

СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКІ НАУКИ

УДК 633.:631.527

DOI: 10.15587/2313-8416.2014.31933

ВИКОРИСТАННЯ ПОСИЛЕНОГО ІНФЕКЦІЙНОГО ФОНУ В СЕЛЕКЦІЇ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЮ НА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО *Ustilagonigra* ТА *Ustilagohordei*

© І. Б. Легкун

*Встановлено моногенний домінуючий контроль стійкості до видів сажки *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei*. Доля рекомбінацій спостерігалась у межах 5,1–9,5 %. Робиться висновок про неповне зчеплення цих генів. Впроваджено метод природного інфікування на посиленому фоні у польових умовах, та тестове (штучне) оцінювання номерів. Створені сорти Академічний (2012), Аївенго (2012), Буревій (2013), Снігова королева (2014), Дев'ятий вал (2015) і Презент (ДСВ з 2015)*

Ключові слова: Донори, *Ustilago nigra*, *Ustilago hordei*, стійкість, озимий ячмінь, метод, нові сорти

*A monogenic dominant control of resistance to *Ustilago nigra* and *Ustilago hordei* has been determined. The recombination rate ranged from 5.1 to 9.5 %. It was concluded that there is an incomplete linkage of these genes. A method of natural infection on the intensive background under the field conditions and testing (artificial) evaluation of the genotypes has been introduced. A number of varieties have been developed: Akademichnyi, Aivenho (2012), Burevii (2013), Snihova koroleva (2014), Deviatyi val (2015), Present (in the State Trials from 2015)*

Keywords: donors, *Ustilago nigra*, *Ustilago hordei*, resistance, winter barley, method, new varieties

1. Вступ

Сучасною технологією вирощування озимого ячменю передбачається обов'язкове передпосівне протруєння насіння, що є достатньо ефективним заходом боротьби з комплексом захворювань, які переносяться з інфікованим насінням, перш за все, сажкових [1]. За нашими 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 сортів озимого ячменю становить 44,1 %. [2]. У випадку товарного виробництва, незважаючи на суттєві витрати, на хімічні заходи захисту рослин та збільшення собівартості кінцевої продукції – передпосівний обробіток насіння виправданий [3].

2. Визначення проблеми

На етапах первинного насінництва та селекційних розсадників протруєння насіння методично неприпустимо через відсутність можливості проведення об'єктивної оцінки насінневого та селекційного матеріалу [4].

Враховуючи наведене, надзвичайно актуальним постає питання створення сортів озимого ячменю з комплексною генетичною стійкістю до сажкових захворювань.

3. Огляд літератури

Першими комерційними сортами озимого ячменю, стійкими до сажкових захворювань, стали сорти селекції СГІ – НЦНС Зимовий (2005),

Достойний, Трудівник, Селена Стар (2006), Абориген (2007) всі вони є носіями групової стійкості, до чорної летючої та твердої видів сажки, що успадковані від генетичних джерел с. і. 13664 та Джау Кабутак [1]. З літературних джерел відомо про ефективність лінії с. і. 13664 як носія гену стійкості до летючої сажки Un8 [6]. При цьому до останнього часу залишалось відкритим питання групової стійкості цих донорів до зазначених патогенів.

4. Матеріал та методика

Успадковування резистентності вивчали у гібридних поколіннях F_1 – F_2 , одержаних від схрещування донорів с. і. 13664, Джау Кабутак з сортами, сприйнятливими до сажкових захворювань. В схрещування були взяті сприйнятливі 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 ×Основа. Інкубуванню підлягали біля 300 рослин F_1 по всіх комбінаціях схрещування методом половинок, окремо чорною летючою та твердою видами сажок.

Величину рекомбінації вираховували методом максимальної правдоподібності за Фішером, 1958 [5].

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

3. Результати досліджень

Успіх селекції озимого ячменю на стійкість до сажкових захворювань пов'язаний із залученням донорів стійкості с. і. 13664 та сорту Джау Кабутак (вперше описаний як високоефективний донор стійкості).

Як зазначають Moseman і Metcalfe [7], 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 обумовлюють резистентність одержаних сортів до сажкових патогенів.

Для визначення природи стійкості джерел с. і. 13664 та Джау Кабутак, їх було схрещено з чотирма сприйнятливими до зазначених патогенів озимими сортами.

Тип успадкування резистентності гібридами F_1 визначався шляхом оцінювання рослин методом половинок, отриманих від інфікованих зерен 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 домінуючий характер успадкування ознаки (табл. 1). Стійкість, яку ми спостерігали, виявилася високоефективною до місцевої популяції *U. nigra* (умовно позначили – **Rung**).

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 твердої сажки (табл. 2).

