

3. Гапоненко А.К., Маликова Н.И., Охрименко Г.Н., Созинов А.А. Получение сомаклональных линий у злаков (*Triticum aestivum* L. и *Hordeum vulgare* L.) // Докл. АН СССР. – 1985. – Т. 283. – С. 1471-1475.
4. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: Методическое руководство / Под ред. Удовенко Г.В. – Л.: ВИР, 1988. – 227 с.
5. Изучение засухоустойчивости мирового генофонда яровой пшеницы для селекционных целей: Методическое руководство / Составитель Кожушко Н.Н. – Л.: ВИР, 1991. – 90 с.
6. Насонов Д.Н., Александров В.Я. О причинах коллоидальных изменений протоплазмы и увеличения сродства ее к красителям под влиянием повреждающих воздействий // Арх. анат. гистол. эмбриол. – 1939. – Т. 22, № 1. – Сер. С. – С. 1-43.
7. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1992, – 267 с.
8. Практикум по анатомии растений: Учеб. пособие для вузов / Под ред. Д.А. Транковского. – 3-е изд. – М.: Высш. школа, 1979. – 224 с.
9. Сергеева Л.Е. Изучение клеточных линий табака, устойчивых к солевому и водному стрессам, и регенерантов из них: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Ин-т физиологии растений и генетики АН УССР. – К., 1991. – 20 с.
10. Терлецкая Н.В., Жамбакин К.Ж., Исаков А.Р. К лабораторно-практическим занятиям по изучению засухоустойчивости растений: Методические указания. – Алматы: КазГАУ, 2003. – 16 с.
11. Barlow E.W.R. Water relations of expanding leaves // Aust. J. Plant Physiol. – 1986. – V. 13. – P. 45-58.
12. Farooq S. T., Farooq E.-A. Co-existence of salt and drought tolerance in Triticeae// Hereditas. – 2001. – V. 135, N 2-3. – P. 203-210.
13. Koval V.S., Bystrov R.A. Gametophytic selection for salt tolerance in barley // J. Exp. Bot. – 1996. – V. 47. – P. 52.
14. Shimazaki Y., Ookawa T., Hirasawa T. The Root Tip and Accelerating Region Suppress Elongation of the Decelerating Region without any Effects on Cell Turgor in Primary Roots of Maize under Water Stress // Plant Physiology. – 2005. – V. 139. – P. 458-465.

РОЗРОБКА УМОВ *IN VITRO* ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ ТОЛЕРАНТНОСТІ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ДО ГРИБІВ РІЗНИХ ВІДІВ РОДУ *ALTERNARIA* NEES

Т.В. ДЕНИСКО, С.О. ІГНАТОВА, доктор біологічних наук

Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН, Одеса

О.В. БАБАЙНЦ, кандидат біологічних наук

Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та
сортовивчення

Вступ

Пшениця має надзвичайно важливе продовольче значення. Безумовно, від якості насіння залежить майбутній врожай, а від якості зерна, відповідно, продукти його переробки. Позаяк нині населення планети неухильно зростає, а площі сільськогосподарських угідь скорочуються, зараженість пшениці грибними патогенами стає нагальною проблемою, яка привертає увагу вчених всього світу.

Результати 15-річних досліджень видового складу мікобіоти колосся озимої пшениці на півдні України, здійснені відділом фітопатології та ентомології (СГІ-НЦНС), показали, що видовий склад мікроміцетів, які заселяють колосся озимої пшениці, зазнає значних змін у зв'язку з кліматичними умовами, що складаються. Доведено, що за 2005-2007 рр. відбулось загальне збільшення кількості високопатогенних мікроміцетів сaproфітних видів,

у тому числі значно збільшилась частота виявлення видів роду *Alternaria* Nees у порівнянні з попередніми роками. Дослідження показали, що види роду *Alternaria* є одними з основних патогенів на зерні та насінні озимої пшениці в Україні на сьогоднішній день. Відмічено тенденцію щодо підсилення патогенних властивостей всередині роду *Alternaria* і прогнозується підсилення їх у подальшому [1, 5].

