

Оцінка інформативності груп мутацій *Nigella damascena* L. покоління M_2

Ю. С. Губанова

Інститут олійних культур НААН України, вул. Інститутська, 1, сел. Сонячне, Запорізький р-н, Запорізька обл., 69055, Україна, e-mail: purpurata77@gmail.com

Мета. Провести математично-статистичну оцінку даних мутагенезу покоління M_2 сортів чорнушки дамаської 'Берегиня' та 'Чарівниця' для виявлення взаємовідношень між групами мутацій і математичного обґрунтування їх використання у процесі подальшого аналізу й відбору спадкових змін мутантних рослин. **Методи.** Насіння сортів 'Берегиня' та 'Чарівниця' обробили хімічними мутагенами. Мутації, виокремлені під час візуального спостереження за рослинами на різних етапах їхнього росту та розвитку, розділили на вісім груп. У кожній групі кожного варіанта обробки залежно від типу мутагену, його концентрації та часу експозиції підраховали частоту мутацій. Математично-статистичну оцінку результатів здійснили, використовуючи пакет аналізу MS Excel і рангову кореляцію ρ -Спірмена. **Результати.** Виявлено й оцінено мутаційну відмінність у поколінні M_2 між вісьмома групами чорнушки дамаської сортів 'Берегиня' та 'Чарівниця' під впливом мутагенів етилметансульфонату, нітрозометилсечовини і нового хімічного мутагену ДГ-2 (комплекс 3-N,N-диметиламіноссульфолана з диметилом). Визначено, що величина кореляцій мутагенних впливів коливається в межах 0,437–0,752 з рівнями значущості від $3,540 \times 10^{-5}$ до 0,037. Інформативними можна вважати такі групи мутацій: структури стебла, пагонів і листя; будови квітки; забарвлення пелюсток віночка; будови коробочки; фізіологічних змін у процесі росту та розвитку. **Висновки.** Встановлено вплив мутагенів ЕМС, НМС у концентрації 0,01 і 0,05% та ДГ-2 у концентрації 0,5 і 0,05% на сорти чорнушки дамаської 'Берегиня' та 'Чарівниця' за експозиції 6 і 16 годин. Інформативними слід вважати мутації структури стебла, пагонів і листя, забарвлення пелюсток віночка, будови квітки та коробочки, а також ті, що зумовлюють порушення синтезу хлорофілу.

Ключові слова: чорнушка дамаська; мутаген; метилметансульфонат; нітрозометилсечовина; ЕМС; НМС; ДГ-2.

Вступ

Рід *Nigella* L. (*Ranunculaceae*) містить приблизно 20 видів [1], що здебільшого є бур'янами, які також використовують у традиційній медицині. Регіони походження виду Чорнушка дамаська (*Nigella damascena*) – Середземномор'я та Західна Азія. Натепер цю рослину вирощують як декоративну в помірних широтах Європи [3, 4]. Насіння чорнушки активно застосовують у лікувальних цілях, оскільки воно містить такі біологічно активні сполуки, як гермакрен А, відомий своєю антимікробною активністю, та дамасценін – алкалоїд із жарознижувальними, болезаспокійливими і протинабряковими властивостями. Крім того, завдяки суничному запаху й ефірам капронової та масляної кислот його використовують як пря-

нощі, харчовий консервант, добавку, барвник, ароматизатор й інсектицид [6, 7]. Також насіння багате на жирні кислоти (лінолеву, олеїнову, пальмітинову) й білки (альбумін, глютеїн, глобулін) [5]. Чорнушка дамаська має попит завдяки великій кількості корисних властивостей, а тому площі під її вирощування збільшуються [8–10]. Водночас зростає потреба у створенні нових сортів цієї рослини та застосуванні методів селекції, які б дали змогу отримувати їх у найкоротші терміни. Наприклад, метод індукованого мутагенезу, ефективно застосований для підвищення продуктивності та збільшення мінливості морфологічних і фізіологічних ознак у процесі створення нових сортів рослин.

Для математично-статистичної оцінки результатів мутагенезу широко використовують дисперсійний аналіз [11–15]. На першому етапі враховують усі мутантні зміни, успадковані наступними поколіннями. Для подальшого аналізу та селекції важливо ві-

Yuliya Hubanova
<https://orcid.org/0000-0001-9325-1199>

дібрати найбільш інформативні групи мутаційних ознак. У процесі досліджень такий відбір здійснювали, послуговуючись Методикою оцінки впливу мутагенів, на основі рангової кореляції ρ -Спірмена.

Мета досліджень – провести статистичний аналіз частоти мутацій у поколінні M_2 чорнушки дамаської сортів ‘Берегиня’ та ‘Чарівниця’ з метою виявлення взаємовідношень між групами мутацій та обґрунтування їх використання для подальшого аналізу та відбору спадкових змін мутантних рослин.