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

Розщеплення гібридів F_2 на резистентні й сприйнятливі в усіх комбінаціях схрещування спостерігалось у співвідношенні близькому 3:1.

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

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 BC_1 ($F_1 \times$ батьківський сприйнятливий сорт) носіїв генів:

$$\frac{RungRuh}{rungruh} \times \frac{rungruh}{rungruh}$$

Оцінка стійкості до сажкових патогенів у BC_1 була коректною лише при аналізі сімей другого покоління (F''_2).

Гібриди $BC_1 F''_1$ було обмолочено порослинно, зерна розділені методом половинок та штучно заражені місцевими популяціями. Першу половину – чорною летючою, другу – твердою видами сажки.

За апостеріорною постановою досліду, у випадку незалежного успадкування, ми мали б очікувати чотири фенотипових класи у співвідношенні (1:1:1:1) у випадку зчепленого 3:1. Результати польової оцінки розщеплення представлені в табл. 3.

Отже зазначимо, нами дійсно було отримано чотири фенотипових класи, але цікавим при цьому виявилось їх співвідношення. В абсолютній більшості виявився клас резистентних генотипів до обох видів сажки $\left(\frac{RungRuh}{rungruh} \right)$ – близько 70-ти

відсотків з невеликим коливанням між комбінаціями. Наступним, за кількістю виявився клас сприйнятливих генотипів до обох видів сажки $\left(\frac{rungruh}{rungruh} \right)$.

Таблиця 1

Характер успадкування резистентності до популяцій місцевих рас чорної летючої сажки (*Ustilago nigra*) у гібридів F_1 і F_2 озимого ячменю при штучному інокулюванні 2004–2005 рр.

Комбінації схрещування	Кількість рослин	Кількість рослин, (шт) ушкоджених	Зимостійкість, %	Кількість рослин, шт.	Фактичне розщеплення, (шт.)		Теоретично очікуване розщеплення, (шт.)		χ^2 1:1
					Резистентних, шт.	Сприйнятливих, шт	Резистентних, шт.	Сприйнятливих, шт	
	F₁			F₂					
Одеський 16 × 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

Таблиця 2

Характер успадкування резистентності до популяцій місцевих рас твердої сажки (*Ustilago hordei*) у гібридів F₁ і F₂ озимого ячменю при штучному інокулюванні у 2004–2005 рр.

Комбінації схрещування	Кількість рослин, (шт.)	Кількість колосів, (шт.)		Зимостійкість, %	Кількість рослин, (шт.)	Фактичне розщеплення, (шт.)		Теоретично очікуване розщеплення, (шт.)		χ^2 1:1
		Резистентних, (шт.)	Ушкоджених, (шт.)			Резистентних, (шт.)	Сприйнятливих, (шт.)	Резистентних, (шт.)	Сприйнятливих, (шт.)	
		F ₁				F ₂				
Одеський 165×с. і. 13664	47	98	0	72,4	530	407	123	397,3	132,7	0,9
Тамань×с.і. 13664	41	99	0	73,1	512	391	121	384,0	128,0	0,5
Основа×ДжауКабутак	45	88	0	69,8	489	370	119	366,7	122,3	0,1
Манас×ДжауКабутак	40	86	0	70,7	496	377	119	371,7	124,3	0,3

Таблиця 3

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

Комбінація схрещування	n	Кількість резистентних номерів, $\left(\frac{R_{ung} R_{uh}}{rungruh}\right)$		Кількість номерів, уражених чорною сажкою $\frac{rung Ruh}{rung Ruh}$		Кількість номерів, уражених твердою сажкою, $\frac{Rung ruh}{Rung ruh}$		Кількість номерів, сприйнятливих до двох видів сажки, $\frac{rung ruh}{rung ruh}$		%, рекомбінації	χ^2 1:1:1:1	
		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
(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×ДжауКабутак) 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 Кабутак)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	

Він склав близько 20 відсотків із незначним коливанням на долю рекомбінантних класів, сприйнятливих до чорної летючої, але стійкої до твердої видів сажки $\frac{rung Ruh}{rung Ruh}$, та стійких до чорної летючої, але сприйнятливої до твердої $\frac{Rung ruh}{Rung ruh}$ сажки.

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 Кабутак] F₁×Манас).

З практичної точки зору, саме зчепленням успадкуванням генів стійкості обумовлена ефективність використання зазначених донорів у селекції сортів озимого ячменю на групову стійкість до *U. nigra* і *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 популяцій місцевих рас видів сажки.

– Створення ефективного інфекційного фону в селекції на резистентність до сажкових патогенів.

Озимий ячмінь, як факультативний самозапилувач, через притаманий йому високий відсоток відкритого цвітіння, щорічно виявляє схильність до перехресного типу запилення, при цьому збільшується природне інфекційне навантаження летючими видами сажки як квітками, так і плодового мішку.

