

Легкун Ігор Борисович

науковий співробітник,

СГІ – НЦ НС

СТВОРЕННЯ І ОЦІНКА СОРТІВ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЮ НА ГРУПОВУ СТІЙКІСТЬ ДО САЖКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Виявлено моногенний домінуючий контроль стійкості до чорної та твердої видів сажки. У F_2 дигібридного аналізуючого схрещування, доля рекомбінацій спостерігалася у межах 5,0-8,7%. Робиться висновок про неповне зчеплене цих генів.

Monogenous dominant control of resistance to the nigra loose and covered species of smuts is revealed. The part of recombinations in F_2 dihybridous analytic cross was observed in the limits of 5,1 – 9,5. Conclusion about incomplete linkage of these genes is made.

Вступ. У виробництві зерна озимого ячменю суттєві витрати ідуть на хімічні заходи захисту рослин, причому, якщо із забур'яненістю посівів, шкідниками та листостебловими захворюваннями можна боротися за допомогою дотримання сівозміни та агротехнічних норм, то при боротьбі із сажковими захворюваннями у сучасному виробництві не обійтись без застосування хімічних заходів захисту.

У світовій селекції озимого ячменю до останнього часу проблему стійкості до сажкових захворювань вирішити не вдалося. Першими сортами такого типу стали сорти Зимовий (2005 р.), Достойний, Трудівник, Селенастар, Абориген (2006), Академічний, Айвенго (2012), Буревій (2013), Снігова королева (ДСВ), Дев'ятий вал (ДСВ) створені в СГІ – НЦНС, але природа групової стійкості, до останнього часу, також залишалася недостатньо вивченою.

Матеріал та методика. Вивчення актуальності проблеми резистентності до видів роду *Ustilago* (летючою [*Ustilago nuda* (Jens.) Kell. et Sw.], чорною летючою [*U. nigra* Tapke] та твердою або кам'яною [*U. hordei* (Pers.) Kell. et Sw.]) на озимому ячмені проводилося у 2007-2008 роках, на двох групах сортів – групі сприйнятливих та групі абсолютно резистентних, у чотирьох варіантах: протруєним (системним фунгіцидом Вітавакс 200 ФФ[®]) насінням, не протруєним насінням яке бралось із незаражених посівів, інокульованим сумішшю теліоспор рас летючих видів сажки (очікуємо реакцію імунітету до [*Ustilago nigra* Tapke]) та інокульованим сумішшю теліоспор рас твердої сажки (очікуємо реакцію імунітету до [*Ustilago hordei*]) насінням по п'ятдесят зернівок. При встановленні впливу патогенів на врожайність рослин враховувались приховані (енергія проростання, схожість) і прямі втрати зерна.

Успадковування резистентності вивчали у гібридних поколіннях F_1 – F_2 одержаних від схрещування донорів с.і. 13664 (носії гену Un 8), Джау Кабутак з сортами сприйнятливими до сажкових захворювань. В схрещування були взяті сорти озимого ячменю Одеський 165, Манас, Тамань і Основа. Визначення зчеплення генів стійкості до чорної летючої та твердої видів сажки проводили за дигібридною схемою на сім'ях другого покоління BC_1 за комбінаціями: (Одеський 165 × с.і. 13664) F_1 × Одеський 165; (Манас × Джау Кабутак) F_1 × Манас; (Тамань × с.і. 13664) F_1 × Тамань;

(Основа × Джау Кабутак) $F_1 \times$ Основа. Підхід полягав у інокулюванні біля 300 рослин F_1 за всіма комбінаціями схрещування методом половинок, окремо чорною летючою та твердою видами сажок.

Величину рекомбінації методом максимальної правдоподібності за Фішером (1958) [1, $p = \frac{a+b}{2(c+d)}$]

де p – частота рекомбінації, a і b – кількість рослин рекомбінантних класів a і b ; c і d – кількість рослин батьківських класів c і d .

Помилку частоти рекомбінації $s_p = (1 + 2p) \sqrt{\frac{p}{2n}}$ за формулою [1, с.176]:

де n – розмір вибірки, p – частота рекомбінацій.

