сприяє прискоренню селекційного процесу завдяки появі мутацій уже в M_1 .

Індукований мутагенез з великим успіхом використовується для вирішення специфічних проблем селекції, які неможливо вирішити іншими методами, наприклад для інтрогресії ознак одного виду іншим, стабілізації поліплоїдів, створення химерних форм рослин, подолання від'ємних корелятивних зв'язків між ознаками, отримання зміни одного гена або невеликої кількості генів з метою швидкого отримання гомозиготних форм, зміни необхідних генів без погіршення стану інших, як це буває у випадку схрещувань з примітивними формами. Шляхом індукованого мутагенезу можна навіть досягти сумісності видів за кількома ознаками з більшою легкістю, ніж при схрещуванні. Здатність переважної більшості мутагенів підвищувати частоту кросинговеру можна використовувати для отримання рідкісних рекомбінантів.

Значне місце у роботах відділу займають дослідження з розробок ідей генетичної інженерії, біотехнології, фізіологічної генетики, вивчення нових можливостей застосування методу експериментального мутагенезу для вирішення специфічних завдань селекції. Вперше на рослинах зроблена всебічна оцінка генетичної активності нативних та модифікованих екзогенних ДНК, за допомогою них здійснено багатовекторний перенос ряду генів кукурудзи від донора до реципієнта за типом генетичної трансформації, розроблена технологія отримання індукованих мутантів в культурі клітин та тканин. Встановлено, що використання фізичних та хімічних мутагенів в культурі тканин недозрілих зародків озимої пшениці значно (в 1,6–4,8 рази)

підвищує частоту мутаційної мінливості рослин-регенерантів порівняно з рівнем соматональної мінливості.

Застосування біотехнологічних методів в селекції рослин надає нові можливості виведенні великої кількості мутантів за допомогою мутаційних методик: мутагенезу в культурі клітин і тканин, селекції в культурі клітин і тканин та гаплоїдії. Мутагенез *in vitro* збільшить специфічність мутаційного процесу, селекція *in vitro* та гаплоїдія полишать мутаційну ідентифікацію (визначення, з'ясування, уточнення, виявлення) можливості самої селекції.

Ці методи відкривають як нові можливості експериментального мутагенезу, та нові запаси генів, які зберігались у геномі рослин.

Культура *in vitro* відіграє все більшу роль у мутаційній селекції рослин. Переваги полягають не лише в тому, що мутагенними чинниками можна діяти на окремі частини чи клітини рослин, але й успішно вести скринінг біохімічних мутагенів та мутант за ознаками стійкості рослин до хвороб та стресів навколишнього середовища.

Завдяки культурі *in vitro* отримані мутанти, стійкі до засолення у пшениці та рису стійкі до кореневої гнилі у ярої пшениці (Китай), стійкі до червоної гнилі у цукрового тростини (Індія).

З використанням як об'єкта вектора гамма-убитого пилку нами здійснено перенос генетичної інформації від донора до реципієнта. Передача спадкової інформації відбивається шляхом можливого включення окремих фрагментів ДНК пилку, зруйновані гамма-променями, у проростаючи пилкові трубки, а потім в зиготу у процесі запліднення по типу "трансформації яйцеклітини".

Відкрито нове явище, назване "імітацією гібридизації", яке полягає в тому, що використання в гібридизації кукурудзи та пшениці опроміненого напівлетальними дозами гамма-променів життєздатного пилку змінює проявлення у гібридів F_1 ознак батьківських форм внаслідок мутаційних втрат батьківських алелів. Спостережувана «імітація гібридизації» відіграє важливу роль у видоутворенні, еволюції і може застосовуватись для прискореного створення нових форм.

Ю.Ю. Глебою із співробітниками розроблено оригінальну методику отримання соматичних гібридів з використанням гамма-опромінення.

Розроблені методи злиття протопластів у роду *Medicago* із застосуванням інактивації одного з партнерів за допомогою гамма-опромінення високими дозами. Отримані результати щодо асиметричної соматичної гібридизації між видами роду *Medicago* відкривають нові можливості в селекції люцерни, дозволяють отримувати новий вихідний генетичний матеріал з корисними генами, перенесеними із родів та видів, у яких звичайні схрещування є обмеженими або ж зовсім неможливими.

У співдружності учених вивчена можливість використання ДНК як вектора для введення чужерідних генів. За допомогою високошвидкісної механічної ін'єкції ДНК плазмід рGA471 та рGA472, які містять ДНК Ті-

плазмиди і ген стійкості до канаміцину, в озимій пшениці отримані рослини-трансформанти стійкі до канаміцину.

Питання для самоконтролю:

1. Охарактеризуйте сучасний стан досліджень з експериментального мутагенезу.
2. Який вплив мала аварія на Чорнобильській АЕС на частоту хромосомних аберацій культурних рослин?
3. Які сучасні методи відкривають як нові можливості для експериментального мутагенезу?
4. Яким питанням надавали основну увагу дослідники при роботі з мутагенами?

Експериментальний мутагенез та мутаційна селекція різних груп культурних рослин

- резерви генетичної мінливості культурних видів;
- мутаційна селекція різних груп культурних рослин;
- мутагенез в селекції дерев лісових видів;
- проведення досліджень з мутагенезу з видами лісових дерев.

Основні поняття: генетична мінливість; мутагенний чинник, мутація, добір, мутаційна селекція, мутантний сорт.

Багаторічні дослідження дозволили отримати велику різноманітність мутантів тим самим розкрити нові резерви генетичної мінливості культурних видів, зрозуміти роль мутацій в їх еволюції. Створені генетичні колекції мутантів має науковий та практичний інтерес для розвитку генетики окремих культур та селекції рослин, фізіології та біохімії, досліджень з питань генетичної інженерії. Проведена локалізація генів. Більша частина мутантів за якісними ознаками є рецесивними моногенними, алельними відомим спонтанним мутаціям. Окремі мутанти є оригінальними, описані нами вперше. На зубовидному та кремнистому підвидах кукурудзи отримано нові мутантні підвиди — цукровий та восковидний і навпаки, що свідчить про можливість розширення генофонду кожного із указаних підвидів і підтверджує їх мутаційне походження. Індуковані мутанти часто мають не одну, а кілька змінених ознак. Плейотропна дія мутантних генів не може бути єдиною причиною, яка пояснювала б спостережувану мінливість за кількома ознаками у мутантів. У більшості вивчених нами випадків ця мінливість обумовлена одночасним мутуванням різних генів, розміщених як в одній, так і в різних групах зчеплення.

Генетичним аналізом доказана можливість отримання мутацій влюбій із 10 хромосом кукурудзи і навіть двох мутацій одночасно в одній хромосомі. Отримані мутанти, які відрізняються від вихідних форм однією мутантною ознакою і є по суті їх аналогами. Це дозволяє отримувати аналоги за окремими

генами не шляхом насичувальних схрещувань, а шляхом індукування мутацій відповідних генів. Ці дані дозволили обґрунтувати гіпотезу мутування комплексами блоків генів, створених в ході еволюції розвитку видів. З позиції цієї гіпотези стає можливим пояснення факту отримання цілого ряду мутантних сортів з комплексом змінених ознак. Показана ефективність використання різних мутагенних чинників з метою отримання практично-цінних мутантних ліній. Дія мутагенними факторами значно розширила спадкову мінливість кількісних ознак мутантів, які визначають продуктивність, кількість білка, клейковини та їх якість. Збільшення частки спадкової мінливості окремих елементів продуктивності сприяло значному (в 6,99-10,76 рази) збільшенню генотипової варіанси ознаки «врожай зерна», підвищенню коефіцієнта наслідування. На гібридному матеріалі за окремими ознаками продуктивності виділені трансгресивні форми. Ступінь позитивної трансгресії та її частота у випадку дії мутагенними чинниками була в 2,9-5,7 рази вищою, ніж у контрольному варіанті, без обробки мутагенами. На лінійному матеріалі отримано більш продуктивні мутантні лінії, ніж їх вихідні форми.

Співробітниками відділу експериментального мутагенезу Інституту фізіології рослин та генетики рослин (м. Київ) виконані широкі дослідження по розробці методів практичного використання індукованих мутантів, а також безпосередня селекційна робота з мутантами озимої пшениці та кукурудзи.

Цикл наукових досліджень "Разработка методов экспериментального получения и оптического использования индуцированных мутаций у растений", авторами якого були В.В. Моргун, П.К. Шкварников, В.С. Борейко, відмічено в 1982 р. Державною премією УРСР у галузі науки і техніки.

Співробітники відділу експериментального мутагенезу, працюючи у складі творчого об'єднання селекціонерів "Север" (ТОСС), зробили вагомий внесок у розробку нових принципів мутаційної селекції кукурудзи, організації селекційного процесу, обґрунтованих та апробованих "Север", які сприяли інтенсифікації селекційних робіт у нашій країні та дозволили скоротити строки створення нових гібридів, організацію робіт по створенню матеріальної бази насінництва та впровадження ранньостиглих гібридів у виробництво.

Цикл багаторічних наукових досліджень "Разработка методов, создание и внедрение раннеспелых гибридов кукурузы творческим объединением селекционеров "Север", відмічено в 1986 р. Державною премією СРСР у галузі науки і техніки.