Успіх селекції у великій мірі залежить від достовірності польової оцінки. Оцінки та добори генотипів на резистентність до летючих видів сажки проводилися в умовах штучно посиленого інфекційного навантаження природним інокулюванням. Для посилення існуючого природного інфекційного фону було використано спеціально відібраний накопичувач інфекції – високосприйнятливий ліній Палідум 90–55–74. В усіх ланках селекційного процесу була типова схема посіву, де кожна ділянка інфікується приблизно при однаковому інфекційному навантаженні, ліній-накопичувач висівали через кожні 20 ділянок (з інтервалом 30 метрів) в усіх ланках селекційного процесу.

Отже, в умовах жорсткої вибірки уражених генотипів, з кожним етапом селекції кількість резистентних генотипів відносно загального обсягу зростала (табл. 4).

Таблиця 4

Відсоток стійких генотипів у різних ланках селекційного процесу

Розсадники	\bar{X} 2000–2002		\bar{X} 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
Попереднього сортовипробування	190	90,5	–	–
Конкурсного сортовипробування	105	92,2	95	90,9

У селекційній практиці, при оцінюванні селекційного матеріалу, нами був використаний комбінований підхід: природне інфікування колосів під час цвітіння, наливу та збирання зерна на посиленому фоні в польових умовах, та тестове (штучне) оцінювання номерів при нанесенні інфекційного навантаження на насіння попередньо позбавленого квіткової луски.

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

Результати тестового оцінювання показує дуже високий рівень достовірності (90 %) польового оцінювання попередніх років. На прикладі 2010 року, з 60 зразків, відібраних з усього матеріалу попередніх років випробування, лише 6 виявились сприйнятливими до чорної летючої та твердої видів сажки. Перші чотири лінії уражувались і чорною летючою сажкою, що підтверджує факт зчепленого успадкування доміантних генів Rung і Ruh до збудників *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei*.

Під час виконання даної роботи, з використанням описаного методу природного інфікування на посиленому фоні у польових умовах та тестове оцінювання номерів, створені сорти Академічний, Айвенго (2012), Буревій (2013), Снігова королева (2014), Дев'ятий вал (2015) і Презент (ДСВ з 2015)), які вдало поєднують стійкість до *Ustilago nigra*, *Ustilago hordei* високою продуктивністю, зимостійкістю та іншими господарсько-цінними ознаками (табл. 5).

При порівнянні старих сортів Росава і Основа з більш пізніми сортами інституту, можна помітити, що значно виросли показники пластичності нових генотипів. В несприятливих умовах півдня країни вони, як правило, показують вищу врожайність.

При багаторічному сортовивченні маса 1000 зерен сортів Росава і Основа була на рівні 38,5 грамів, тоді як у сортів Достойний, Академічний, Буревій цей показник перевищував 42 грами, а у сорту Селена Стар навіть 57 грамів. Нові сорти Снігова королева та Дев'ятий вал показували врожайність на рівні 80–105 ц/га.

Таблиця 5

Характеристика нових сортів озимого ячменю в сортовипробуваннях інституту 2006–20014 рр.

Сорт	Тривалість вегетаційного періоду, днів	Висота, см	Тип розвитку	Зимостійкість, бал	Стійкість до вилягання, бал	Посухостійкість, бал	Маса 1000 зерен, г	Продуктивність ц/га
Росаваст	253±2,3	124±5,3	дворучка	9,0±0,0	7,0±	6,6±	39,2±2,7	51,9±14,9
Основа st	251±1,4	112±4,7	дворучка	9,0±0,0	8,0±	6,3±	38,5±1,5	55,4±12,2
Зимовий	249±1,1	107±3,8	озимий	9,0±0,0	8,3±	6,3±	38,4±0,7	57,2±14,3
Достойний	244±1,6	104±3,4	дворучка	9,0±0,0	8,0±	8,0±	42,0±0,9	59,3±8,7
Трудівник	247±1,8	102±2,9	озимий	7,7±1,3	9,0±	7,0±	41,4±0,8	56,9±13,8
СеленаСтар	245±1,9	121±4,2	озимий	9,0±0,0	7,3±	8,3±	47,5±3,7	55,7±11,8
Абориген	248±1,4	106±2,7	дворучка	8,6±0,5	8,3±	6,6±	40,3±0,6	51,7±11,5
Академічний*	247±1,3	102±3,7	озимий	7,7±1,3	9,0±	7,0±	42,6±0,3	57,7±18,7
Буревій	247±1,4	104±2,9	озимий	9,0±0,0	9,0±	7,3±	43,1±1,2	80,6±6,9
Снігова королева	249±1,9	83±3,1	дворучка	9,0±0,0	9,0±	7,3±	43,1±0,4	78,9±2,7
Дев'ятий вал	247±1,5	119±4,3	дворучка	9,0±0,0	9,0±	7,7±	45,1±0,6	89,7±8,9
Презент (голозерний)	245±1,3	82±2,3	дворучка	9,0±0,0	9,0±	8,0±	33,1±1,2	53,1±1,3

4. Висновки

Доведена висока ефективність колекційних зразків с. і. 13664 та Джау Кабутак як донорів стійкості до популяцій місцевих рас збудників *Ustilago nigra* та *Ustilago hordei*.