Матеріали та методика досліджень

У процесі досліджень використовували повітряно-сухе насіння чорнушки дамаської, надане Дослідною станцією лікарських рослин (ДСЛР) Інституту агроєкології і природокористування Національної академії аграрних наук України. А саме: насіння сорту іноземної селекції ‘Берегиня’ та сортосрезка селекції ДСЛР ‘Чарівниця’. Його обробляли хімічними мутагенами – етилметансульфонатом (ЕМС), нітрозометилсечовиною (НМС) та ДГ-2 (комплекс 3-N,N-диметиламіноссульфолана з диметилом) [16].

Насіння (по 350 у кожному з варіантів) в бавовняних мішечках замочували у водних розчинах ЕМС, НМС (0,01 і 0,05%) та ДГ-2 (0,5 і 0,05%). Як контроль використовували замочене в дистильованій воді насіння відповідного сорту. Після обробки тривалістю 6 і 16 годин насіння кожного варіанту промивали протягом години під проточною водою і того ж дня висівали рядами довжиною 2,5 м із шириною міжрядь 20 см. Перед цвітінням рослини ізолювали за допомогою окремих мікроперфорованих поліпропіленових мішечків для самозапилення. Спостереження за рослинами у дослідних і контрольних групах здійснювали на дослідних ділянках Інституту олійних культур НААН протягом 2019–2021 рр.

Схема посіву чорнушки у другому мутантному поколінні: довжина ряду – 1,5 м, відстань між рядами – 0,3 м, відстань між ярусами – 0,5 м. Схема посіву чорнушки у третьому мутантному поколінні: довжина ряду – 1 м, відстань між рядами – 0,4 м, відстань між ярусами – 0,5 м. Рослини регулярно пропалювали вручну, але не поливали, не удобрювали й не обробляли пестицидами.

Посів у поколіннях M_2 та M_3 проводили в польових умовах посімейно: сім'я у M_2 – потомство однієї рослини з покоління M_1 (всі коробочки з одного ізолятора з однієї рослини після самозапилення); сім'я в M_3 –

потомство однієї сім'ї з M_2 (після самозапилення в ізоляторах). У поколінні M_2 висіяно по 100 сімей кожного варіанта обробки, крім оброблених нітрозометилсечовиною, яка сильно вплинула на виживання рослин. Зокрема, у сорту ‘Берегиня’ за експозиції 6 годин – 67 сімей, якщо концентрація нітрозометилсечовини становить 0,01%, і 17 сімей при концентрації 0,05%. У того ж сорту за 16-годинної експозиції та концентрації нітрозометилсечовини 0,01% – 13 сімей, а за концентрації 0,05% – 10 сімей. У сорту ‘Чарівниця’ за експозиції 6 годин – 64 сім'ї, якщо концентрація нітрозометилсечовини становить 0,01%, та 40 сімей при концентрації 0,05%. У того ж сорту за 16-годинної експозиції та концентрації нітрозометилсечовини 0,01% – 25 сімей, а за концентрації 0,05% – 0 сімей (всі рослини загинули).

Упродовж вегетаційного періоду проводили фенологічні спостереження, виокремлювали рослини зі зміненими морфологічними та фізіологічними ознаками, перевіряли успадкування виділених змін у наступному поколінні, вели облік усіх видів мутацій на кожній стадії росту та розвитку.

Мутаціями вважали лише ті зміни ознак, що успадковувались у наступних поколіннях та не простежувалися в контрольній групі. Підтвердження спадкового характеру досліджуваних ознак отримували, аналізуючи наступне покоління рослин. Для визначення частоти мутацій обчислювали відсоток сімей із мутаціями від загальної кількості висіяних. Враховували лише зміни, успадковані в поколінні M_3 . Математично-статистичну обробку даних проводили, використовуючи пакет аналізу MS Excel та рангову кореляцію ρ -Спірмена [17, 18].

Результати досліджень

У результаті дії мутагенів у поколінні M_2 виділено широкий спектр видимих мутацій, а саме:

I група – мутації з порушенням синтезу хлорофілу: фенотипічний прояв успадкованих видозмін у забарвленні сім'ядолей, листя, стебел і пагону рослини (рис. 1);

II група – мутації у забарвленні стебла, пагонів і листя: фенотипове збільшення інтенсивності успадкованого антоціанового забарвлення, порівнюючи з контролем (рис. 6, 7);

III група – мутації у забарвленні коробочок: фенотипове збільшення інтенсивності успадкованого антоціанового забарвлення, порівнюючи з контролем (рис. 8);

IV група – мутації структури стебла, пагонів і листя: спадкові зміни форми, довжини, ширини, висоти, габітусу тощо (рис. 2);

V група – мутації в будові квітки (всієї або частини): спадкові зміни форми, пропорцій, деформації тощо (рис. 3);

VI група – мутації в будові коробочки: спадкові зміни форми, пропорцій, деформації тощо (рис. 4);

VII група – мутації в забарвленні пелюток (рис. 5) та видозмінених чашолистків квітки (спадкові зміни) [19];

VIII група – мутації росту та розвитку рослин: спадкові зміни термінів цвітіння і плодоношення, стійкості до вилягання та стерильності.