Для вирішення багатьох питань з експериментального мутагенезу на основі багаторічного досвіду у нас вироблені певні методичні підходи, які сприяють проведенню успішної селекційної роботи. Серед методів практичного використання мутантів необхідно підкреслити особливе значення методу прямого добору для поліпшення за окремими ознаками широко вирощуваних сортів. У зв'язку з обмеженістю джерел к плазми цей метод у застосуванні до господарсько-цінних джерел не втрачає своєї значимості, а навпаки набуває

нового значення. Ми вважаємо, що для покращання окремих ознак сортів пшениці, інбредних ліній кукурудзи та інших культур він є незамінним. Серед районованих у світі сортів більш, ніж 80 % отримано саме цим методом. На багатьох культурах показана ефективність методу прямого добору мутантів як промислово-цінних сортів.

Методом прямого добору з використанням хімічного мутагенезу нами створено вперше у колишньому СРСР, сорт озимої пшениці Киянка, а також цінні мутантні лінії кукурудзи (ЧК218, ЧК208, ЧК209, ЧК3, ЧК2, ЧК74 та інші), які ввійшли у родоводи перших мутантних гібридів, 18 мутантних ліній передано у ВІР. Методом прямого добору отримані також мутантні сорти озимої пшениці Київська 7, Ятрань 60, тритикале Київське раннє. При дії мутагенними чинниками на насіння гібридів F_1 з наступним прямим добром мутантних рослин створено мутантні сорти озимої пшениці Київська 8 та сорт озимого жита Богуславка. Всі цінні лінії та сорти, отримані цим методом відносяться до категорії макромутантів. Тому з селекційної точки зору, вони мають не заперечно більше значення, ніж мікрмутанти.

Все більше розширюється використання індукованих мутацій в гібридизації. Серед методів, які використовуються, на нашу думку, найбільше значення мають наступні: отримання гетерозисних гібридів; передача мутантних генів шляхом насичувальних та інших типів схрещувань з метою поліпшення сортів за окремими ознаками та властивостями; отримання гібридних популяцій і селекція на їх основі ліній і сортів.

Кількісний аналіз комбінаційної здатності мутантних ліній свідчить про ефективність мутагенів в індукуванні мутацій генів, які проявляють адитивний ефект, не адитивну дію, понаддомінування або епістаз. Використання в гібридизації мутантних ліній з високою комбінаційною здатністю підвищує на 16,9–34,3 % рівень гетерозису гібридів кукурудзи. Частота мутантних ліній (M_3 – M_6), які забезпечили підвищення зернової продуктивності гібридів, становить 4,1–5,9%.

Для прискорення селекційного процесу розроблено ефективні методи виділення мутацій з високою комбінаційною здатністю і поліпшення на їх основі існуючих гібридів кукурудзи. Показана можливість прискореного отримання високоврожайних модифікованих гібридів в результаті використання сестринських мутантних ліній.

Високий гетерозис при схрещуванні мутантних ліній між собою, сестринських схрещуваннях, схрещуванні мутантних ліній з вихідним сортом показано у таких культур і кукурудза, арабідопсис, ячмінь, земляний горіх, буркун, петунія, просо, кунжут, солодка, конюшина, томати. Високий гетерозис часто забезпечують при схрещуванні навіть мутанти з низькими показниками господарсько-біологічних ознак.

За участю мутантних ліній вперше у світі були створені гібрид кукурудзи Ювілейний 60 та багато інших гібридів (Колективний 101 ТВ, Колективний 244МВ, Колективний 21ОАТВ, Колективний 100СВ, ЧК3 18МВ, Колективний

95М, ЧКГ 280М, ЧКГ 270МВ, Юпітер, Нептун СВ, Титан 220 СВ, Тясьмин). гібриди нової культури Маїссинте – МС 250МВ, МС 300 МВ. Колективні гібриди кукурудзи, отримані звичайними методами або на основі мутантів, поклали початок переходу до використання у виробництві ранньостиглих гібридів ефекту міжлінійного гетерозису. У колишньому СРСР з 1985 р. вони займали понад 1,2 млн. га, а з 1987 по 1991 рр. їх посівні площі становили 5–6 млн га.

Великого значення надають використанню індукованих мутацій у гібридизації з метою наступного добору із гібридного матеріалу практично цінних ліній та сортів озимої пшениці. Цим методом отримані сорти озимої пшениці Лютесценс 7, Овруч, Київська остиста, Циганка.

Новим видатним успіхом мутаційної селекції в усьому світі є використання в гібридизації спонтанних, а згодом і індукованих генів напівкарликової висоти. Найбільшого успіху у цьому напрямку досягли мексиканські селекціонери під керівництвом Нормана Борлауга. Висока продуктивність та широка пристосованість напівкарликових сортів пшениці відкрили нові, до цього часу невідомі можливості підвищення урожайності ярої та озимої пшениць.

Шляхом використання в гібридизації спонтанних та індукованих мутантів з генами карликовості було створено, по суті, новий тип напівкарликової пшениці з реальною врожайністю 90–100 ц/га. Напівкарликові сорти озимої пшениці сприяють не тільки збільшенню валових зборів зерна пшениці, але й удосконаленню технології її вирощування.

Багаторічний (22 роки) цикл наукових досліджень колективу вчених "Розробка генетичних основ, методів створення нових напівкарликових сортів озимої м'якої пшениці та їх впровадження у виробництво" удостоєний в 1997 р. Державної премії України в галузі науки і техніки. Автори циклу: Єльников М.І., Єриняк М.І., Животков Л.О., Котко І.К., Литвиненко М.А., Лифенко С.П., Логвиненко В.Ф., Моргун В.В., Орлюк А.П., Шелепов В.В. здійснили на ділі "зелену революцію" в Україні.

В селекції пшениці для умов Полісся та Лісостепу України нами вироблено конкретні методичні підходи по підбору пар батьківських форм, схемах схрещувань, особливостях добору в гібридних популяціях.

Багаторічний досвід досліджень свідчить про те, що геніальність і талант селекціонера складається в умінні не тільки створювати гібридну комбінацію, але й повторно у величезному океані рослин відшукати цю перлину – сорт, який годує, лікує, одягає народ та підтримує авторитет політиків.

Активні дослідження з питань експериментального мутагенезу рослин у світі дозволили створити багатий генетичний матеріал. Більш ніж 31000 мутантів 130 видів рослин підтримується 188 установами різних країн світу. Серед них 1100 *Triticum spp.*, 8400 *Oriza sativa*, 4500 *Hordeum vulgare*, 3250 *Glycine max*. Лише окремі з них вивчені фізіологічно. Разом з тим вони є цінним

матеріалом для вивчення питань харчування та обміну речовин рослин, стійкості до абіотичних факторів навколишнього середовища.

В Інституті селекції та акліматизації рослин (Польща) створено банк даних, який містить інформацію про всі мутанти, отримані науковими закладами світу.

Величезних успіхів у пізнанні еволюції та механізмів генетичної та практичної селекції можна досягнути на модельних об'єктах. Так, у Німеччині в Інституті селекції рослин ім. Макса Планка в Кьольні створено букет петунії — колекція, яка нараховує 37 тисяч мутантів цієї культури.

Велику небезпеку викликає проблема звуження генетичної плазми у зв'язку з вирощуванням на великих площах однорідних та подібних за рядом ознак сортів, які часто мають близький ступінь стійкості до шкідників та хвороб. Швидкі темпи росту населення спричиняють збільшення площ орних земель з одночасним знищенням нативних рослин. Все засівається високовідселектованими суперсортами, які, на жаль, мають вузьку генетичну базу. Спостерігається процес вимивання вітчизняних генетичних ресурсів. Генетична мінливість злаків не може бути зниженою, оскільки саме вона забезпечує ріст потенціалу урожайності.

Ще Чарльз Дарвін в 1868 р. мудро писав, що могутність селекції, яка проводиться людиною чи відбувається в природі в результаті боротьби за існування, залежить від мінливості живих істот. Селекція стає безсилою, якщо наближається до вичерпання природного запасу спадкової мінливості. З іншої сторони, важко припустити, що в природних колекціях рослин є необхідні генетичні джерела для нашого сьогодення та майбутнього, запити якого важко передбачити на ближнє двадцятиліття. У цьому відношенні експериментальний мутагенез є ефективним джерелом нових генів, які навіть не виявлені в природі.

Створення мутантних сортів, відмічає Й.А. Рапопорт, базується на великій частоті нових корисних мутацій, які мобілізують ознаки, недосяжні іншим методам селекції.

Створення нових генів методом експериментального мутагенезу може відбуватись, головним чином, на основі зміни дуплікованих старих генів. Індукування або (абсолютно нових мутацій, невідомих в природі, свідчить про творчий потенціал мутагенезу. За допомогою експериментального мутагенезу можна примусити "працювати ще приховану частину спектра мутацій, отримуючи стабільний генний стан з новими властивостями.