Розрахунок χ^2 для даних розщеплення [1, с.240]: $\chi^2 = \sum \frac{d^2}{q}$

кожне відхилення d від теоретично очікуваного підносять до квадрату, суму квадратів відхилень ділять на теоретично очікуване число q для даного класу.

Оцінку стійкості до популяції місцевих рас рослин F_2 здійснювали після вирощування в польових умовах 2005 року.

Результати досліджень. З літературних джерел [2, с. 7 ; 3, с. 3], відомо що в результаті прямих та прихованих втрат, зниження врожаю ярого ячменю може складати понад 30%, ступень актуальності проблеми стійкості у літературних джерелах висвітлено не повно. Отже, ми розглянули дане питання на прикладі вивчення двох груп сортів – сприйнятливих та абсолютно резистентних до *U. nigrata* *U. hordei* (табл.1)

Знашими даними, в залежності від рівня сприйнятливості сорту, від прихованих та прямих втрат (зниження енергії проростання, схожості та ураження рослин у масиві) абсолютний рівень недобору врожаю становив 44,1 %. Рівень сприйнятливості сортів першої групи, до сажкових патогенів, ознака досить варіабельна.

Що до другої групи сортів, можна говорити про групову стійкість до сажкових патогенів принаймні до двох видів сажки *U. nigrata* *U. hordei*.

Успіх селекції озимого ячменю на стійкість до сажкових захворювань, на прикладі зазначених сортів пов'язаний із залученням донорів стійкості: лінії с.і. 13664 та сорту Джау Кабутак (вперше описаний як вискоефективний донор стійкості).

Про лінію с.і. 13664 носія гену стійкості до летючої сажки Un8 відомо що він (донор) був ефективним також і до чорної летючої та твердої видів сажки [4, с. 107-109].

Рівень ураження сажкових патогенів, при природному інокулюванні, у звичайних польових умовах

Сорт	Енергія проростання, %	Схожість, %	Урожай зерна з 50 рослин, г		Ураження масиву сажкою, %		Підсумкові втрати урожаю, %
			посів насінням не обеззараженим	надбавка врожаю при обеззараженні насіння	<i>U. nuda</i> , <i>U. nigra</i> , %	<i>U. hordei</i> , %	
Рік спостережень 2007 р.							
Пал. 90-55-74	76	82	158,6	+96,3**	17,9	16,2	44,1
Росава	92	96	173,0	+11,2	0,6	1,1	1,7
Основа	88	90	137,8	+33,6**	7,1	9,2	18,3
Метелиця	89	92	126,5	+16,0*	5,3	8,6	13,9
Зимовий	98	98	194,3	-	-	-	-
Трудівник	95	95	173,0	-	-	-	-
Достойний	96	97	168,6	-	-	-	-
СеленаСтар	94	94	187,6	-	0,03	-	-
Рік спостережень 2008 р.							
Пал. 90-55-74	83	88	184,6	+73,7**	15,6	10,2	30,8
Росава	93	95	125,1	+129,8**	0,2	0,9	1,1
Основа	89	92	235,4	+42,2**	5,8	7,4	13,2
Метелиця	90	92	200,7	+46,4**	3,7	9,4	13,1
Зимовий	97	97	211,4	-	-	-	-
Трудівник	93	95	237,0	-	-	-	-
Достойний	99	99	246,2	-	-	-	-
СеленаСтар	96	96	246,8	-	-	-	-

* достовірно при 0,05%

** достовірно при 0,01%

Як зазначають Moseman, Metcalfe [5, с. 38], для ячменю та *U. nuda*, імовірно є характер дії генетичних систем у відповідності із гіпотезою «ген-на-ген».

Отже, починаючи дослідження, ми вже мали апіорні підстави очікувати кілька генетичних факторів стійкості, що і обумовлює резистентність зазначених сортів до сажкових патогенів.

Для визначення природи стійкості джерел с.і. 13664 та Джау Кабуток, як донорів стійкості до чорної та твердої видів сажки, на озимого ячменю, їх було схрещено з чотирма сприйнятливими до зазначених патогенів озимими сортами.

Тип успадкування резистентності гібридами F₁ визначався шляхом оцінювання рослин отриманих від інфікованих зерен (методом половинок) окремо чорною летючою (перший варіант), та твердою (другий варіант) видами сажки.