Як контроль використовували замочене в дистильованій воді насіння відповідного сорту.

Для виділення та систематизації мутацій послуговувалися класифікацією [20, 21], з якої було взято I, IV, V, VI, VII та VIII групи. Водночас на підставі того, що у процесі досліджень зміни антоціанового забарвлення рослин успадковувалися й відрізнялися від ознак контролю, введено нові групи мутацій (II і III) (рис. 6, 7). Показники частоти мутацій залежно від сорту, мутагену та його концентрації наведено в таблиці 1.

Відмінності між групами оцінювали кореляційним методом та застосовували коефіцієнт рангової кореляції (коефіцієнт кореляції рангів) ρ -Спірмена, оскільки всі вибірки не відповідають нормальному розподілу.

Цей коефіцієнт використовують для дослідження зв'язку між рядами даних, ви-



Рис. 1.

a – контрольні рослини ('Чарівниця'),
b-f – рослини з хлорофільними мутаціями

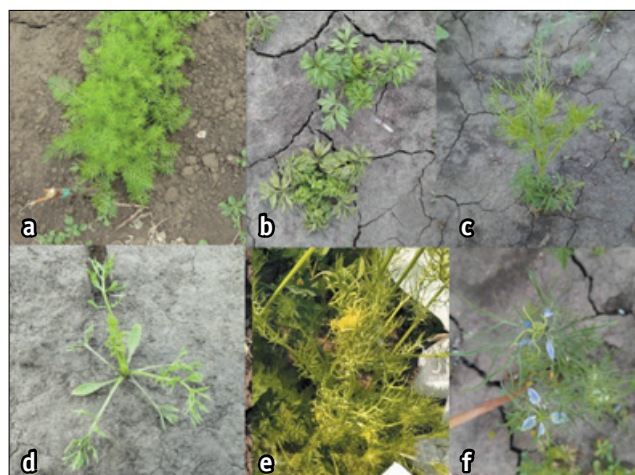


Рис. 2.

a – контрольні рослини ('Берегиня'),
b-f – рослини з мутаціями структури стебла,
пагонів і листя

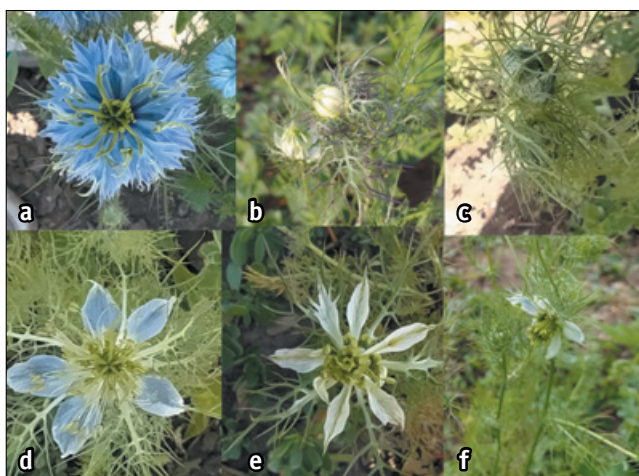


Рис. 3.

a – контрольні рослини сорту 'Чарівниця',
b – контрольні рослини сорту 'Берегиня',
c-f – мутації в будові квітки

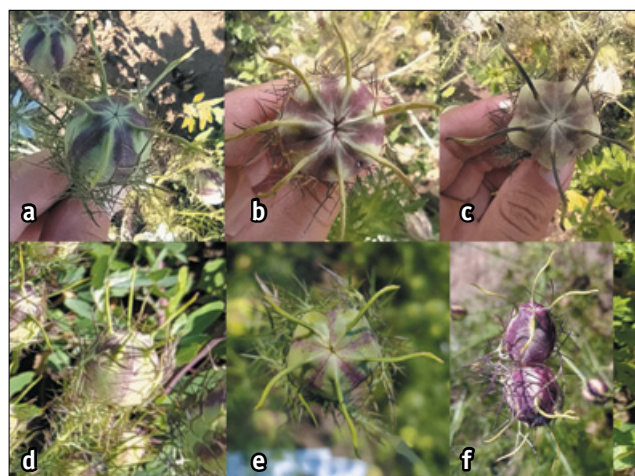


Рис. 4.

a – контрольні рослини сорту 'Чарівниця',
b – контрольні рослини сорту 'Берегиня',
c-f – рослини з мутаціями в будові коробочки

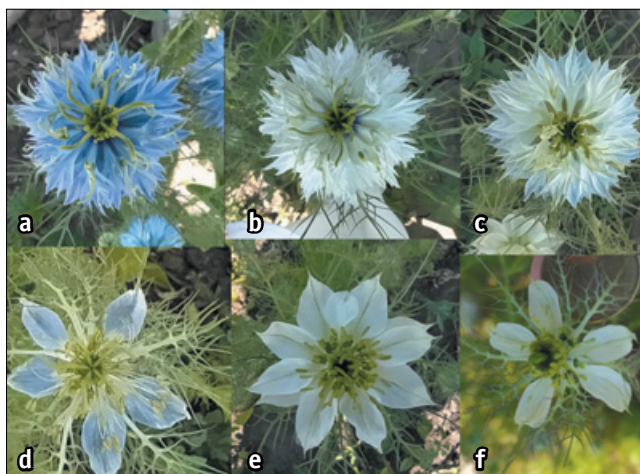


Рис. 5.