В багатьох країнах світу (Китай, Індія, СНД, Нідерланди, Японія, США, Німеччина, Франція, Італія, Чехія, Словаччина, Великобританія, Польща, Болгарія. Швеція і інші) реалізуються програми щодо використання експериментального мутагенезу селекції рослин (таблиця 1).

В країнах СНД до 1991 року методом хімічного мутагенезу було створено 383 мутантні сорти основних сільськогосподарських культур, з них 216 районовані. Серед районованих культур – 6 сортів пшениці, 14 сортів ячменю, 8 гібридів кукурудзи, 14 сортів круп'яних культур, 8 сортів зернобобових, 28 —

кормових, 11 технічних, 4 сорти овочевих, 1 сорт лікарських та 1 сорт ягідних культур. При цьому за 3 роки частка мутантних сортів від загальної кількості районуваних сортів становила: озимих пшениць — 25 %, озимих та ярих ячменів — 12 %, круп'яних культур — 23 %, зернобобових — 14 %, кормових — %, технічних культур — 15% та овочевих — 4 %.

Дослідження з питань індукованого мутагенезу у рослин широко проводяться в Китаї, починаючи з 50-х років, з моменту організації Інституту атомної енергії. На сьогодні генетичне поліпшення рослин за допомогою мутацій стало найбільш розвинутою галуззю науки Китаю. Селекція в Китаї наближається до межі вичерпання генетичного потенціалу, тому науковці цієї країни вважають актуальним сконцентрувати увагу на індукованих мутаціях. З цією метою започатковано дві великі національні програми. Особлива увага надається пошуку високоефективних мутагенних чинників, способів мутагенної обробки, методів скринінгу мутацій, методів використання мутацій в селекції рослин.

Для скринінгу мутацій за ознаками стійкості рослин до хвороб та стресів залучається культура *in vitro* та ізоферментна техніка.

Таблиця 2. Ефективність мутаційної селекції культурних рослин по країнах.

Країна	Кількість районуваних мутантних сортів	Країна	Кількість районуваних мутантних сортів
Китай	345	Бразилія	7
Індія	246	Україна	57
СНД	204	Австралія	6
Нідерланди	176	Естонія	5
Японія	115	Угорщина	5
США	92	Мньяма	5
Колишня ФРН	71	Єгипет	4
Колишня НДР	67	Філіппіни	4
Франція	42	Таїланд	4
Італія	35	Росія	4
Чехословаччина	34	Аргентина	3
Великобританія	33	Буркіна Фасо	3
Польща	29	Коста Рика	3
Болгарія	28	Шрі-Ланка	3
Кот д'Івуар	26	Нігерія	3
Швеція	26	Туреччина	2
Гвіана	24	Греція	2
Канада	23	Кенія	2

Ірак	23	Норвегія	2
В'єтнам	22	Сенегал	2
Бельгія	22	Чилі	2
Данія	22	Португалія	1
Австрія	21	Югославія	1
Пакистан	18	Швейцарія	1
Бангладеш	12	Чехія	1
Фінляндія	11	Словаччина	1
Індонезія	10	Німеччина	1
Корея	8	Перу	1
Всього			1920

Селекціонерами Китаю визнано як ефективні методи одержання мутацій — обробка мутагенами насіння гібридів, за допомогою якої отримано приблизно 1/4 всіх мутантних сортів, та метод опромінення гамет і зигот при температурі — 190 °С. На їх думку, обробка насіння гібридів мутагенними чинниками підвищує частоту мутацій і рекомбінацій, розширює спектр мутацій. Значну увагу вони приділяють комбінованій дії мутагенних чинників, саме цим методом отримані мутанти з цінними, оригінальними ознаками.

За період 1966—1993 років досягнуто значних практичних результатів — створено та впроваджено у виробництво 345 мутантних сортів по 31 виду рослин, значна кількість яких припадає на такі важливі культури як рис, пшениця, соя та кукурудза.

Нові мутантні сорти мають наступні поліпшені ознаки: висока продуктивність, ранньостиглість, високий вміст білка та олії, стійкість до хвороб і шкідників, засолення та інших стресових факторів середовища, висока екологічна пластичність. За етапні 10 років до мутаційного поліпшення залучено понад 75 видів рослин.

На сьогодні тисячі мутантів з цінними ознаками включені у селекційний процес, іони є вагомим інструментом генетичного поліпшення сільськогосподарських культур.

Посівні площі, зайняті мутантними сортами в Китаї, сягають за 20 млн. га.

Нові сорти, отримані методом мутагенезу, збільшили виробництво зерна з 3,7 до 6,0 млн. тонн, від 150,0 до 200,0 млн. тонн бавовнику, від 50,0 до 75,0 тонн олійних культур у рік і стали вагомим внеском у національну економіку Китаю та міжнародну торгівлю. Селекція рослин, в тому числі і мутаційна, у великій мірі обумовлюють те, що Китай годує 22 % населення світу, обробляючи лише 7 % орної землі.

Перші роботи по експериментальному мутагенезу в Індії були розпочаті в 1930 р. З тих пір створено понад 246 сортів. У Японії за останні 50 років методом індукованого мутагенезу створено 115 сортів з 23 вирощуваних

культур. Фізичні та хімічні мутагени використовуються для індукції мутацій стійкості до хвороб у пшениці в Канаді.

У Грузії створена велика колекція індукованих мутантів субтропічних культур, яка нараховує понад 562 мутанти чаю, 218 мутантів цитрусових, 23 мутанти тунгових та 2 мутантів лавра благородного.

Активна робота по мутаційній селекції рослин проводиться в Нідерландах, США, Німеччині, Франції та інших країнах. В Болгарії отримані мутантні сорти твердої пшениці, які характеризуються короткою та неполягаючою соломиною, високою врожайністю та високою якістю зерна. По урожаю зерна з одиниці площі перевершують стандарт на 21—26 %, за вмістом білка — на 3,0—5,8 %.

Загальна кількість сортів, отриманих методом експериментального мутагену в світі досягає понад 1920. Дуже часто висока продуктивність мутантних сортів поєднується або забезпечується принципово новими генами-джерелами окремих цінних ознак і властивостей рослин: високої стійкості до холоду (мутантні сорти озимої та я пшениці, рису, турецького горіха); високої солестійкості та стійкості до важких металів (мутантні сорти ячменю, пшениці, рису, арабідопсису); високої стійкості до окремих видів хвороб (мутантні сорти пшениці, квасолі, рису, тютюну, сої, арахісу, турецького горошку, земляного горіха, перцю, коров'ячого гороху); стійкості до шкідників (сорти сої, земляного горіха); ранньостиглості (мутантні сорти сої, ярої пшениці, рису, земляного горіха); з цитоплазматичною чоловічою стерильністю (мутантні лінії соняшнику поліпшеної якості продукції (мутантні сорти пшениці, сої, перцю, джуту, кунжуту, і бавовнику, голубиноного горошку, маку опіумного); високого проростання насіння; поліпшеними декоративними ознаками (мутантні сорти хризантеми, гербери); карликового коріння, яке забезпечує загушення травостою (мутантні сорти австралійського горіха); високої кущистості (мутантні гібриди кукурудзи) та ін. (табл. 3-4)

Таблиця 3 Кількість районованих у світі мутантних сортів по роках

Роки	Кількість сортів
1934—1954	7
1955—1964	30
1965—1974	231
1975—1984	122
1985—1994	1394
1995—1998	46
Нові сорти України і Китаю, які знаходяться на реєстрації	90
Всього	1920

Таблиця 4 Кількість районованих у світі мутантних сортів у різних видів культурних рослин, які розмножуються насінням.

Вид		Кількість створених мутантних сортів	
		Всього	з використанням мутантів у схрещуванні
Абельмоскус їстівний	<i>Abelmoschus esculentus</i> Moench	1	-
Польовиця	<i>Agrostis</i> sp.	1	-
Цибуля	<i>Allium cepa</i> L.	4	1
Лисохвіст лучний	<i>Alopecurus pratensis</i> L.	2	-
Щириця	<i>Amaranthus</i> sp. L.	1	-
Арахіс	<i>Arachis hypogaea</i> L.	38	17
Лопух великий	<i>Arctium lappa</i> L.	4	-
Астрагал	<i>Astragalus huangheensis</i>	1	-
Овес	<i>Avena sativa</i> L.	18	13
Буряк	<i>Beta vulgaris</i> L.	5	1
Ріпа	<i>Brassica campestris</i> L.	1	-
Гірчиця сарептська	<i>Brassica juncea</i> L.	7	3
Ріпак	<i>Brassica napus</i> L.	10	2
Капуста городня	<i>Brassica. oleracea</i> L.	1	1
Капуста пекінська	<i>Brassica pekinensis</i> Rupr.	2	-
Столокос безостий	<i>Bromus inermis</i> Leuss	1	-
Голубиний горох	<i>Cajanus cajan</i> Mslsp.	5	-
Перець зелений	<i>Capsicum annuum</i> L.	8	2
Перець	<i>C. annuum</i> L.	1	1
Папайя	<i>Carica papaya</i> L.	1	-
Нут	<i>Cicer orietinum</i> L.	9	-
Кавун їстівний	<i>Citrullus lanatus</i> Mansf.	2	-
Бусенник звичайний	<i>Coix lachrimagobi</i> H.	1	-
Джут крупноплідний	<i>Corchorus capsularis</i> L.	2	-
Джут городній	<i>C. olitorius</i> L.	7	1
Огірок посівний	<i>Cucumis sativus</i> L.	2	1
Куркума домашня	<i>Curcuma sativus</i> L.	2	1
Доліхос	<i>Dolichos labiad</i> L.	1	-
Мушмула	<i>Eriobotrya japonica</i>	4	-
Гречка культурна	<i>Fagopyrum esculentum</i>	4	2
Гречка	<i>F. sagittatum</i> Gili	3	-
Вівсяниця лучна	<i>Festuca pratensis</i> Huds	53	-