У першому варіанті не виявлено жодного колосу, який би уразився інфекцією місцевої популяції чорної летючої сажки, тобто, був виявлений домінантний характер успадкування ознаки (табл. 2). Стійкість, яку ми спостерігали, виявилася

високоєфективною до місцевої популяції *U. nigra* (умовно позначили – **Rung**).

Таблиця 2

Характер успадкування резистентності до популяцій місцевих рас чорної летючої сажки (*Ustilago nigra*) у гібридів F₁ і F₂ озимого ячменю при штучному інокулюванні 2004-2005 рр.

Комбінації схрещування	Кількість рослин	Кількість рослин, (шт) ушкоджених	Зимостійкість, %	Кількість рослин	Фактичне розщеплення, (шт.)		Теоретично очікуване розщеплення, (шт.)		χ^2 1:1
					резистентних	сприйнятливих	резистентних	сприйнятливих	
Одеський 165 × с.і. 13664	48	0	75,1	580	441	139	435,0	145,0	0,33
Тамань × с.і. 13664	48	0	73,4	624	476	148	468,0	156,0	0,55
Основа × Джау Кабутак	46	0	68,1	494	374	120	370,3	123,7	0,15
Манас × Джау Кабутак	47	0	69,5	409	296	113	381,7	127,3	20,8

У другому варіанті, при інокулюванні другої половини зерен популяцією місцевих рас твердої сажки, спостерігалася аналогічна картина.

Перше покоління, за усіма комбінаціями схрещувань, при повному колосінні виявилось вільним від інфекції також і твердої сажки (табл. 3).

Нами не було виявлено жодного сорусу збудника, що свідчить про домінуючий ефект проявлення гена, який обумовлює стійкість до *Ustilagohordei* (умовно позначили – **Ruh**).

Розщеплення гібридів F₂ на резистентні й сприйнятливі у всіх комбінаціях схрещування спостерігалось у співвідношенні близькому 3:1.

Отже, успадкування резистентності до обох видів патогену (за обома донорами стійкості) відбувалося моногенно.

Характер успадкування резистентності до популяцій місцевих рас твердої сажки у гібридів F₁ і F₂ озимого ячменю при штучному інокулюванні 2004-2005 рр.

Комбінації схрещування	Кількість рослин		Зимостійкість, %	Кількість рослин	Фактичне розщеплення, (шт.)		Теоретично очікуване розщеплення, (шт.)		χ ² 1:1	
	резистентних	ушкоджених			резистентних	сприйнятливих	резистентних	сприйнятливих		
	F ₁			F ₂						
Одеський 165 × с.і. 13664	47	98	0	72,4	530	407	123	397,3	132,7	0,95
Тамань × с.і. 13664	41	99	0	73,1	512	391	121	384,0	128,0	0,51
Основа × Джау Кабутак	45	88	0	69,8	489	370	119	366,7	122,3	0,12
Манас × Джау Кабутак	40	86	0	70,7	496	377	119	371,7	124,3	0,30

Припустімо, це два самостійних гени і знаходяться вони не в різних, а в одній гомологічній парі хромосом.

Для встановлення наявності зчеплення генів стійкості до зазначених патогенів були проведені аналізуючі схрещування BC₁ (F₁ × батьківський сприйнятливий сорт) носіїв генів:

$$\frac{\text{Rung Ruh}}{\text{rung ruh}} \times \frac{\text{rung ruh}}{\text{rung ruh}}$$

Оцінка стійкості до сажкових патогенів, BC₁ була коректною лише у аналізі сімей другого покоління (F''₂).

Гібриди BC₁ F''₁ було обмолочено порослинно, зерна розділені пополам та штучно заражені (методом половинок) місцевими популяціями: першу половину чорною летючою, другу – твердою видами сажки.

За апостеріорною постановою досліджу випадку незалежного успадкування, мали б очікувати чотири фенотипових класи у співвідношенні (1:1:1:1) у випадку зчепленого 3:1.