а – контрольні рослини сорту 'Чарівниця',
 б-с – рослини з мутаціями в забарвленні пелюсток,
 д – контрольні рослини сорту 'Берегиня',
 е-ф – рослини з мутаціями в забарвленні пелюсток

мірянних у порядковій шкалі. Маючи значення у діапазоні від -1 до +1, він фактично

i є коефіцієнтом кореляції r -Пірсона, обчисленим за рангами змінних після попереднього ранжування (сортування), якщо статистичні ряди не відповідають нормальному статистичному розподілу або кількісно надто малі ($n \geq 3$).

Перед застосуванням рангової кореляції ρ -Спірмена здійснюють ранжування вибірових значень показників, використовуючи статистичну функцію пакета аналізу MS Excel РАНГ.СР та водночас надаючи рівним різницям середні арифметичні значення їхніх рангів. Під час досліджень не спостерігали повторення рангів, тому коефіцієнт кореляції ρ -Спірмена виражали залежністю (1) [22]

$$\rho = 1 - 6 \sum d_i^2 / [n(n^2 - 1)], \quad (1)$$

де: d_i – різниця рангів двох ознак i -го елемента вибірки;

n – кількість пар кореляційного комплексу.



Рис. 6. Рослини сорту 'Берегиня' з мутаціями забарвлення стебла, пагонів і листя (II група)



Рис. 7. Рослини сорту 'Чарівниця' з мутаціями забарвлення стебла, пагонів і листя (II група)



Рис. 8. Рослини з мутаціями в забарвленні коробочок (III група)

Таблиця 1

Показники частоти мутацій залежно від сорту, мутагену та його концентрації, переформатовані для кореляційного аналізу груп, %

Експозиція, години	Мутаген	Концентрація	Група								Сума
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
‘Берегиня’											
6	EMS	0,01	0	2	1	4	0	3	0	0	10
		0,05	2	4	0	5	1	7	1	4	24
	NMU	0,01	3	3	3	0	0	0	0	3	12
		0,05	0	0	5,9	5,88	0	0	0	5,88	17,66
DG-2	0,01	0	2	8	6	3	5	0	0	24	
	0,05	1	4	6	3	2	3	0	2	21	
16	EMS	0,01	1	2	3	0	0	3	2	1	12
		0,05	4	4	9	11	0	6	2	3	39
	NMU	0,01	7,7	15,4	15,4	15,4	0	7,7	0	7,7	69,3
		0,05	30	20	20	30	0	10	0	20	130
	DG-2	0,01	5	6	13	8	1	10	4	5	52
		0,05	4	4	8	5	0	4	3	0	26
‘Чарівниця’											
6	EMS	0,01	2	2	5	1	0	3	0	1	14
		0,05	3	4	5	3	0	3	0	2	20
	NMU	0,01	1,6	0	4,7	0	0	6,3	0	1,6	14,2
		0,05	7,5	7,5	7,5	2,5	0	7,5	0	2,5	35
DG-2	0,01	7	4	6	7	2	1	0	0	27	
	0,05	5	2	3	7	1	2	0	0	20	
16	EMS	0,01	7	3	5	2	2	2	0	4	25
		0,05	8	5	9	6	2	4	0	6	40
	NMU	0,01	4	4	8	16	0	4	0	16	52
		0,05									
	DG-2	0,01	10	4	14	13	6	10	4	4	65
		0,05	2	2	9	7	4	5	2	2	35

Оскільки кореляція ρ -Спірмена враховує різницю лише ранжованих, а не фактичних вибірових значень x та y , цей коефіцієнт

менш точний ніж лінійний r -Пірсона, проте досить близький до нього за результативністю [23].

Коефіцієнт емпіричних досліджень t -рангової кореляції Спірмена, якщо кількість пар спостережень – $n \leq 100$, розраховують за формулою (2) [24]

$$t_{\text{емп}} = \rho \sqrt{(n - 1)/(1 - \rho^2)} \quad (2)$$

Рівень статистичної значущості p коефіцієнта ρ -Спірмена обчислюють на основі отри-

маного $t_{\text{емп}}$, використовуючи двосторонній t -критерій Стьюдента зі ступенем вільності $n = n - 2$. Його визначають за статистичною функцією `СТЬЮДЕНТ.РАСП.2X` пакета програм MS Excel [25].

