

УДК 633.11.324/633:631

М. А. Залогіна, асп., С. О. Ігнатова, д-р біол. наук.
Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН і МОНУ,
Овідіопольська дор., 3, Одеса, 65036, Україна

ВИВЧЕННЯ ЗРАЗКІВ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ З ВИКОРИСТАННЯМ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ТА ФІТОПАТОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ З МЕТОЮ СТВОРЕННЯ ГІБРИДІВ, СТІЙКИХ ДО ЗБУДНИКА БУРОЇ ЛИСТОВОЇ ІРЖІ (*Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici)

Вивчали стійкість ліній та сортів озимої м'якої пшениці до найбільш розповсюджених на півдні України рас гриба *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici. Відібрані зразки досліджували на ознаку чутливості в умовах культури пиляків. Лінії озимої м'якої пшениці 1/74-91 і 5/20-91, отримані після міжвидової гібридизації з *Aegilops cylindrica*, по показниках андрогенезу в культурі пиляків *in vitro* поступають сортам Селянка й Повага, але випереджають сорти Ніконія, Фантазія й Одеська напівкарликова.

Ключові слова: озима м'яка пшениця, раси гриба, стійкість до *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici, андрогенез в культурі пиляків.

Інфекційні хвороби пшениці — головна причина зниження врожайності зерна і погіршення його якості [1, 2]. Однією з поширених і найбільш шкідливих захворювань є буро-листова іржа (збудник — базидіальний гриб *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici). Найбільш економічно та екологічно безпечним методом захисту від цього патогену є створення стійких сортів. У наш час при їх створенні застосовуються як традиційні, так і сучасні методи, серед останніх — методи біотехнології. Звичайно, на створення сортів пшениці традиційними методами витрачається щонайменше 8–14 років, тоді як за використання біотехнологічних методів термін може скоротитися принаймні вдвічі [3, 4]. З біотехнологічних методів для озимої м'якої пшениці достатньо ефективним є застосування технології вирощування гаплоїдів на основі культури пиляків *in vitro* з наступним подвоєнням їх хромосом. В роботі казахських вчених [3, 5] наведено результати селекції гаплоїдів пшениці з метою отримання ліній, стійких до різних збудників грибних захворювань, у т. ч. до бурої листової іржі. Лінії, що одержані з гаплоїдів, та такі, що є стійкими до збудника бурої листової іржі, визнані як перспективний матеріал для вирощування у Південному Казахстані [5]. На наш погляд, застосування методів культури пиляків *in vitro* дасть змогу значно прискорити термін отримання лінійних форм озимої м'якої пшениці з генами стійкості до бурої листової іржі і проводити селекцію вже на ранніх стадіях розвитку перспективних в даному відношенні гібридних форм.

У зв'язку з цим метою нашої роботи було вивчення стійкості лінійного і сортового матеріалу озимої м'якої пшениці до збудни-

ка бурої листової іржі пшениці (*Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. *tritici*), визначення кращих партнерів при створенні гібридного матеріалу, з'ясування можливості вирощування гаплоїдів за умов культивування пиляків *in vitro* та отримання гомозиготних ліній. Для досягнення поставленої мети вивчали склад популяції патогену, виділяли його основні найбільш вірулентні раси. Для гібридизації з селекційного матеріалу Селекційно-генетичного інституту НАЦ НАІС УААН (далі СГІ) відбирали кращі за стійкістю лінії, а також кращі за господарсько-цінними ознаками, але сприйнятливі до виявлених рас патогену сорти озимої м'якої пшениці. Вивчали також чутливість відібраних ліній і сортів у культурі пиляків, проводили гібридизацію зазначених форм та одержували гібриди, придатні для подальшої селекції генотипів, стійких до збудника *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. *tritici*.