Польова оцінка полягала в обліку фенотипових класів (табл. 4). Отже, зазначимо, нами дійсно було отримано чотири фенотипових класи, але цікавим при цьому виявилось їх співвідношення. У абсолютній більшості

Дигібридний аналіз спадкування стійкості до місцевих популяцій рас чорної летючої та твердої видів сажки на рослинах F₂, 2006 р.

Комбінація схрещування	Кількість ($\frac{\text{Rung Ruh}}{\text{rung ruh}}$)			Кількість номерів, уражених ($\frac{\text{rung Ruh}}{\text{rung Ruh}}$)		Кількість номерів, уражених ($\frac{\text{Rung ruh}}{\text{Rung ruh}}$)		Кількість номерів сприйнятл. ($\frac{\text{rung ruh}}{\text{rung ruh}}$)		%, рекомбінації	χ^2 1:1:1:1
	n	F ₂	F ₂	%	F ₂	%	F ₂	%	F ₂		
(Од.165 × с.і. 13664) F ₁ × Од. 165	287	207	72,1±2,6	9	3,1±1,7	10	3,5±1,8	61	21,3±2,4	7,1	364,7
(Тамань × с.і. 13664) F ₁ × Тамань	292	215	73,6±2,6	6	2,1±0,8	9	3,1±1,0	62	21,2±2,4	5,1	295,4
(Манас × Джау Кабута) F ₁ × Манас	274	191	69,7±2,8	12	4,4±1,5	14	5,1±1,3	57	20,8±2,5	9,5	310,9
(Основа × Джау Кабута) F ₁ × Основа	281	200	71,2±2,7	12	4,3±1,2	11	3,9±1,2	58	20,6±2,4	8,2	339,8

виявився клас резистентних до обох видів генотипів ($\frac{\text{Rung Ruh}}{\text{rung ruh}}$), близько 70-

ти відсотків з невеликим коливанням між комбінаціями. Наступним за кількістю

виявився клас сприйнятливих генотипів до обох видів сажки ($\frac{\text{rung ruh}}{\text{rung ruh}}$), він склав

близько 20 відсотків із незначним коливанням, на долю рекомбінантних класів

сприйнятливих до чорної летючої але стійкої до твердої ($\frac{\text{rung Ruh}}{\text{rung Ruh}}$) та стійких до

чорної летючої але сприйнятливої до твердої ($\frac{\text{Rung ruh}}{\text{Rung ruh}}$) припала решта відсотків.

Тобто, за результатами гібридологічного аналізу можна зробити висновок про діалельний характер успадкування ознак стійкості до *U. nigra* і *U. hordei* та дуже тісне розташування генів стійкості у хромосомі. Так, відсоток рекомбінації, тобто відсоток імовірності розходження описаних генів під час дуплікації хромосом не перевищує у абсолютному своєму значенні 9,5% (у комбінації [Манас × Джау Кабута] F₁ × Манас).

З практичної точки зору, саме зчепленим успадкуванням генів стійкості обумовлена ефективність використання зазначених донорів у селекції сортів озимого

ячменю на групову стійкість до *U. nigra* *U. hordei*.

При створенні імунного матеріалу нами були об'єднані кілька принципів:

- Пошуку ефективних донорів стійкості до сажкових захворювань, задіяність ярих донорів с.і. 13664 та Джау Кабутак.
- Включення в селекційну програму гібридизації донорів, носіїв ефективних генів резистентності до популяції місцевих рас видів сажки.
- Створення ефективного інфекційного фону в селекції на резистентність до сажкових патогенів.

Озимий ячмінь, як факультативний самозапильвач, через притаманний йому високий відсоток відкритого цвітіння, щорічно проявляє схильність до перехресного типу запилення, при цьому збільшується природне інфекційне навантаження летючими видами сажки як квітки так і плодового мішку.