Результати розрахунків рангової кореляції ρ -Спірмена (коефіцієнти кореляції мутацій у межах групи та емпіричні рівні їхньої статистичної значущості) наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Коефіцієнти кореляції для різних груп мутацій та емпіричні рівні статистичної значущості

Група мутацій	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
I	1							
II	0,752 $3,540 \times 10^{-5}$	1						
III	0,5818 0,004	0,613 0,002	1					
IV	0,5034 0,014	0,491 0,017	0,739 $5,616 \times 10^{-5}$	1				
V	0,140 0,522	-0,008 0,970	0,220 0,314	0,228 0,294	1			
VI	0,399 0,060	0,552 0,006	0,623 0,002	0,474 0,022	0,072 0,746	1		
VII	0,070 0,7525	0,112 0,612	0,273 0,207	0,213 0,329	0,214 0,326	0,437 0,037	1	
VIII	0,474 0,022	0,538 0,008	0,495 0,016	0,447 0,033	-0,080 0,717	0,391 0,065	-0,002 0,993	1

У верхній частині комірок таблиці 2 подано величину рангової кореляції ρ -Спірмена, розраховану за виразом (1), у нижній – рівень її емпіричної значущості, обчислений за формулою (2) з подальшою оцінкою за двостороннім t -критерієм Стьюдента. Статистично значущі результати з рівнем меншим за загальноприйнятий $\alpha = 0,05$ виділено жирним шрифтом.

Отже, статистично значущими є кореляції між групами мутацій:

- I з II–IV та VI і VIII;
- II з III, IV, VI і VIII;

- III з IV, VI і VIII;
- IV з VII і VIII.

Величина статистично значущих кореляцій із рівнями від $3,540 \times 10^{-5}$ до **0,037** коливається в межах **0,437–0,752**. Кореляції між групами I і II та III і IV становлять **0,572** і **0,739** відповідно, за рівнів статистичної значущості $3,540 \times 10^{-5}$ і $5,616 \times 10^{-5}$.

Водночас мутаційна група V не корелює з жодною іншою, а VI – лише з VII.

Якщо при регресійному аналізі коефіцієнт кореляції факторів більший ніж **0,7** (високий за шкалою Чеддока), необхідно залишати групу з сильнішою кореляцією із залежною ознакою [26]. Втім у проведеному дослідженні навпаки лишали групи з найменшими кореляціями.

За даними, наведеними в таблиці 2, II група корелює з чотирма іншими, I – з трьома (з меншими значеннями кореляцій), III – з чотирма, IV – з чотирма, проте з менш значущими величинами кореляцій. Отже, варто вилучити групи II і III.

У результаті кореляційна таблиця набуває нового вигляду (табл. 3).

Висновки

Статистично значущі величини кореляцій між частотами мутацій (вплив мутагенів на

Таблиця 3

Оновлені коефіцієнти кореляції для різних груп мутацій та емпіричні рівні статистичної значущості

Група мутацій	I	IV	V	VI	VII	VIII
I	1					
IV	0,503 0,014	1				
V	0,141 0,522	0,228 0,294	1			
VI	0,399 0,060	0,474 0,023	0,072 0,746	1		
VII	0,070 0,752	0,213 0,329	0,214 0,326	0,437 0,037	1	
VIII	0,474 0,022	0,447 0,033	-0,080 0,717	0,391 0,065	-0,002 0,993	1

рослини чорнушки) коливаються в межах 0,437–0,752 з рівнями значущості від $3,540 \times 10^{-5}$ до 0,037.

За даними, наведеними в таблицях 2 і 3, група мутацій V не подібна до жодної іншої, а VI корелює виключно з VII. Тому є підстави вважати, що ці групи можуть бути достовірними джерелами інформації у процесі майбутніх селекційних досліджень із рослинами чорнушки.

Для подальшого аналізу доцільні мутації груп IV і VIII, оскільки коефіцієнти кореляції між ними не перевищують значення 0,5. Водночас I група не несе суттєвої інформації.

Групи мутацій із підвищеним вмістом антоціанів у вегетативних і генеративних органах рослин чорнушки дамаської сортів 'Берегиня' та 'Чарівниця' буде виключено з подальшого відбору вихідного матеріалу для селекції.