Матеріали й методи дослідження

Досліджували 5 ліній, створених в СГІ: 1/74-91 отримана від гібриду ((Одеська напівкарликова x *Aegilops cylindrica*) x Одеська напівкарликова), 5/20-91 — ((Одеська напівкарликова x *Aegilops cylindrica*), 164/04 — (5/55-91 x (Одеська напівкарликова x *Aegilops cylindrica*) x Одеська напівкарликова), 2453/04 — (4/64-91 x (Одеська напівкарликова x *Aegilops cylindrica*) x Одеська напівкарликова), 180/04 — (7/31-91 x (Одеська напівкарликова x *Aegilops cylindrica*) x Одеська напівкарликова). Всі ці лінії одержані після гібридизації надто сприйнятливого до комплексу фітопатогенів сорту озимої м'якої пшениці Одеська напівкарликова й *Aegilops cylindrica* Host з наступним бекросуванням цим сортом і добором методом Педігрі (F_2 – F_8). Вивчали також сорти Селянка, Повага, Никонія, Фантазія. Інфекційний матеріал отримували з виробничих та насінницьких посівів озимої м'якої пшениці, з яких виділили більше ста моноспорових ізолятів патогену. Ідентифікацію рас здійснювали за загальноприйнятою методикою за допомогою сортів-диференціаторів у культурі бензимидазолу [6]. Крім того, відібрано лінії і сорти, яких в подальшому використовували в якості батьківських партнерів при створенні гібридів F_1 . Вивчали стійкість до різноманітних рас гриба, що виявлялися в степових регіонах України у 2004 році [7]. Тестування на здатність до калюсогенезу в культурі пиляків проводили з метою отримання гаплоїдів і наступного отримання гомозиготних ліній із гібридів, що здійснювали за методикою, розробленою в лабораторії культури тканин ПБЦ [8]. Для досліджень брали колосся вищезазначених сортів і ліній (по 15 штук), у якому мікроспори перебували в середній і пізній одноядерній стадії розвитку. Потім це колосся поміщали на холододову передобробку протягом 3–7 діб. Після стерилізації пиляки висаджували на живильне середовище і поміщали в термостат (30°C) на 3 доби, потім пробірки переносили в умови 26°C на 30 діб. Після закінчення 30 доби підраховували відсоток новоутворень. Потім калюси пересаджували на свіже живильне середовище і ставили на регенерацію.

Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження показали, що на півдні України в популяції гриба *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici існує 8 відомих і 9 раніше не описаних рас. Домінуючою є 77 раса, а їй супутні інші (табл. 1). Широкий спектр вірулентності стосовно різних генотипів з Lr-генами має раса 77, яка авірулентна лише до носіїв генів Lr 9 та Lr 19. Для всіх інших носіїв Lr-генів вона повністю, або майже повністю вірулентна. За вірулентністю їй не поступається раса 144, яка в деякі роки теж домінувала.

Таблиця 1

Расовий склад *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici на півдні України в 2005 році

Раса	Частота стрівальності, %
2	2,2
6	9,1
42	2,2
52	2,2
77	54,9
130	1,1
144	18,1
192	10,2

Нами з'ясована стійкість колекції сортів і селекційних ліній озимої м'якої пшениці до виявлених рас патогену (табл. 2). Серед цього матеріалу було виділено групу стійких, у тому числі лінії 5/20-91, 1/74-91, 164/04, 2453/04 і 180/04. Кращими по стійкості до патогену виявилися лінії 1/74-91, 5/20-91. У той же час більшість сортів селекції СГІ, у т. ч. Селянка, Фантазія, Повага, Ніконія, Одеська напівкарликова, виявилися сприйнятливими.

Таблиця 2

Стійкість ліній і сортів озимої м'якої пшениці до рас *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici

Лінія, сорт	Раса							
	2	6	42	52	77	130	144	192
5/20-91	VR	R; VR	VR	VR	R; VR	VR	R; VR	R; VR
1/74-91	VR	R; VR	VR	VR	R; VR	VR	R; VR	R; VR
180/04 (7/31-91 x Одеська напівкарликова)	VR	R; VR	R; VR	R; VR	R; VR	R	R; VR	R
164/04 (5/20-91 x Одеська напівкарликова)	R	R; MR	R	R; VR	R; MR; VR	R	R; MR; V R	R; MR
2453/04 (4/64-91)	R	R; MR	R	R	MR; R; VR	R; VR	R; MR; V R	R; MR