Успіх селекції у великій мірі залежить від достовірності польової оцінки. Оцінки та добори генотипів на резистентність до летючих видів сажки проводився в умовах штучно посиленого інфекційного навантаження, природнім інкулюванням. Для посилення існуючого природного інфекційного фону було використано спеціально відібраний накопичувач інфекції, високо сприйнятливую лінію Палідум 90-55-74. В усіх ланках селекційного процесу була типова схема посіву, де кожна ділянка інфікується приблизно при однаковому інфекційному навантаженні, лінію накопичувач

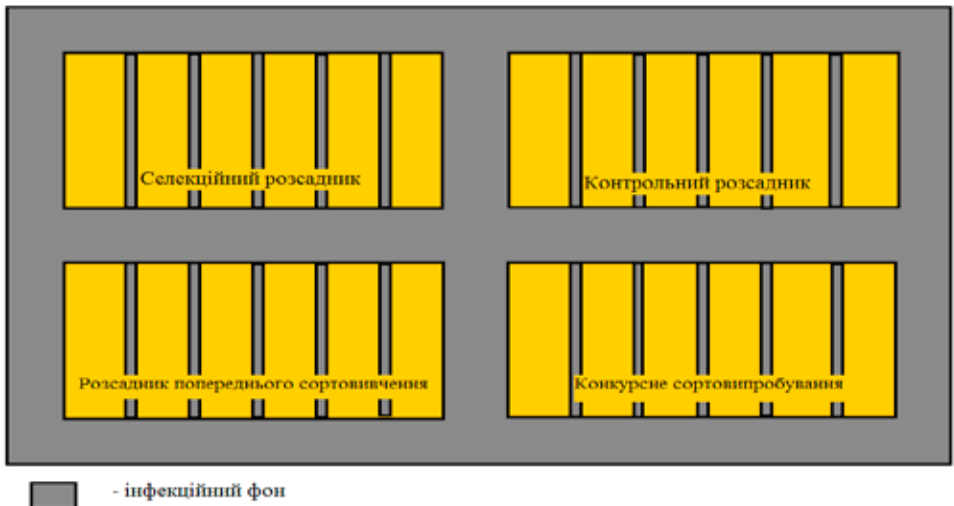


Рис. 1. Схема розміщення накопичувача сажкової спорової інфекції у селекційному посіві.

висівали через кожні 20 ділянок (з інтервалом 30 метрів) в усіх ланках селекційного процесу (рис.1).

Отже, в умовах жорстких браковок, з кожним етапом селекції, кількість резистентних генотипів відносно загального обсягу розсадника зростає (табл.5).

У своїй селекційній практиці, при оцінці селекційного матеріалу, нами був

використаний комбінований підхід: природне інфікування колоссів під час цвітіння, наливу та збирання зерна на посиленому фоні у польових умовах та тестове (штучне) оцінювання номерів – нанесення інфекційного навантаження на насіння попередньо позбавленого квіткової луски.

Таблиця 5.

Відсоток стійких генотипів у різних ланках селекційного процесу

Розсадники	\bar{X}		\bar{X}	
	2000-2002		2005-2007	
	кількість, (шт)	%	кількість, (шт)	%
Гібридних популяцій	125	80,0	119	74,1
Гібридний	168	54,3	171	31,7
Селекційний	18434	92,5	11200	95,0
Контрольний	1287	81,8	559	94,4
П о п е р е д н ь о г о сортовипробування	190	90,5	-	-
К о н к у р с н о г о сортовипробування	105	92,2	95	90,9

- У конкурсному сортовипробуванні проводилась тестова оцінка ліній при штучному зараженні чорною летючою (*Ustilago nigra*) та твердою (*Ustilago hordei*) видами сажки.

Результати тестового оцінювання показали дуже великий рівень достовірності польового оцінювання попередніх років (90 %) (табл. 6) з 60 зразків відібраних з усього матеріалу попередніх років випробування лише 6 виявились сприйнятливими до чорної летючої та твердої видів сажки. Перші чотири лінії уражувалися й чорною летючою сажкою, що підтверджує факт зчепленого успадкування домінантних генів Rung і Ruh до збудників *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei*.

Контрольні оцінювання ліній конкурсного сортовипробування на резистентність до місцевих популяцій *Ustilago nigra*, *Ustilago hordei* при штучному інокулюванні насіння у 2010 р.