Використана література

- Boubertakh B., Liu X. G., Cheng X. L., Li P. A spotlight on chemical constituents and pharmacological activities of *Nigella glandulifera* Freyn et Sint Seeds. *Journal of Chemistry*. 2013. Vol. 2013. Article ID 820183. doi: 10.1155/2013/820183
- D'Antuono L. F., Moretti A., Lovato A. F. S. Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Journal of Chemistry*. 2002. Vol. 15, Iss. 1. P. 59–69 doi: 10.1016/S0926-6690(01)00096-6
- Jabbour F., Udron M., Le Guilloux M. et al. Flower development schedule and AGAMOUS-like gene expression patterns in two morphs of *Nigella damascena* (Ranunculaceae) differing in floral architecture. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2015. Vol. 178, Iss. 4. P. 608–619. doi: 10.1111/boj.12297
- Liao H., Fu X., Zhao H. et al. The morphology, molecular development and ecological function of pseudonectaries on *Nigella damascena* (Ranunculaceae) petals. *Nature Communications*. 2020. Vol. 11, Iss. 1. Article 1777. doi: 10.1038/s41467-020-15658-2
- Telci S. I., Sahin-Yagliglu A., Eser F. et al. Comparison of seed oil composition of *Nigella sativa* L. and *N. damascena* L. during seed maturation stages. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2014. Vol. 91, Iss. 10. P. 1723–1729 doi: 10.1007/s11746-014-2513-3
- Hussain S., Fareed S., Ansari S. et al. Current approaches toward production of secondary plant metabolites. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*. 2012. Vol. 4, Iss. 1. P. 10–20. doi: 10.4103/0975-7406.92725
- Klimek-Chodacka M., Kadluczka D., Lukasiewicz A. et al. Effective callus induction and plant regeneration in callus and protoplast cultures of *Nigella damascena* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2020. Vol. 143, Iss. 3. P. 693–707. doi: 10.1007/s11240-020-01953-9
- Charles D. J. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. New York, NY : Springer 2013. 612 p. doi: 10.1007/978-1-4614-4310-0
- Noor N. A., Fahmy H. M., Mohammed F. F. et al. *Nigella sativa* ameliorates inflammation and demyelination in the experimental autoimmune encephalomyelitis-induced Wistar rats. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2015. Vol. 8, Iss. 6. P. 6269–6286.
- Sieniawska E., Sawicki R., Golus J. et al. *Nigella damascena* L. Essential Oil – A Valuable Source of β -Elemene for Antimicrobial Testing. *Plant Cell, Molecules*. 2018. Vol. 23, Iss. 2. Article 256. doi: 10.3390/molecules23020256
- Saha S., Paul A. Radiation induced mutagen sensitivity and chlorophyll mutation frequency on sesame seeds. *Journal of Environmental Biology*. 2019. Vol. 40, Iss. 2. P. 252–257. doi: 10.22438/jeb/40/2/MRN-726
- Pavada P., Girija M., Dhanavel D. Effect of gamma rays on some yield parameters and protein content of soybean in M_2 , M_3 and M_4 generation. *Journal of Experimental Sciences*. 2010. Vol. 1, Iss. 6. P. 08–11.
- Selvam Y. A., Elangaimannan R., Venkatesan M. et al. Chemically induced mutagenesis in Blackgram (*Kigna mungo* (L.) Hepper). *Electronic Journal of Plant Breeding*. 2010. Vol. 1, Iss. 4. P. 921–924.
- Forster B. P., Shu Q. Y. Plant mutagenesis in crop improvement: basic terms and applications. *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Wallingford, UK : CAB International, 2012. P. 9–20. doi: 10.1079/9781780640853.0009
- Aslam R., Bhat T. M., Choudhary S. et al. Estimation of genetic variability, mutagenic effectiveness and efficiency in M_2 flower mutant lines of *Capsicum annuum* L. treated with caffeine and their analysis through RAPD markers. *Journal of King Saud University-Science*. 2017. Vol. 29, Iss. 3. P. 274–283. doi: 10.1016/j.jksus.2016.04.008
- Tigova A. V., Soroka A. I., Dulnev P. G. Direction of genetic changes under the influence of new dimethyl sulfate derivatives in oil flax. *Cytology and Genetics*. 2022. Vol. 56, Iss. 1. P. 46–56. doi: 10.3103/S0095452722010121
- Кисельов О. В., Комарова І. Б., Мілько Д. О., Бакарджиев Р. О. Статистична обробка і оцінювання результатів експериментальних досліджень (із досвіду написання дисертаційних робіт) / за ред. Д. О. Мілька. Запоріжжя : СТАТУС, 2017. 1181 с.
- Wasserman L. All of statistics: a concise course in statistical inference. New York, NY : Springer, 2004. 462 p.
- Jabbour F., Udron M., Le Guilloux M. et al. Flower development schedule and AGAMOUS-like gene expression patterns in two morphs of *Nigella damascena* (Ranunculaceae) differing in floral architecture. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2015. Vol. 178, Iss. 4. P. 608–619. doi: 10.1111/boj.12297
- Моргун В. В., Логвиненко В. Ф. Мутаційна селекція пшениці. Київ : Наукова думка, 1995. 621 с.
- Тігова А., Сорока А. Використання нових похідних диметилсульфату для отримання спадкових змін у льону олійного. *Вісник аграрної науки*. 2019. Т. 97, № 4. С. 52–59. doi: 10.31073/agroviznyk201904-08
- Урбах В. Ю. Биометрические методы. Москва : Наука, 1964. 415 с.
- Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., перераб. и доп. Москва : Агропромиздат, 1985. 351 с.
- Бахрушин В. С. Методи аналізу даних. Запоріжжя : КПУ, 2011. 268 с.
- Лапач А. В., Чубенко П. Н., Бабич С. М. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев : МОРИОН, 2001. 408 с.
- Опря А. Т. Статистика (модульний варіант з програмованою формою контролю знань). Київ : Центр учбової літератури, 2012. 448 с.