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

Вказані гени стійкості до обох видів сажки успадковуються, з великою ймовірністю, зчеплено.

При дигібридному аналізуючому схрещуванні відсоток кросинговеру за стійкістю до летючої чорної та твердої видів сажок за усіма комбінаціями схрещування не перевищував 9,5 %.

Пропонується ефективний метод природного інфікування на посиленому фоні у польових умовах з тестовим оцінюванням номерів, 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.

Під час виконання даної роботи з використанням описаного методу природного інфікування на посиленому фоні у польових умовах та тестове (штучне) оцінювання номерів створено низку сортів: Академічний, Айвенго (2012), Буревій (2013), Снігова королева (2014), Дев'ятий вал (2015) та гол озерний сорт дворучку Президент (ДСВ з 2015).

Література

1. Лінчевський, А. А. Результати селекції озимого ячменю на стійкість до збудників чорної (*Ustilago nigra*), та твердої (*Ustilago hordei*) та летючої (*Ustilago nuda*) видів сажки [Текст] / А. А. Лінчевський, О. М. Шеремет, І. Б. Легкун // Збірник наук. праць. СГІ-НЦНС. – 2010. – Вип. 16 (56). – С. 37–43.
2. Бабаянц, О. В. Основы селекции и методология оценок устойчивости пшеницы к возбудителям болезней [Текст] / О. В. Бабаянц, Л. Т. Бабаянц. – Одесса: ВМВ, 2014. – 400 с.
3. Кривченко, В. И. Устойчивость зерновых культур к возбудителям головневых болезней [Текст] / В. И. Кривченко. – М.: Колос, 1984. – 304 с.
4. Степановских, А. С. Головневые болезни ячменя [Текст] / А. С. Степановских. – Челябинск: Южно-Уральское книжное издательство, 1990. – 397 с.
5. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика [Текст] / П. Ф. Рокицкий. – Минск, 1973. – 319 с.

6. Падерина, Е. В. Использование метода возвратных скрещиваний в селекции ячменя на устойчивость к головневым заболеваниям [Текст] / Е. В. Падерина. – Селекция и семеноводство зерновых культур в Сибири. СО ВАСХНИЛ. – Новосибирск, 1981. – С. 107–109.

7. Моземан, Д. Г. Болезни ячменя и борьба с ними [Текст] / Д. Г. Моземан; пер. с англ. – Ячмень. Москва: Колос, 1973. – С. 88–112

References

1. Linchevsky, A. A., Sheremet, O. M., Legkun, I. B. (2010). The Results of winter barley breeding for resistance to semi-loosesmut (*Ustilago nigra*) covered smut (*Ustilago hordei*) and loose smut (*Ustilago nuda*). Zbirnyk naukovykh prats (Collected scientific articles in Ukrainian) of PBGI – NCSCI, 16(56), 37–43.
2. Babayants, O. V., Babayants, L. T. (2014). Fundamentals of breeding and methodology of estimates of wheat resistance to pathogens. Odessa: WWII, 400.
3. Krivchenko, V. I. (1984). The Resistance of crops to pathogens smut disease. Moscow: Kolos, 304.
4. Stepanovski, A. C. (1990). Smut diseases of barley. Chelyabinsk: South Ural publishinghouse, 397.
5. Rokicki, P. F. (1973). Biological statistics. Minsk, 319.
6. Paderina, E. C. (1981). Use method return crosses inbreeding barley for resistance to smut. Breeding and seed production of grain crops in Siberia. All-Union Academy of agricultural Sciences Lenin. Novosibirsk, 107–109.
7. Moseman, I. G., Metcalfe, D. R. (1969). Inheritance of resistance genes in barley by reaction to *Ustilago nuda*. Can. Your. Sci, 49 (4), 447–451.

*Рекомендовано до публікації д-р с.-г. наук Лінчевським А. А.
Дата надходження рукопису 24.11.2014*

Легкун Ігор Борисович, старший науковий співробітник, відділ селекції та насінництва ячменю, Селекційно-генетичний інститут НЦНС, вул. Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, Україна, 65036
E-mail: legkuni@mail.ru