Закінчення таблиці

Лінія, сорт	Раса							
	2	6	42	52	77	130	144	192
Одеська напівкарликова	VS	VS	VS	VS	VS	VS	VS	VS
Фантазія	S	S	S	S	S; VS	S	S; VS	S
Селянка	S	S	S	S	S	S	S	S
Ніконія	MS	MS	S	MS	MS;S; MR	MS;M R	MS;S;M R	MS; MR
Повага	S	S	S	S	S; VS	S	S; VS	S
Одеська 267	S	S	S	S	S; VS	S	S; VS	S; VS

VR — найбільша стійкість, R — стійкість, MR — помірна стійкість, VS — сильна сприйнятливість, S — сприйнятливість, MS — помірна сприйнятливість

Для обґрунтування напрямів гібридизації між вищезазначеними лініями і сортами, а також доцільності відбору тих чи інших пар для схрещування необхідно було дослідити андрогенез у культурі пиляків, отриманих від сортів і кращих двох ліній озимої м'якої пшениці. Дослідження показали, що у ліній і сортів кількість ембріогенних пиляків варіювала від 2,5 до 13,2%, при цьому у сорту Селянка їх було 13,2%, у сорту Повага — 9%, у сорту Фантазія — 5%, у Ніконії — 2,6%, у Одеської напівкарликової — 2,5%; відповідно у ліній 5/20-91 та 1/74-91 — 6,8% та 4,8% (табл. 3).

Таблиця 3

Показники андрогенезу чутливих генотипів пшениці в культурі пиляків *in vitro*

Лінія, сорт	Кількість (шт)			
	Висаджені пиляки	Ембріогенні пиляки	Новоутворення	Рослини-регенеранти
1/74-91	1000	48	30	18
5/20-91	1000	68	22	20
Селянка	1000	132	91	71
Повага	1000	90	87	60
Ніконія	1000	26	12	10
Фантазія	1000	50	24	14
Одеська напівкарликова	1000	25	12	9

Поява новоутворень була відзначена вже на 22 добу. Після закінчення 30 доби кількість новоутворень варіювала від 1,2 до 9,1%. Стосовно кількості ембріогенних пиляків, кількість новоутворень в цей термін знизилася в середньому на 36,7%. Найбільше число (8,7%; 9,1%) новоутворень виявлялося у сортів Повага і Селянка відповідно. В інших випадках воно складало від 1,2–3,0%.

Підрахунок кількості отриманих з калюсів рослин-регенерантів показав, що ефективність регенерації найбільша (6,0–7,1%) у сортів Повага і Селянка відповідно. У всіх інших сортів та ліній цей

показник варіював в межах від 0,9–1,0% (сорта Одеська напівкарликова, Фантазія) до 1,8–2,0% (лінії 1/74-91, 5/20-91).

Таким чином, за показниками андрогенезу при культивуванні пиляків *in vitro* лінії 1/74-91 і 5/20-91 поступаються кращим у цьому відношенні сортам Повага та Селянка і випереджають сорти Одеська напівкарликова, Ніконія, Фантазія, отже займають проміжне положення між гіршими і кращими за здатністю до андрогенезу групами сортів.

Нами проведені прямі та зворотні схрещування ліній озимої м'якої пшениці 1/74-91 і 5/20-91 з сортами Селянка, Повага і Фантазія. Отримано достатню кількість насіння, яке висіяно у польовому інфекційному розсаднику на штучний інфекційний фон бурої листової іржі пшениці для подальшої роботи.

Висновки

1. Популяція *Puccinia recondita* Rob. ex Desm f. sp. tritici на півдні України в 2005 році представлена 9 расами, з яких найбільше поширена раса 77.

2. До всіх рас збудника бурої листової іржі стійкість виявили лінії озимої м'якої пшениці 5/20-91, 164/04, 1/74-91, 2453/04 та 180/04. З них кращими за стійкістю виявилися лінії 5/20-91 і 1/74-91, у той час як сорти були сприйнятливі до більшості моноізолятів рас патогену.

3. За показником андрогенезу при культивуванні пиляків *in vitro* сорти озимої м'якої пшениці Повага і Селянка є кращими серед усіх досліджуваних сортів. Низькі показники андрогенезу мають сорти Ніконія, Одеська напівкарликова, середнє значення цього показника виявилось у сорту Фантазія.

4. Лінії озимої м'якої пшениці 1/74-91 і 5/20-91, отримані після міжвидової гібридизації сорту Одеська напівкарликова з *Aegilops cylindrica*, за показником андрогенезу при культивуванні пиляків *in vitro* виявилися кращими, ніж Одеська напівкарликова, і значно поступаються сортам Повага й Селянка.