Соя	<i>Glycine max</i> L.	18	3
Бавовник	<i>Gossypium</i> sp.	1	3
Соняшник	<i>Helianthus annuus</i> L.	4	-
Гібіскус	<i>Hibiscus</i> sp.	1	-
Обліпіха	<i>Hippophaea rhamnoides</i> L.	260	-
Ячмінь	<i>Hordeum vulgare</i> L.	1	215
Хміль звичайний	<i>Humulus lupulus</i>	2	1
Салат посівний	<i>Lactuca sativa</i> L.	1	-
Чина посівна	<i>Lathirus sativus</i> L.	1	-
Чечевиця	<i>Lens culinaris</i>	1	-
Кресс-салат	<i>Lepidium sativum</i> L.	2	-
Леспедеца	<i>Lespedeza cuneata</i>	8	1
Льон	<i>Linum usitatissimum</i> L.	1	3
Плевел	<i>Lolium</i> sp.	1	-
Люфа	<i>Luffa aetangula</i>	12	-
Люпин білий	<i>Lupinus albus</i> L.	2	4
Люпин блакитний	<i>L. angustifolius</i> L.	1	1
Люпин	<i>L. consentini</i>	4	1
Люпин жовтий	<i>L. luteus</i> L.	11	3
Томат	<i>Lycopersicon esculentum</i>	1	4
Ромашка лікарська	<i>Matricaria chamomilla</i>	1	-
Момордіка харантія	<i>Momordica charantia</i>	11	-
Тютюн	<i>Nicotinia tabacum</i> L.	2	7
Еспарцет	<i>Onobrychis viciifolia</i>	2	-
Серадела	<i>Ornithopus compressus</i> L.	1	-
Рис	<i>Oryza sativa</i> L.	329	106
Просо	<i>Panicum miliaceum</i> L.	2	1
Мак	<i>Papaver somniferum</i>	1	-
Пенісетум	<i>Pennisetum</i> sp.	5	2
Квасоля вогненочервона	<i>Phaseolus coccineus</i>	1	-
Квасоля	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	20	5
Горох	<i>Pisum sativum</i> L.	32	17
Мигдаль звичайний	<i>Prunus dulcis</i> Webb.	1	-
Крушина	<i>Phamnus</i> sp.	1	-
Рицина	<i>Ricinus communis</i> L.	4	1
Жито	<i>Secale cereale</i> L.	4	
Кунжут індійський	<i>Sesamum indicum</i>	4	2
Кунжут східний	<i>Sesamunt orientale</i> DC.	9	-
Чумиза	<i>Setaria holica</i> Beauv	1	
Мишій	<i>Setaria</i> sp.	6	
Гірчиця біла	<i>Sinapis alba</i> L.	5	1
Баклажан	<i>Solanum melongena</i> L.	4	-

Сорго двоколірне	<i>Sorghum bicolor</i> L.	5	1
Суданська трава	<i>S.sudanense</i>	1	1
Шпинат городній	<i>Spinacia oleracea</i> L.	1	-
Конюшина олександрійська	<i>Trifolium alexandrinum</i> L.	1	-
Конюшина інкарнатна	<i>Tr. incarnatum</i> L.	1	-
Конюшина червона	<i>Tr. pratense</i> L.	1	-
Конюшина підземна	<i>Tr. subterraneum</i> L.	1	-
Пшениця м'яка	<i>Triticum aestivum</i> L.	154	39
Пшениця тверда	<i>T. turgidum</i> ssp. <i>durum</i> Dcsf.	25	17
Горошок гіркий	<i>Vicia ervilia</i>	2	-
Кінські боби	<i>Vicia faba</i> L.	13	4
Вика посівна	<i>Vicia saliva</i>	3	1
Вика ангуляріс	<i>Vigna angularis</i> Wilid.	1	-
Вика мунго	<i>V. mungo</i> L.	4	2
Маш	<i>V. radiata</i> (L.) Wil.	14	2
Коров'ячий горох	<i>V. unguiculata</i> Walp.	9	1
Кукурудза	<i>Zea mays</i> L.	49	39
Зізіфус мавританський	<i>Ziziphus mauritiana</i> Lam.	2	-
Всього		1275	525

Таблиця 5. Кількість районованих у світі мутантних сортів, що розмножуються вегетативним шляхом

Вид		Кількість мутантних сортів
Абелія	<i>Abelia</i> sp.	1
Ахіменсес	<i>Achimenes</i> sp.	8
Альстромерія	<i>Alstromeria</i> sp.	35
Ротики	<i>Antirrhinum</i> sp.	4
Бегонія	<i>Begonia</i> sp.	25
Бугенвілія	<i>Bougainvillea</i> sp.	10
Колатея	<i>Calathea crocata</i>	1
Канна індійська	<i>Canna indica</i> L.	3
Хризантема	<i>Chrysanthemum</i> sp.	209
Грейфрут	<i>Citrus grandis</i> L.	2
Мандарин	<i>C. sp.</i>	3
Чорнобородник	<i>Cymbopogon winterianus</i> <i>jowitt</i>	6
Свинорій	<i>Cynodon</i> sp.	2
Смикавець	<i>Cyperus malaccensis</i> Lam.	1
Жоржина	<i>Dahlia</i> sp.	34

Гвоздика	<i>Dianthus caryophyllus L.</i>	18
Еремохля	<i>Eremochloa ophuiroides Hack</i>	1
Молочай	<i>Euphorbia fulgens Karw.</i>	1
Фікус	<i>Ficus benjamina exsotica</i>	2
Смоковниця	<i>F. carica L.</i>	1
Форзиція	<i>Forsythia × intermedia</i>	2
Гербера	<i>Gerbera L.</i>	1
Гладіолус	<i>Gladiolus sp.</i>	4
Гузманія	<i>Gusmania paecockii Ruiz et Pav.</i>	1
Гібіскус	<i>Hibiscus sp.</i>	3
Гойя	<i>Hoya cornosa</i>	4
Гіацинт	<i>Hyacinthus sp.</i>	1
Батат	<i>Ipomoea batatas (L.) Poir.</i>	2
Ірис	<i>Iris sp.</i>	5
Каланхое	<i>Kalanchoe sp.</i>	3
Лагерстремія індійська	<i>Lagerstroemia indica L.</i>	2
Лантана	<i>Lantana despressa</i>	3
Лілія	<i>Lilium sp.</i>	2
Яблуня низькоросла	<i>Málus pumila Mill.</i>	9
Яблуня	<i>(Málus sp.)</i>	1
М'ята польова	<i>Mentha arvensis L.</i>	1
М'ята перцева	<i>Mentha piperita</i>	2
Шовковиця біла	<i>Mórus alba L.</i>	3
Банан	<i>Musa sp)</i>	1
Маслина європейська	<i>Olea europaea L.</i>	1
Герань	<i>Pelargonium grandiflorum hubrid</i>	1
Тубероза	<i>Polianthes tuberosa L.</i>	2
Тополя	<i>Pópulus trichocarpa L.</i>	1
Портулак великоквітковий	<i>Portulaca grandiflora L.</i>	11
Абрикоса	<i>Prunus armeniaca L.</i>	1
Черешня	<i>Prunus avium L.</i>	8
Алича	<i>Prunus cerasus L.</i>	4
Слива культурна	<i>Prunus domestica L.</i>	1
Персик	<i>Prunus persica L.</i>	2

У Росії за допомогою хімічних мутагенів індуковано супербульбочкові мутанти гороху, які відрізняються високою азотфіксацією та стійкістю до нітратів.

В Україні районовані 29 сортів озимої м'якої та твердої пшениці, створених за участю спонтанних та індукованих мутацій, що становить 64,4 % загальної кількості районованих сортів; в їх числі сорти, створені за допомогою лише індукованих мутацій, складають 20,0 %.

Серед них перше місце за об'ємом посівних площ лише в Україні (до 2 млн. га) займає мутантний сорт озимої пшениці Альбатрос одеський, створений одеськими селекціонерами. До числа мутантних сортів озимої пшениці варто додати 12 мутантних гібридів кукурудзи і два гібриди нової культури маїссинте, 7 мутантних сортів ячменю, 12 сортів люпину білого та 6 сортів жовтого, по одному сорту озимого жита і тритикале, 7 сортів гречки, 3 сорти троянди і жоржини та інших культур, облік яких має певні ускладнення.

Динаміка кількості створених мутантних сортів у світі і, зокрема в Китаї, починаючи з 1934 року, представлена в таблицях 2 і 5.