Alternaria – це досить поширений рід дейтероміцетів. У нормі види *Alternaria* є патогенами рослин (здебільшого овочевих культур) чи сапротрофами на органічних залишках, переважно рослинного походження. Види роду *Alternaria* є збудниками «чорного зародку» і листкової плямистості зернових культур у багатьох країнах світу [4].

Основна небезпека, яку приховує в собі присутність видів *Alternaria* в зерні, – «забруднення» сільськогосподарської продукції вторинними метаболітами гриба, токсичними для рослин, тварин і людини. Токсини *Alternaria spp.* можуть бути тератогенними, токсичними для ембріонів, викликати гематологічні захворювання. В першу чергу такі метаболіти, як альтернарол, монометиловий ефір альтернаролу і тенуазолова кислота, було виявлено в зерні пшениці в Європі, Північній Америці, Китаї та Австралії [3].

Існує ряд способів створення генетичного різноманіття рослин, та їх реалізація на практиці дозволить ефективно керувати ценозом пшениці з метою оптимізації його фіtosанітарного стану. Стійкі до абіотичних та біотичних впливів сорти сільськогосподарських культур повністю вирішують задачі енерго- та ресурсозбереження, охорони біосфери від забруднення пестицидами та керування фіtosанітарним станом агроекосистем культур.

Одним із шляхів боротьби із захворюваннями сільськогосподарських культур є створення стійких до збудників хвороб сортів із використанням нетрадиційної селекції, заснованої на біотехнологічному доборі *in vitro* толерантних біотипів, які виникають адаптивно в ході мікроеволюційних процесів, що відбуваються в популяціях. При цьому досягається збереження чистоти екосистеми та отримання стійких сортів рослин, що виключає застосування хімічних засобів боротьби із захворюваннями.

Важливим етапом створення стійких сортів є можливість проведення експрес-оцінки пшениці на стійкість до альтернаріозу, що дозволяє в лабораторних умовах прискорено оцінити селекційний матеріал на стійкість до грибів роду *Alternaria* та виявити рослини з підвищеною стійкістю до цього патогену [6].

Метою даної роботи було проведення первинного скринінгу ізолятів грибів роду *Alternaria* із колекції лабораторії фітопатології СГІ-НЦНС на токсигенність для подальшої розробки методологічних підходів до побудови *in vitro* біотехнології оцінки та добору форм м'якої пшениці, стійких до альтернаріозу.

Об'єкти та методи дослідження

До роботи було залучено 11 ізолятів грибів роду *Alternaria*, які належать до видів *A. temuissima*, *A. triticina*, комплексу видів *A. infectoria*, та фільтрати культуральної рідини цих ізолятів (ФКР). Біотестування проводили на двох біологічних системах – зрілому насінні та зародках, виділених із нього. В якості тест-об'єктів використовували сорти озимої м'якої пшениці селекції СГІ-НЦНС, що контрастно різняться за польовою фітопатологічною оцінкою рівня стійкості до грибного патогену: толерантний до альтернаріозу – сорт Скарбниця, чутливий – сорт Сирена.

Токсигенні властивості ізолятів вивчали у подвійній культурі (зріле насіння + культура гриба та ізольовані зародки зрілого насіння + культура гриба). Фіtotоксичну дію фільтратів культуральної рідини у концентрації 30 та 50% від об'єму середовища тестували на ізольованих зрілих зародках пшениці. Насіння для дослідів стерилізували 70% спиртом 10 хв, 2,5% розчином гіпохлориту натрію (комерційний засіб «Білизна») – 20 хв, після чого промивали розчином 0,01-н HCl протягом 10 хв та дистильованою водою (4 рази). Для

виділення зрілих зародків та підготовки цільного насіння для досліду чашки Петрі зі стерильним насінням попередньо вміщували на добу до холодильника за температури 2°C.