References

- Boubertakh, B., Liu, X. G., Cheng, X. L., & Li, P. (2013). A spotlight on chemical constituents and pharmacological activities of *Nigella glandulifera* Freyn et Sint Seeds. *Journal of Chemistry*, 2013, Article ID 820183. doi: 10.1155/2013/820183
- D'Antuono, L. F., Moretti, A., & Lovato, A. F. S. (2002). Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Journal of Chemistry*, 15(1), 59–69. doi: 10.1016/S0926-6690(01)00096-6
- Jabbour, F., Udron, M., Le Guilloux, M., Goncalves, B., Manicacci, D., Nadot, S., & Damerval, C. (2015). Flower development

- schedule and AGAMOUS-like gene expression patterns in two morphs of *Nigella damascena* (Ranunculaceae) differing in floral architecture. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 178(4), 608–619. doi: 10.1111/boj.12297
4. Liao, H., Fu, X., Zhao, H., Cheng, J., Zhang, R., Yao, X., ... Kong, H. (2020). The morphology, molecular development and ecological function of pseudonectaries on *Nigella damascena* (Ranunculaceae) petals. *Nature Communications*, 11(1), Article 1777. doi: 10.1038/s41467-020-15658-2
 5. Telci, S. I., Sahin-Yaglioglu, A., Eser, F., Aksit, H., Demirtas, I., & Tekin, S. (2014). Comparison of seed oil composition of *Nigella sativa* L. and *N. damascena* L. during seed maturation stages. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(10), 1723–1729. doi: 10.1007/s11746-014-2513-3
 6. Hussain, S., Fareed, S., Ansari, S., Rahman, A., Ahmad, Z., & Saeed, M. (2012). Current approaches toward production of secondary plant metabolites. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 4(1), 10–20. doi: 10.4103/0975-7406.92725
 7. Klimek-Chodacka, M., Kadluczka, D., Lukaszewicz, A., Malec-Pala, A., Baranski, R., & Grzebelus, E. (2020). Effective callus induction and plant regeneration in callus and protoplast cultures of *Nigella damascena* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 143(3), 693–707. doi: 10.1007/s11240-020-01953-9
 8. Charles, D. J. (2013). *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. New York, NY: Springer. doi: 10.1007/978-1-4614-4310-0
 9. Noor, N. A., Fahmy, H. M., Mohammed, F. F., Radwan, N. M., & Elsayed, A. A. (2015). *Nigella sativa* ameliorates inflammation and demyelination in the experimental autoimmune encephalomyelitis-induced Wistar rats. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(6), 6269–6286.
 10. Sieniawska, E., Sawicki, R., Golus, J., Swatko-Ossor, M., Ginalska, G., & Skalicka-Wozniak, K. (2018). *Nigella damascena* L. Essential Oil – A Valuable Source of β -Elemene for Antimicrobial Testing. *Plant Cell, Molecules*, 23(2), Article 256. doi: 10.3390/molecules23020256
 11. Saha, S., & Paul, A. (2019). Radiation induced mutagen sensitivity and chlorophyll mutation frequency on sesame seeds. *Journal of Environmental Biology*, 40(2), 252–257. doi: 10.22438/jeb/40/2/MRN-726
 12. Pavada, P., Girija, M., & Dhanavel, D. (2010). Effect of gamma rays on some yield parameters and protein content of soybean in M_2 , M_3 and M_4 generation. *Journal of Experimental Sciences*, 1(6), 08–11.
 13. Selvam, Y. A., Elangaimannan, R., Venkatesan, M., Karthikeyan, P., & Palaniraja, K. (2010). Chemically induced mutagenesis in Blackgram (*Kigna mungo* (L.) Hepper). *Electronic Journal of Plant Breeding*, 1(4), 921–924.
 14. Forster, B. P., & Shu, Q. Y. (2012). Plant mutagenesis in crop improvement: basic terms and applications. In *Plant mutation breeding and biotechnology* (pp. 9–20). Wallingford, UK: CABI. doi: 10.1079/9781780640853.0009
 15. Aslam, R., Bhat, T. M., Choudhary, S., Ansari, M. Y. K., & Shahrwar, D. (2017). Estimation of genetic variability, mutagenic effectiveness and efficiency in M_2 flower mutant lines of *Capsicum annum* L. treated with caffeine and their analysis through RAPD markers. *Journal of King Saud University-Science*, 29(3), 274–283. doi: 10.1016/j.jksus.2016.04.008
 16. Tigova, A. V., Soroka, A. I., & Dulnev, P. G. (2022). Direction of genetic changes under the influence of new dimethyl sulfate derivatives in oil flax. *Cytology and Genetics*, 56(1), 46–56. doi: 10.3103/S0095452722010121
 17. Kyselov, O. V., Komarova, I. B., Milko, D. O., & Bakardzhyiev, R. O. (2017). *Statistical processing and evaluation of the results of experimental studies (from the knowledge of the writing of dissertation studies)*. D. O. Milko (Ed.). Zaporizhzhia: STATUS. [In Ukrainian]
 18. Wasserman, L. (2004). *All of statistics: a concise course in statistical inference*. New York, NY: Springer.
 19. Jabbour, F., Udron, M., Le Guilloux, M., Gonçalves, B., Manicacci, D., Nadot, S., & Damerval, C. (2015). Flower development schedule and AGAMOUS-like gene expression patterns in two morphs of *Nigella damascena* (Ranunculaceae) differing in floral architecture. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 178(4), 608–619. doi: 10.1111/boj.12297
 20. Morgun, V. V., & Logvinenko, V. F. (1995). *Mutatsyonnaya selektsiya pshenitsy [Mutational breeding of wheat]*. Kyiv: Naukova dumka. [In russian]
 21. Tigova, A. V., & Soroka, A. I. (2019). Use of new derivatives of dimethyl sulphate for deriving hereditary variations at oil flux. *Bulletin of Agricultural Science*, 97(4), 52–59. doi: 10.31073/agrovisnyk201904-08
 22. Urbakh, V. U. (1964). *Biometricheskiye metody [Biometric methods]*. Moscow: Nauka. [In russian]
 23. Dospekhov, B. A. (1985) *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy) [Field experience methodology (with the basics of statistical processing of research results)]* (5th ed., rev. and enl.). Moscow: Agropromizdat. [In russian]
 24. Bakhrushyn, V. S. (2011) *Metody analizu danykh [Methods of data analysis]*. Zaporizhzhia: KPU. [In Ukrainian]
 25. Lapach, S. M., Chubenko, A. V., & Babich, P. N. (2001). *Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh z ispol'zovaniyem Excel [Statistics methods in biomedical research using Excel]*. Kyiv: MORION. [In russian]
 26. Opria, A. T. (2012). *Statystyka (modulnyi variant z prohramovanoi formoiu kontroliu znan) [Statystyka (a modular version with a programmatic form of knowledge control)]*. Kyiv: Tsentruchovoiv literatury. [In Ukrainian]