Серед 345 мутантних сортів Китаю 259 — це сорти рослин, які є продуктами харчування. Вони становлять 75,1 %. Майже половина їх створена за період 1966—1980 років, в той же час по інших культурах (прядивні, овочеві, плодові, фуражні, цукрові) максимум створених та визнаних сортів приходить на період 1986—1993 років (таблиця 6).

Таблиця 6. Кількість нових мутантних сортів, створених методом індукованого мутагенезу в Китаї.

Види	1966 - 1980	1981 - 1985	1986 - 1993	Всього	%
Продовольчі культури	130	42	87	259	75,1
Олійні культури	19	6	18	43	12,5
Прядивні	4	2	3	9	2,6
Овочеві культури	1	2	6	9	2,6
Плодові дерева	1	4	8	13	3,8
Фуражні культури	-	1	6	7	2,0
Цукрові культури	-	-	4	4	1,2
Інші культури	-	-	1	1	0,3
Всього	155	57	133	345	-
%	44,9	16,5	38,5	100	-

Мутантні сорти в цілому створені по 94 видах рослин, які розмножуються насінням та по 63 видах, які розмножуються вегетативним шляхом (таблиці 5,7).

Таблиця 7. Кількість районованих у світі мутантних сортів декоративних рослин (за даними Моргуна В.В.)

Вид (назва)			Кількість мутантних	Спосіб розмнож
українською	російською	латиною		

			сортів	ення
Квасоля вогняночервона	Фасоль красноцветковая	<i>Phaseolus coccineus</i>	1	насіння
Зізіфус мавританський	Зизифус мавританский	<i>Ziziphus Mauritiana Lam.</i>	2	насіння
Абелія	Абелия	<i>Abelia sp.</i>	1	Веgetат.
Ахіменес	Ахименес	<i>Achimenes sp.</i>	8	Веgetат.
Альстромерія	Альстромерия	<i>Alstromeria sp.</i>	35	Веgetат.
Ротики	Львиный зев	<i>Antirrhinum sp.</i>	4	Веgetат.
Бегонія	Бегония	<i>Begonia sp.</i>	25	Веgetат.
Бугенвілія	Бугенвилия	<i>Bougainvillea sp.</i>	10	Веgetат.
Калатея	Калатея	<i>Calathea crocata</i>	1	Веgetат.
Канна індійська	Канна индийская	<i>Canna indica L.</i>	3	Веgetат.
Хризантема	Хризантема	<i>Chrysanthemum sp.</i>	209	Веgetат.
Жоржина	Георгин	<i>Dahlia sp.</i>	34	Веgetат.
Гвоздика	Гвоздика	<i>Dianthus caryophyllus L.</i>	18	Веgetат.
Еремохля	Эремохля	<i>Eremochloa Ophuiroides Hack</i>	1	Веgetат.
Фікус	Фигус	<i>Ficus benjamina exotica</i>	2	Веgetат.
Гербера	Гербера	<i>Gerbera sp.</i>		Веgetат.
Гладіолус	Гладиолус	<i>Gladiolus sp.</i>		Веgetат.
Гузманія	Гузмания	<i>Guzmania paecockii Ruiz et Pav.</i>	1	Веgetат.
Гібіскус	Гибискус	<i>Hibiscus sp.</i>	3	Веgetат.
Гойя	Гойя	<i>Hoya cornosa</i>	4	Веgetат.
Гіацинт	Гиацинт	<i>Hyacinthus sp.</i>	1	Веgetат.
Ірис	Ирис	<i>Iris sp.</i>	5	Веgetат.
Каланхое	Каланхое	<i>Kalanchoe sp.</i>	3	Веgetат.
Лагерстремія індійська	Лагерстремия ндийская	<i>Lagerstroemia indica L.</i>	2	Веgetат.
Лантана	Лантана	<i>Lantana despressa</i>	3	Веgetат.
Лілія	Лилия	<i>Lilium sp.</i>	2	Веgetат.
Герань	Герань	<i>Pelargonium Grandiflorum hubrid</i>	1	Веgetат.
Тубероза	Тубероза	<i>Polyanthes</i>	2	Веgetат.

		<i>tuberosa L.</i>		
Портулак великоквітковий	Портулак крупноцветковий	<i>Portulaca grandiflora L.</i>	11	Вегетат.
Рододендрон	Рододендрон	<i>Rhododendron sp.</i>	15	Вегетат.
Троянда	Роза	<i>Rosa sp.</i>	30	Вегетат.
Сенполія	Сенполия	<i>Saintpaulia sp.</i>	1	Вегетат.
Стрептокарпус	Стрептокарпус	<i>Streptocarpus sp.</i>	30	Вегетат.
Тюльпан	Тюльпан	<i>Tulipa sp.</i>	9	Вегетат.

Необхідно зазначити, що серед мутантних сортів культурних рослин сорти декоративних рослин складають близько 0,3 %, у той час як продовольчі - 75,1 %, серед них олійні - 12,5 % (рис. 11)

Серед районованих у світі мутантних сортів методом прямого добору створено 1294, що складає 70,7 % та при залученні мутантів до схрещувань — 536 сортів, що становить 29,3 % (таблиця 6). 1167 сортів отримано при дії мутагенів на сорти, 99 — на гібриди, 12 — на мутанти, 5 — на популяції та 4 — на культуру *in vitro*.

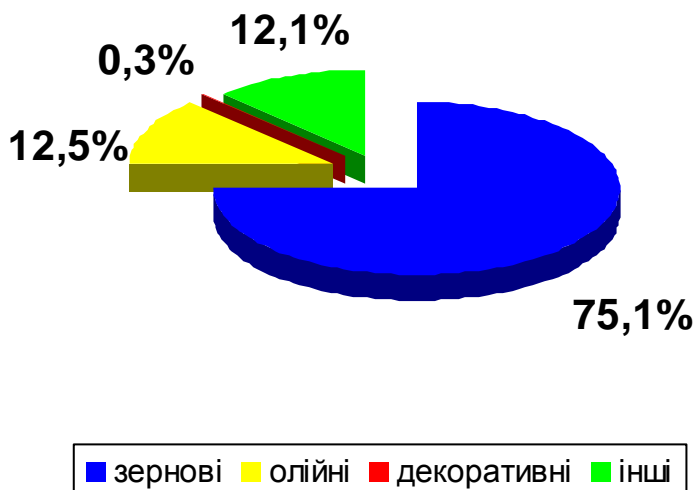


Рис. 11. Співвідношення районованих у світі мутантних сортів сільськогосподарських та декоративних рослин (за даними акад. Моргуна В.В.)

Більшість мутантних сортів створені методом прямого добору мутантів, що становить 78,6%. Методом залучення мутантів до схрещувань створено 74 сорти, що складає 21,6%. Це є свідченням ефективності методу прямого добору мутантів. Отже, поліпшення методом експериментального мутагенезу відомих сортів шляхом прямого добору мутацій залишається найбільш ефективним способом селекції. Високу ефективність має також залучення мутантів до схрещувань та вплив мутагенними чинниками на гібридний матеріал з

наступним проведенням прямого добору цінних форм у гібридно-мутантних популяціях.

Таблиця 8. Кількість мутантних сортів, отриманих за допомогою мутантів (при прямому доборі чи залученні їх до схрещувань) в Китаї.

Культура	Прямий добір	Залучення до схрещувань	Всього
Рис	102	20	122
Пшениця	77	14	91
Сорго	2	1	3
Соя	24	3	27
Арахіс	5	2	7
Бавовник	—	3	3
Кукурудза	—	23	23
Інші	61	8	69
Всього	271	74	345
%	78,6	21,4	100,0

Аналіз ефективності фізичних і хімічних мутагенних чинників в індукуванні практично-цінних мутацій показав, що 1095 мутантних сортів, що становить 84,6 % отримано шляхом дії фізичних мутагенів, в тому числі 705 сортів (54,5 %) — за допомогою гамма-променів та 304 (23,5 %) — за допомогою рентгенівських променів. 151 сорт (11,7 %) отримано при дії хімічних мутагенів, 11 сортів (0,8 %) — при використанні комбінованої дії фізичних мутагенів, 18(1,4%) сортів — при використанні комбінованої дії фізичних і хімічних мутагенів та 4 сорти (0,3 %) — при використанні комбінованої дії хімічних мутагенів (таблиця 8). Високу генетичну активність гамма-променів підтверджують дані, отримані селекціонерами Китаю. Так, переважна кількість мутантних сортів (95,6 %) створена завдяки дії фізичних факторів, найбільш висока ефективність серед яких належить гамма-променям (79,7 % мутантних сортів)

Отже, гамма-промені продовжують займати перше місце по ефективності індукування цінних мутантних сортів, незважаючи на доведену науковими дослідженнями більшу генетичну активність хімічних мутагенів, їх доступність та використання вже протягом тривалого часу.

На думку академіка Моргуна В.В., стверджувальна за часів Л. Стадлера думка про безумовну шкідливість мутацій, ще й до цього часу цитується в науковій літературі не має під собою вагомих підстав. Вона склалась в період

зародження мутагенезу і пов'язана з використанням першовідкривачами мутагенезу дуже високих доз, які приводили до появи летальних мутацій. На сьогодні, використовуючи відповідні мутагени і дози, можна регулювати співвідношення корисних, життєздатних та летальних мутацій.