У процесі отримання подвійної культури один мікологічний гачок 7-денних культур ізолятів грибів роду *Alternaria*, які вирощували за 24°C на поживному середовищі Чапека, висівали в чашки Петрі на агаризовану (8 г/л агар-агару) поверхню без додаткових елементів. Одночасно з ізолятами висівали насіння та ізольовані зародки. Дослідні біосистеми (насіння + культура гриба та ізольовані зародки + культура гриба) культивували за температури 24°C у темряві протягом 10 діб – від проростання до формування паростків.

Для отримання ФКР ізоляти грибів роду *Alternaria* культивували на рідкому середовищі Чапека з половинним вмістом глукози (15г/л). Потім рідину відділяли від міцелію гриба та стерилізували, використовуючи фільтр Millipore (діаметр пор – 0,22 мкм). Стерильні ФКР додавали до поживного середовища MS із половинним вмістом всіх складових елементів у концентрації 30 та 50% від об'єму. Ізольовані зародки культивували на середовищах із ФКР 10 діб за температури 24°C.

Оскільки рівень схожості є важливим індикатором життєздатності насіння, його можна використовувати як первинний показник реакції зародка на дію факторів у культурі *in vitro* та як показник рівня токсигенності ізоляту патогена. Критеріями для оцінки реакції зародків на вплив патогенів та ФКР були рівень пророслих (на третю добу культивування) зародків, довжини частин паростка (корінець, колеоптиль) у досліджуваних зразків пшениці відносно цих показників у контролі.

Результати та обговорення

Дві системи подвійної культури (зріле насіння + культура гриба та ізольовані зародки зрілого насіння + культура гриба) є однаково інформативними щодо рівня пророслих на третю добу культивування зародків. На рис. 1 наведено дані щодо рівня пророслих на третю добу культивування ізольованих зародків зрілого насіння сортів Сирена та Скарбниця при кокультивуванні з 11 ізолятами грибів роду *Alternaria*.

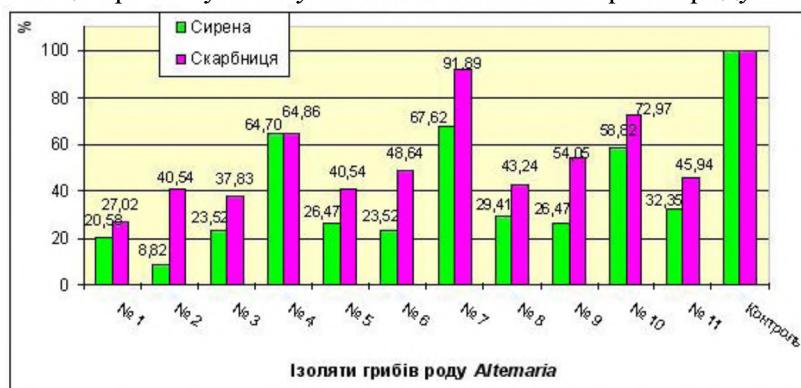


Рис. 1. Проростання ізольованих зародків пшеници в умовах подвійної культури з ізолятами грибів роду *Alternaria* (% щодо контролю)

Показник проростання зародків стійкого до альтернаріозу сорту Скарбниця – у середньому 52%, що є на 20% вище від показника чутливого сорту Сирена (у середньому 32%). 6 із 11 досліджуваних ізолятів виявилися високотоксигенними (показник проростання зародків чутливого сорту Сирена – 9-26%, стійкого сорту – 27-43%). Показник рівня пророслих на 3 добу зародків в умовах подвійної культури виявляє відповідність толерантності паростків фітопатологічній оцінці модельних генотипів, що дозволяє прогнозувати використання цієї системи для експрес-оцінки пшеници на стійкість до альтернаріозу.

Дані про довжини частин паростка (корінець, колеоптиль) наведено на рис. 2, 3.