UDC 575.224.4:581.14

Hubanova, Yu. S. (2023). Evaluation of informativeness of mutation groups of *Nigella damascena* L. M_2 generation. *Plant Varieties Studying and Protection*, 19(1), 15–23. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.19.1.2023.277767>

Institute of Oil Crops, NAAS of Ukraine, 1 Instyutyska St., village Soniachne, Zaporizhzhia district, Zaporizhzhia region, 69055, Ukraine, e-mail: purpurata77@gmail.com

Purpose. To carry out a mathematical and statistical evaluation of the mutagenesis data of the M_2 generation of *Nigella damascena* varieties 'Berehynia' and 'Charivnytsia' in order to identify relationships between groups of mutations and mathematical justification of their use in the process of further analysis and selection of hereditary changes of mutant plants. **Methods.** Seeds of the varieties 'Berehynia' and 'Charivnytsia' were treated with chemical mutagens. The mutations identified by visual observation of the plants at different stages of their growth and development were

divided into eight groups. In each group of each treatment option, the frequency of mutations was calculated as a function of the type of mutagen, its concentration and exposure time. The mathematical and statistical evaluation of the results was carried out using the MS Excel analysis package and Spearman's rank correlation. **Results.** The mutational difference in the M_2 generation between eight groups of *Nigella damascena* varieties 'Berehynia' and 'Charivnytsia' under the influence of the mutagens ethyl methanesulfonate, nitrosomethylurea and the new chemical mutagen DG-2 (a

complex of 3-N,N-dimethylamino sulfonane with dimethyl) was identified and evaluated. It was found that the correlation value of the mutagenic effects ranged from 0.437 to 0.752 with significance levels from 3.540×10^{-5} to 0.037. The following groups of mutations can be considered informative: stem, shoot and leaf structures; flower structure; colour of the corolla petals; structure of the capsule; physiological changes in the process of growth and development.

Conclusions. The effect of the mutagens EMS, NMU in con-

centrations of 0.01 and 0.05% and DG-2 in concentrations of 0.5 and 0.05% was determined on *Nigella damascena* varieties 'Berehynia' and 'Charivnytsia' after exposure for 6 and 16 hours. Mutations in the structure of the stem, shoots and leaves, the colour of the petals of the corolla, the structure of the flower and capsule, and those causing a violation of chlorophyll synthesis should be considered informative.

Keywords: *Nigella damascena*; mutagen; ethyl methane-sulfonate; nitrosomethylurea; EMS; NMU; DG-2.

Надійшла / Received 20.02.2023

Погоджено до друку / Accepted 14.03.2023