Таблиця 9. Ефективність мутагенних чинників у створенні мутантних сортів культурних рослин

Мутагенні чинники	Мутантні сорти	
	кількість	%
Фізичні, всього, в тому числі:	1095	84,6
гамма-промені	705	54,5
рентгенівські промені	304	23,5
β-промені, швидкі нейтрони та інші фактори	86	6,6
Хімічні мутагени	151	11,7
Комбінована дія, всього, в тому числі:	33	2,6
фізичні + фізичні	11	0,8
фізичні + хімічні	18	1,4
хімічні + хімічні	4	0,3
Фактори невідомого походження	15	1,1
Всього	1294	100,0

Таблиця 10. Ефективність різних мутагенних чинників в отриманні мутантних сортів рослин у Китаї.

Культура	Рентгенівські промені	Гамма-промені	β-промені	Нейтрони	Лазер	Електрони	Комбінована дія	Всього
Зернові	2	164	2	12	1,1	1	8	200
Олійні	5	2,1	—	6	1	—	2	35
Прядивні	1	4	—	—	—	—	—	5
Овочеві	—	7	—	—	1	—	—	8
Цукрові	—	1	—	-	—	—	1	2
Фуражні	—	6	—	—	1	—	—	7
Інші		13					1	14
Всього	8	216	2	18	14	1	12	271
%	2,9	79,7	0,7	6,6	5,2	0,3	4,4	

Величезна кількість районованих у світі мутантних сортів отриманих мутантних форм свідчать про те, що багато з них мають нормальну

плодовитість, ріст та розвиток. Ці багаточисельні мутанти рослин ніяк не можна віднести до розряду шкідливих, летальних, нежиттєздатних.

Накопичені факти не дозволяють погодитися із ствердженням про низьку ефективність експериментального мутагенезу щодо отримання практично-цінних форм, дослідники, які говорять про низьку ефективність мутагенезу, не приводять результатів аналізу ефективності методу гібридизації. Багато селекціонерів, дотримуючись їх правил підбору пар, мають щорічно тисячі гібридних комбінацій, випробовують тисячі ліній, а отримують сорти лише окремі з них.

Найбільш видатні досягнення селекції, подібні сортам пшениці Безоста 1, Сава, Трансдорфер, Екстра, обумовлені, головним чином, трансгресією. Частота цих трансгресій є досить низькою.

У Югославії за 9 років пройшли конкурсне сортовипробування понад 2000 сортів, з них 17 районовані і лише 2 отримали широке розповсюдження у виробництві.

Із величезної кількості гібридних комбінацій, які здійснюють у Мексиці, тільки частка близько 1 % дає лінії, які стають сортами. На жаль, генетична природа трансгресій, які приводять до отримання оптимальних сортів, нерозгадана, а поява їх з низькою частотою дозволяє вважати, що в їх основі лежить не лише комбінативна, але й мутаційна мінливість. У природі ці процеси неподільні, тим більше, що окремі ознаки у ряду сортів мають явно мутаційне походження.

Вивчаючи протягом багатьох років можливості експериментального мутагенезу порівняно з методом гібридизації ми переконалися у тому, що за рівних об'ємів роботи, правильного добору вихідного матеріалу та напрямку добору ефективність мутаційної селекції не нижча порівняно з методом гібридизації. Нижче приведені дані щодо ефективності різних методів селекції у створенні практично-цінних форм озимої пшениці 1988—1993).

Таблиця 11. Ефективність методу прямого добору мутантів у створенні нових сортів культурних рослин.

№	Метод селекції	Відібрано практично цінних форм* для конкурсного випробування
1	Прямий добір мутантів із сортів	0,37 %
2	Добір ліній з гібридного матеріалу	0,32 %
3	Добір ліній з гібридного матеріалу, отриманого за участю мутантів	0,33 %

*У відсотках загальної кількості вивчених ліній. Щорічно вивчали 12,6 – 18,7 тисяч ліній.

Імовірність добору практично-цінних форм у випадку використання методу гібридизації (2) складала 0,32 %. Вона була практично однаковою у випадку використання методу прямого добору мутантів із сортів(1) (0,37 %) чи методу гібридизації (3) за участю індукованих мутантів (0,33 %).

Мутаційна селекція порівняно з методами гібридизації дає можливість виводити сорти майже у 2 рази швидше. На жаль, роботи з мутаційної селекції проводяться вкрай в обмежених масштабах, поступаючись за об'ємом в 50 – 500 раз селекції, яка проводиться на основі гібридизації. При цьому економічно важливі результати було отримано при мінімальних капіталовкладеннях. Порівняно із звичайною селекцією рослин мутаційний метод використовує зовсім незначна кількість селекціонерів.

Таким чином, більш ніж піввікові дослідження у галузі експериментального мутагенезу привели до створення нового напрямку генетичного поліпшення рослин — мутаційної селекції. Його появі сприяли відкриття вискоєфективних мутагенних чинників та широке залучення селекціонерів до проблем експериментального мутагенезу.

На сьогодні мутації можна отримувати по любому гену і, таким чином, можна впливати на будь яку ознаку рослин. Фактором, який обмежує селекцію, є не стільки мутагенез, скільки ідентифікація та селекція бажаних форм. Обмеження пов'язані, головним чином з необхідністю скринінгу великої кількості зразків мутантної популяції, а також з незадовільними методами селекції.

У галузі експериментального мутагенезу та мутаційної селекції рослин у світі накопичилось достатня кількість наукових досліджень, їх повне узагальнення стає нереальним завданням.

На думку академіка Моргуна В.В., що саме експериментальний мутагенез у поєднанні з класичними та новими методами селекції у найближчому майбутньому стане найефективнішим методом генетичного поліпшення рослин.

Мутагенез в селекції дерев лісових видів. Найдетальніше узагальнення цього питання зробили Н.А. Картель та Е.Д. Манцевич (1970). Згідно з їх матеріалами, перші досліди з вивчення дії іонізуючого опромінювання на лісові дерева були проведені В.М.Сукачевим на початку 40-х років минулого століття. При цьому в дії іонізуючого опромінювання на лісові дерева потрібно розрізняти дві самостійні проблеми радіочутливість та мутабільність.

Під радіочутливістю рослин розуміють ступінь порушення різних процесів та ураження тканини внаслідок впливу відповідної дози радіації на самі рослини або їх насіння. Радіочутливість оцінюється критичною дозою, тобто дозою, при якій виживає до 20-30% рослин, що здатні дати насіння. Існує також термін летальна доза, при якій спостерігається 1000%-на загибель рослин (LD_{100}). Чисельні дослідження з сільськогосподарськими культурами показали різкі різниці в радіочутливості між класами, родами, видами і навіть між

окремими особами. Є рослини, для яких мінімальні дози дорівнюють 4 тис. р. і є рослини, що виживають при дозах 200 тис. р.

Г.Ф. Привалов (1963), вивчаючи чутливість до іонізуючого опромінювання більше 30 видів дерев і кущів дійшовши висновку, що хвойні дерева мають дуже високу радіочутливість порівняно з листяними, особливо кедр сибірський, модрина сибірська та сосна звичайна, для яких критична доза гамма-променів 1-5 тис. р. та рентгенівських - 5 тис. р. Ялина сибірська, береза бородавчата, вільха чорна ще більш радіочутливі. І навпаки, високою радіочутливістю володіють клен ясенелистий, гледичія, обліпіха, тополя чорна (20 тис. р.), Це було підтверджено також цитологічними дослідженнями клітин, що діляться. Так, відсоток хромосомних порушень у сосни при дозі 1 тис. р склала 5,3 при дозі 5 тис. р. 22,5, а опромінювання дозою 10 тис. р. призвело до повного пригнічення мітозу. Але яблуня та жовта акація дали при дозі 5 тис. р. відповідно 14,5 та 17,8% порушення хромосом.

М.А. Кудінов (1966) встановив критичні та летальні дози при гамма-опромінюванні для 47 видів дерев та кущів. Згідно його досліджень найбільш стійкими до радіації виявились ракитники з гірських схилів Європи та барбарис амурський (критична доза > 60 тис. р.). Досить стійкою до опромінювання виявилась липа крупнолиста та ясен звичайний (критична доза 30 тис. р.). Найбільш чутливими були вільха та хвойні, а саме: сосна звичайна, ялиця сибірська, ялина звичайна (критична доза 500-5 тис. р.). Рослини високогірного походження виявляються більш стійкими, наприклад, ялина звичайна з високогірних районів виявилась більш стійкою до гамма - опромінювання, ніж ялина низинних районів.

Вивчаючи радіочутливість насіння сосни різного географічного походження, дослідники прийшли до висновку, що на радіочутливість насіння та сіянців впливає довжина вегетаційного періоду. Так, насіння походженням з північних провінцій, де вегетаційний період значно коротший, більш стійкі ніж насіння південного походження і районів довшого вегетаційного періоду.