КСВ №	Стійкість до <i>U. nigra</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. nigra</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. hordei</i> на фоні		КСВ №	Стійкість до <i>U. hordei</i> на фоні	
	природ.	штучн.		природ.	штучн.		природ.	штучн.		природ.	штучн.
1	+	+	31	+	+	1	+	+	31	+	+
2	+	+	32	+	+	2	+	+	32	+	+
3	+	+	33	+	+	3	+	+	33	+	+
4	+	+	34	+	+	4	+	+	34	+	+
5	+	+	35	+	+	5	+	+	35	+	+
6	+	+	36	+	+	6	+	+	36	+	+
7	+	+	37	+	+	7	+	+	37	+	+
8	+	+	38	+	+	8	+	+	38	+	+
9	+	+	39	+	+	9	+	+	39	+	+
10	+	+	40	+	+	10	+	+	40	+	+
11	+	+	41	+	-	11	+	+	41	+	-
12	+	+	42	+	-	12	+	+	42	+	-
13	+	+	43	+	+	13	+	+	43	+	+
14	+	+	44	+	+	14	+	+	44	+	+
15	+	+	45	+	+	15	+	+	45	+	+
16	+	+	46	+	+	16	+	+	46	+	+
17	+	+	47	+	-	17	+	+	47	+	-
18	+	+	48	+	+	18	+	+	48	+	-
19	+	+	49	+	-	19	+	+	49	+	-
20	+	+	50	+	-	20	+	+	50	+	-
21	+	+	51	+	+	21	+	+	51	+	+
22	+	+	52	+	+	22	+	+	52	+	+
23	+	+	53	+	+	23	+	+	53	+	+
24	+	+	54	+	+	24	+	+	54	+	+
25	+	+	55	+	+	25	+	+	55	+	+
26	+	+	56	+	+	26	+	+	56	+	+
27	+	-	57	+	+	27	+	-	57	+	+
28	+	+	58	+	+	28	+	+	58	+	+
29	+	+	59	+	+	29	+	+	59	+	+
30	+	+	60	+	+	30	+	+	60	+	+

Висновки. Проблема імунітету досажкових патогенів, сортів озимого ячменю, на сучасному етапі селекції надзвичайно актуальною. Недобір врожаю внаслідок прямих та прихованих втрат, в залежності від рівня сприйнятливості

сорту, може становити 44,1 %.

Доведена висока ефективність зразків с.і. 13664 та Джау Кабутак (описано вперше), як донорів стійкості до популяції місцевих рас збудників *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei*. Наведені донори виявилися однаково ефективними у селекції на резистентність до *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei*.

Успадкування резистентності до збудників *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei*, як показано гібридологічним аналізом, контролюється двома різними домінантними генами – *Rung* і *Ruh*.

Вказані гени стійкості до обох видів сажки успадковуються, з великою ймовірністю, зчеплена. При дигібридному аналізуючому схрещуванні відсоток кросинговеру між ними за усіма комбінаціями схрещування не перевищує 9,5%.

Пропонується ефективний метод, який дозволяє без додаткових матеріальних витрат проводити одночасно оцінку та добір селекційного матеріалу на резистентність до місцевих популяцій чорної летючої і твердої видів сажки в усіх ланках селекційного процесу. Метод дозволяє позбавлятися уражених генотипів вже на перших ланках селекційного процесу.

В 2010 році при тестовому оцінюванні ліній конкурсного сортовивчення на стійкість до місцевих популяцій теліоспорами *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei* з 60 зразків лише 6 виявились сприйнятливими. Причому, усі шість, уражувалися обома видами, що підтверджує факт зчепленого успадкування домінантних генів *Rung* і *Ruh* до збудників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск, 1973. – 319 с.
2. Кривченко В.И. Устойчивость зерновых культур к возбудителям головневых болезней. – М.: Колос, 1984. – 304 с
3. Степановских А.С. Головневые болезни ячменя// А.С. Степановских. – Челябинск: Южно-Уральское книжное издательство, 1990 – 397 с.
4. Падерина Е.В. Использование метода возвратных скрещиваний в селекции ячменя на устойчивость к головневым заболеваниям / Е.В. Падерина // Селекция и семеноводство зерновых культур в Сибири. – Новосибирск: СО ВАСХНИЛ, 1981. – С. 107-109.
5. Моземан Д.Г.Болезни ячменя и борьба с ними // Ячмень. Перевод с английского. – Москва : Колос, 1973. – С.88-112