Література

1. *Бабаянц Л. Т.* Генетика устойчивости пшеницы к основным болезням // Проблемы повышения устойчивости зерновых культур и подсолнечника к болезням и вредителям. Сборник научных трудов ВСГИ. — 1990. — С. 5–15.
2. *Пересыпкин В. Ф.* Болезни зерновых культур. — М: Колос, 1979. — 279 с.
3. *Анапиев Б. Б.* Экспериментальный морфогенез и биотехнология получения гаплоидов в культуре микроспор пшеницы: Автореф. дис... д-ра биол. наук: 06.01.05/С-х акад. — М., 2001. — 50 с.
4. *Дьячук Т. И.* Технологические и селекционные аспекты гаплоидии: Автореф. дис... д-ра биол. наук: 06.01.05/Саратов. НИИ с/х Юго-востока. — Саратов, 2003. — 49 с.
5. *Анапиев В.В., Iskakova K., Yevdakova N., Kazkeev D., Rahimbaev I. R.* Haploid biotechnology in rapid selection of *Triticum aestivum* L. for resistance // Abstr. Intern. Symp. "Biotechnology approaches for exploitation and preservation of plant resources", Yalta, Ukraine. — 2002. — P. 79.

6. Бабалянц Л. Т., Мештерхази А., Вехтер Ф., и др. Методы селекции оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ. — Прага, 1988. — С. 125–169.
7. Zalogina M. A. Resistance of initial breeding material of wheat to races of *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. tritici for development of varieties using biotechnological methods// 6th International Symposium in the Series RECENT ADVANCES IN PLANT BIOTECHNOLOGY, September 12–16, Czech republic, 2005. — P. 79.
8. Игнатова С. О. Біотехнологічні основи одержання гаплоїдів, віддалених гібридів і соматичних регенерантів зернових і бобових культур в різних системах in vitro: Автореф. дис... д-ра біол. наук: 03.00.20/НБС ННС УААН. — Ялта, 2004. — 47 с.

М. А. Залогина, С. А. Игнатова,

Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН и МОНУ
Овидиопольская дор., 3, Одеса, 65036, Украина

**ИЗУЧЕНИЕ ОБРАЗЦОВ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И
ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ
ГИБРИДОВ, УСТОЙЧИВЫХ К ВОЗБУДИТЕЛЮ БУРОЙ ЛИСТОВОЙ
РЖАВЧИНЫ (*PUCCINIA RECONDITA* ROB. EX DESM F. SP.
TRITICI)**

Резюме

Проведено изучение устойчивости линий и сортов озимой мягкой пшеницы к наиболее распространенным на юге Украины расам гриба *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. tritici. Отобранные образцы были исследованы на отзывчивость в культуре пыльников in vitro. Линии озимой мягкой пшеницы 1/74-91 и 5/20-91, полученные после межвидовой гибридизации с *Aegilops cylindrica*, по показателям андрогенеза в культуре пыльников in vitro уступают сортам Селянка и Повага, но превосходят сорта Никония, Фантазия и Одесская полукарликовая

Ключевые слова: озимая мягкая пшеница, расы гриба, устойчивость к *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. tritici, андрогенез в культуре пыльников.

M. A. Zalogina, S. A. Ignatova

South Plant Biotechnology Center UAAN,
Ovidiopolskaya Dor. 3, Odessa, 65036 Ukraine

**STUDY OF SAMPLES THE COMMON BREAD WHEAT BY
PHYTOPATHOLOGICALY AND BIOTECNOLOGICALY METHODS FOR
CREATION OF HYBRIDS WITH RESISTANCE TO LEAF RUST
(*PUCCINIA RECONDITA* ROB. EX DESM F. SP. TRITICI)**

Summary

It was the studied resistance of lines and varieties of common bread wheat to more widespread races of fungus *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. tritic. in the south of Ukraine. Some samples investigated on the responsiveness in anther culture in vitro were determined. Using these two tests there were determined some samples used for obtaining the perspective hybrids material of common bread wheat.

Keyword: common bread wheat, races of fungus, resistance of *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. tritici, androgenesis in anther culture.