А.М. Кудінов встановив стимулюючі дози для берези пухнастої та жимолості і така доза виявилась 500 р., для ясена зеленого та липи крупнолистої - 5000 р., а для ракитника російського та барбариса амурського такі дози і становлять 30-60 тис. р. Стерс (1964) вивчав радіочутливість дуба в умовах хронічного опромінювання гамма-променями. Він показав, що при потужності опромінювання 10 р/день протягом 10 місяців насіння дуба розвивається нормально, а при опромінюванні дозою 25 р/день протягом 10 місяців була знижена схожість і отримана низька приживленість сіянців. Потужність дози 45 р/день та вище веде до повного припинення вегетативного та репродуктивного розвитку. При цьому автор відмітив кумулятивний ефект хронічного опромінювання. Подібні мутанти дуба автор спостерігав від дії високої концентрації симазину.

Кумулятивний ефект опромінювання був встановлений Р. Мерікло і Спарроу (1962). Два види дуба опромінювались гамма-променями протягом 10

років. Загальна доза опромінювання виявилась 16 тис. р. Ефект такого тривалого опромінювання проявляється у відмиранні бокових та верхових бруньок і навіть цілих гілок, пагони стають вкорочені і товщі, листки мають ненормальні розміри (потворні). Порушується квітування. Ці самі автори встановили більш високу радіостійкість дуба порівняно з сосною. Вудвел (1962, 1967) встановив, що на місцевості з лісом та полем від самої високої дози 350 р/день всі вищі рослини загинули протягом 1 року, в другій зоні при 150 р/день вижила осока, вереск та деякі інші кущі. Зона виживання дуба перенесла 40 р/день за той же період, потім вижила дубово-соснова зона з денною дозою опромінювання 2 р. Таким чином, досліди Вудвела встановили, що при довготривалому опромінюванні змінюється біологічна взаємодія між різними біологічними видами, порушується стабільність екологічної системи, змінюються внутрішньовидові взаємовідносини рослин, порушується фауна.

Таким чином, різна радіостійкість рослин залежить від багатьох причин. Однією з головних причин вважається розмір хромосом в клітинах рослин. Спарроу (1962, 1963) переконливо довів, що чим більший розмір хромосом, тим більше ці рослини чутливі до опромінювання. Шпилькові або хвойні види дерев мають досить крупні хромосоми, а тополі, що вважаються найбільш стійкими до опромінювання, мають дуже дрібні хромосоми. Є відомості, що більш високу відчутність до опромінювання мають рослини-поліплоїди але ще більшу стійкість проти опромінювання мають гібридні рослини, що володіють гетерозисним ефектом.

Загальним для всіх видів деревних рослин, що розвиваються з опроміненого насіння, є зниження середньої висоти рослин з підвищенням дози опромінювання. І все ж, при дозах, що близькі до критичних, зустрічаються рослини, що ростуть швидше, ніж контрольні. Цей висновок заслуговує на увагу селекціонерів.

Методичні поради для мутагенезу з видами лісових дерев. Об'єктами для обробки мутагенами насамперед може бути чергу насіння. Встановлено, що чим довше зберігається насіння, тим більше воно вміщує мутацій. Для видів з вегетативним розмноженням можна використати зимові та вкорінені живці, вегетативні та квіткові бруньки, прищепний матеріал та вже прищеплені саджанці. Опромінювати можна навіть цілі рослини.

Час опромінювання залежить перш за все від об'єкту. Якщо використовуються для опромінювання вегетативні частини рослин, то опромінювання проводять на початку вегетаційного періоду, в період набрання бруньок та появи молодих пагонів. Іноді рекомендується опромінювати бруньки в момент їх закладання, тобто серед літа. Насіння рекомендується опромінювати перед посівом.

Для отримання індукованих мутацій можна рекомендувати різні мутагени. Рентгенівські промені та нейтрони використовуються для дрібних об'єктів (насіння, живці). Для крупних рослин (прищеплених саджанців, сіянців) використовуються гамма-поля з кобальтовою або цезієвою установкою

(Co^{60} , Cs^{137}). Можна також використовувати радіоактивні ізотопи. А хімічним мутагенам, взагалі, належить майбутнє. Вони прості у використанні, часто дають домінуючі мутації і нерідко значно більшу кількість мутацій, порівняно з іонізуючими променями.

Що стосується дози та потужності опромінювання, то в існує два типи: довготривале (або хронічне) та короткочасне (або гостре). Досліди показали, що хронічне опромінювання не має переваг перед короткочасним. Крім того, короткочасне опромінювання дає більш високу частоту соматичних змін. Але потрібно мати на увазі, що рослини можуть витримати значно більшу загальну дозу при довготривалому опромінюванні, ніж при гострому.

Низькі дози опромінювання не дають помітного генетичного ефекту, але можуть лише частково стимулювати проростання насіння, ріст та розвиток сходів. Критичні дози опромінювання призводять до крупних мутацій, що зв'язані з хромосомними порушеннями. Середні дози дають більше генних або точкових мутацій. Відносно вибору дози опромінювання, яка залежить від об'єму ядер клітин, то Спарроу та інші дослідники рекомендують враховувати такі рекомендації.

Знаючи розміри хромосом і, в першу чергу, їх загальну довжину, можна приблизно встановити дозу опромінювання. Для цього Ньюбом (1965) запропонував число 120000 розділити на загальну довжину хромосом в мікронах. Отриманий результат і буде приблизною дозою опромінювання сухого насіння. Для вегетативних частин рослин ця доза повинна бути розділена на 10 або 20, в залежності від того, в якому стані знаходяться тканини: сплячі чи метаболічно активні. Для отримання поліплоїдних видів розраховану дозу опромінювання потрібно збільшити на 50-70%.

Важливим є виділення соматичних мутацій. Це питання має свої труднощі тому, що в першій період після опромінювання досить сильно виражена модифікаційна мінливість у об'єктів. Навіть якщо мутації і виявлені, їх можна досить легко втратити, бо вони виникають лише в невеликій кількості рослин і витісняються нормальною тканиною.

Існує спеціальна методика виділення соматичних мутацій, або, як часто кажуть, розхимерування тканини. Ця методика полягає в систематичній обрізці первинних пагонів і залишенні кількох пазухових (базальних) бруньок, що дають потім нові пагони. Взагалі процес розхимерування продовжується кілька років. Якщо рослина легко укорінюється, то первинні пагони можуть бути зрізані зразу ж після появи кількох перших листків. Зрізані пагони висаджуються, потім, коли з'являються нові пагони з сплячих бруньок у основи рослин та в укоріненних живців, їх знову зрізують і висаджують і т.д. Таким шляхом можна швидко перевірити всю опромінену тканину і виділити мутації в чистому вигляді протягом одного року.

Виявити соматичні мутації у деяких рослин можна і при випробуванні пилку. Наприклад, Еріксон (1966) рекомендував виявляти мутантну тканину у модрини за кольором пилку. Якщо пилки під дією йодного розчину буде

забарвлений и червоно-коричневий колір, то квіткова брунька виросла з мутантної тканини, якщо колір пилку під мікроскопом буде від голубого до чорного, то мутації немає.

В кінці цього розділу потрібно підкреслити, що сама по собі радіаційна селекція, не дивлячись на її перспективу в майбутньому, не може вирішити всі проблеми селекції. Вона вважається лише одним із методів селекції, що має свої можливості та межі.

Питання для самоконтролю:

1. У яких країнах найбільш ефективно займались мутаційною селекцією?
2. На яких груп культурних рослин досягніто найбільших результатів з експериментального мутагенезу?
3. Які основні напрями розвитку експериментального мутагенезу на сучасному етапі?
4. Для яких об'єктів використовуються рентгенівські промені та нейтрони?
5. В чому сутність «методу прямого добору мутантів» у створенні нових сортів культурних рослин?
6. Який з методів створення мутантних сортів є найбільш ефективним?

ПИТАННЯ ДО МОДУЛЬНОГО КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. Чим корисне отримання мутації карликовості у культурних рослин?
2. Які проблеми можна вирішити, використовуючи експериментальний мутагенез?
3. Назвати культури у яких отримання мутацій є найбільш ефективним та перспективним.
4. Які країни найбільше зосереджені на дослідження з експериментального мутагенезу та яких вони результатів досягли?
5. Назвіть досягнення Японії в мутаційній селекції. Які поліпшені ознаки були отримані при цих дослідженнях?
6. Охарактеризуйте результати українських вчених в експериментальному мутагенезі.
7. Проаналізувавши подану таблицю «Кількість районованих у світі мутантних сортів у різних видів культурних рослин які розмножуються насінням» зробити висновок про найбільш поширені та найбільш перспективні культури.
8. Назвати методи створення мутантних сортів.
9. Які фізичні мутагени використовуються для отримання мутантних сортів? Які з них найбільш ефективні?
10. Які сорти мутантного походження у колосових зернових культур відомі Вам?
11. Що таке «зелена революція? Хто її автор?
12. Які установи в Україні займаються мутаційною селекцією?
13. На яких видах рослин отримано найбільше мутантних форм?
14. Назвіть відомих Вам українських вчених, які займались експериментальним мутагенезом.
15. На яких біологічних об'єктах було доказано ефективність дії іонізуючого випромінювання?

СЛОВНИК ТЕРМІНІВ

Гаплоїдія – зменшення вдвічі кількості хромосом в каріотипі.

Генеративні мутації - це мутації, які виникли в статевих клітинах або гаметах. Такі мутації передають спадково наступним поколінням у процесі статевого розмноження.

Генні, або точкові мутації зумовлені змінами молекулярної структури мутантного гена, тобто порушенням специфічної послідовності нуклеотидів у молекулі ДНК. Оскільки вони не зв'язані зі структурними змінами хромосом, їхнє виникнення зазвичай не призводить до порушення кон'югації хромосом у мейозі та процесу кросинговеру.

Геномні мутації - зміни, пов'язані з кратним збільшенням або зменшенням основного числа хромосом.

Делеція (втрата) - мутація коли втрачається середня частина хромосоми.

Доза опромінювання (вимірюється в радах та рентгенах) величина, яку застосовують для оцінки впливу іонізуючого випромінювання на будь – які речовини, тканини та живі організми.

Дуплікації (здвоєння) - мутація коли відбувається здвоєння якої-небудь ділянки хромосоми.

Іонізуючі випромінювання - це випромінювання з високою енергією, що мають здатність викликати іонізацію, тобто утворення пар іонів в поглинаючому їх середовищі.

Інверсія (перевертання) - мутація коли хромосома розривається і знову з'єднується іншими кінцями.

Комбінативна мінливість – мінливість, яка забезпечується перекомбінуванням генів, хромосом та їх сегментів, які несуть різні алелі. Це виявляється в різноманітті організмів-нащадків, які отримали нові комбінації алелів в наслідок випадкового поєднання при заплідненні, або внаслідок кросинговеру.

Летальні мутації – це мутації, які можуть привести організм до загибелі.

Метод експериментального мутагенезу – метод штучного отримання мутацій під впливом фізичних та хімічних чинників.

Мутаційна мінливість – мінливість, яка є результатом виникаючих стійких змін генів/хромосом, що обумовлюють помітні якісні спадкові ознаки (під впливом добору, вони або зберігаються, або елімінують).

Нестачі – мутація коли втрачається кінцева частина хромосоми і хромосома скорочується.

Поліплоїдія – кратне збільшення кількості хромосомних наборів в клітині

Потужність дози - доза випромінювання за відповідний час.

Соматичні мутації - це мутації, які виникають в клітинах інших тканин. Соматичні мутації за своєю природою нічим не відрізняються від генеративних.

Спонтанні мутації - це мутації, які виникають в природі під впливом зовнішнього середовища або внаслідок фізіологічних та біохімічних змін в самому організмі без впливу людини.

Транслокація (переміщення) - мутація коли відбувається взаємний обмін частинами негомологічних хромосом.

Химери - рослини, які несуть мутаційні тканини. Їх також називають мозаїками.

Хромосомні перебудови, або хромосомні аберації характеризуються розривами й різними наступними структурними перебудовами хромосом. Кожна із цих змін зазвичай супроводжується проявом якої-небудь нової ознаки або властивості.

ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Петухов В.Л. Генетика / В.Л. Петухов, О.С. Короткевич, С.Ж. Стамбеков, А.И. Жигачев, А.В. Бакай. – Новосибирск: Сем ГПИ, 2007. – 628 с.
2. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика: учеб. Пособие для вузов / [И.Ф. Жимулев]; под. Ред. Е.С. Беляева, П.П. Акинфьева. – [4-е изд.]. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2007. – 479 с.
3. Генетика. Учебник для вузов / Под ред.. академіка РАННИ В.И. Иванова. – М.:ИКЦ «Академкнига» , 2006. – 638 с.
4. Лях В.А. Индуцированный мутагенез масличных культур: монографія / В.А. Лях, И.А. Полякова, А.И. Сорока. – Запорожье: ЗНУ, 2009. – 266 с.
5. Лях В.А., Полякова И.А. Использование индуцированного мутагенеза для расширения генетических ресурсов льна / В.А. Лях, И.А. Полякова // Збірник наукових праць «Фактори експериментальної еволюції організмів» до 90 річ. Укр. ак. наук. – К.: Логос, 2008. – С.146-150.
6. Полякова И.А. Мутационная изменчивость при облучении гамма-лучами семян льна сорта Циан и радиомутантов, полученных на его основе / И.А. Полякова, В.А. Лях, Л.Ю. Мищенко // Физиология и биохимия культурных растений. – 2004. – Т. 36. – № 2. – С. 146-150.
7. Полякова И.А. Использование индуцированного мутагенеза в селекции льна масличного / И.А. Полякова, В.А. Лях //Наук.-техн. бюл. ИОК УААН. – 2004. – Вип. 9. – С. 53-583.
8. Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть: У 4 т. / Редкол.: В.В. Моргун та ін. – К.: Логос, 2001. – 305 с., 320 с., 235 с., 349 с.
9. Моргун В.В. Мутационная селекция пшеницы / В.В. Моргун, В.Ф. Логвиненко. – К.: Наукова думка, 1995. – 621 с.

10. Соколов И.Д. Lugansn arabidopsis seed stock center. Каталог генетической коллекции / И.Д. Соколов, Л.И. Сигиденко, Е.И. Соколова, О.М. Медведь, И.В. Кирпичева, П.В. Шелихов. – Луганск: Элтон -2, 2009. – 60 с.
11. Генетика развития растений / [Лутова Л.А., Проворов И.А., Тиходеев О.Н., Тихонович И.А., Ходжаева Л.Т., Шишкова С.О.]; под ред. чл.-кор. РАН С.Г. Инге-Вечтомова. – СПб.: Наука, 2000. – 539 с.
12. Білоус В.І. Лісова селекція / Василь Іванович Білоус. – Умань, 2003. – 534 с.
13. Стрельчук С.И. Основы экспериментального мутагенеза / С.И. Стрельчук. – К.: Вища школа, 1981. – 216 с.

Додаткова:

1. Айала Ф. Современная генетика (в 3-х томах) / Ф. Айала, Дж. Кайгер; [пер. с англ./под ред. Ю.П. Алтухова]. – М.: Мир, 1987. – 295 с., 368 с., 335 с.
2. Володин В. Г. Радиационный мутагенез у растений / В. Г. Володин – Минск: Наука и техника, 1975. – 191 с.
3. Гудков И.Н. Основы общей и сельскохозяйственной радиобиологии / И.Н. Гудков. – К.: Изд-во УСХА. – 1991. – 326 с.
4. Рыскаль Г.В. применение химических мутагенов в защите среды от загрязнений и в сельскохозяйственной практике / Г.В. Рыскаль. – М.: Наука, 1981. – 253 с.
5. Отрадных В. В. Экология и генетика микроорганизмов / В.В. Отрадных. – Свердловск, 1991. – 83 с.
6. Ярмоненко С.П. Радиобиология человека и животных / С. П. Ярмоненко. – М.: Высш. школа, 1988. – 424 с.
7. Пилинская М.А. Генетические последствия загрязнения окружающей среды / М.А. Пилинская. – К.: Наукова думка, 1989. – 144 с.

8. Рапопорт И.А. Химический мутагенез в создании сортов с новыми свойствами / И.А. Рапопорт. – М.: Наука, 1986. – 174 с.
9. Селекция растений: новые генетические подходы и решения / под. ред. Н.Н. Балашова. – Кишинев: Штиинца, 1991. – 341 с.
10. Володин В.Г. Генетика радиационных мутантов пшеницы / В.Г. Володин, Б.И. Авраменко, Л.А. Сень. – Минск: Наука и техника, 1982. – 119 с.
11. Мобильность генома растений / [пер. с англ./под ред. Ю.П. Винецкого]. – М.: Агропромиздат, 1990. – 272 с.
12. Мурин А.В. Генетические основы создания исходного материала гладиолуса / А.В. Мурин, В.Н. Лысыков. – Кишинев: Штиинца, 1989. – 198 с.
13. Преображенская Е.Н. Радиоустойчивость семян растений / Е.Н. Преображенская. – М.: Атомиздат, 1971. – 231 с.
14. Пыльнев В.М. Химический мутагенез и проблемы селекции / В.М. Пыльнев. – М.: Наука, 1991. – 149 с.
15. Рапопорт И.А. Улучшение культурных растений и химический мутагенез / И.А. Рапопорт. – М.: Наука, 1982. – 95 с.
16. Тарасенко Н.Д. Вторжение в клетку / Н.Д. Тарасенко. – М.: Атомиздат, 1974. – 88 с.
17. Щербаков В.К. Мутации в эволюции и селекции растений / В.К. Щербаков. – М.: Колос, 1982. – 327 с.

НАВЧАЛЬНЕ ВИДАННЯ

(українською мовою)

Полякова Ірина Олексіївна,

Лях Віктор Олексійович

ОСНОВИ МУТАГЕНЕЗУ

Навчальний посібник
для студентів освітньо-кваліфікаційного рівня
«бакалавр» напрямку підготовки «Біологія»

Рецензент *Н.І. Лебедева*
Відповідальний за випуск *В.О. Лях*
Коректор *О.В. Самарська*