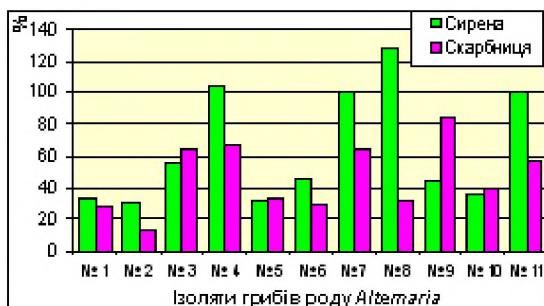


Рис. 2. Вплив грибів роду *Alternaria* на ріст колеоптиля (% щодо контролю)

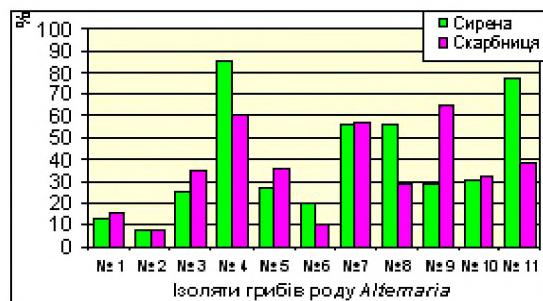


Рис. 3. Вплив грибів роду *Alternaria* на ріст головного корінця (% щодо контролю)

Критерій оцінки довжини частин 10-денної паростка в системі ембріокультура + патоген є інформативним для скринінгу ізолятів, але не для оцінки пшениці на стійкість, хоча свідчить, за даними Шакірової [7], про особливості патогенезу гемібіотрофних грибів.

ФКР усіх ізолятів у концентрації 30 та 50% від об'єму живильного середовища виявляли фітотоксичну активність щодо паростків пшениці чутливого сорту Сирена. Для стійкого сорту Скарбниця токсичною виявилась концентрація 50% (рис. 4, 5).

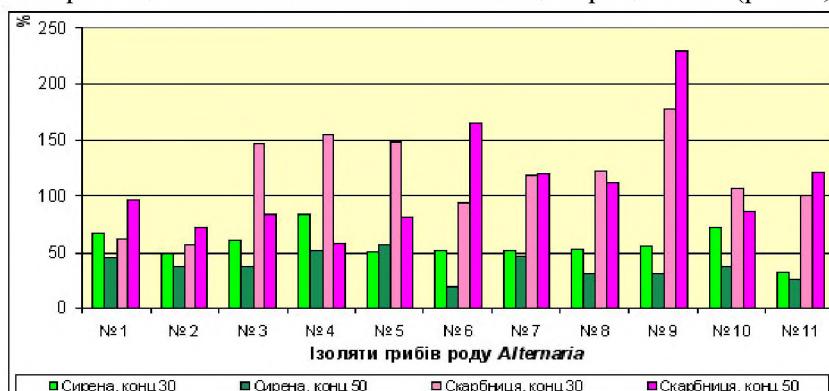


Рис. 4. Вплив ФКР ізолятів грибів роду *Alternaria* у концентрації 30 та 50 % на ріст колеоптиля (% щодо контролю)

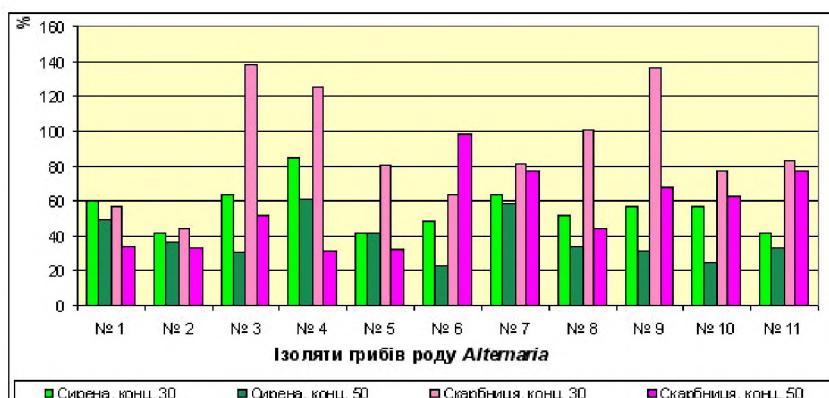


Рис. 5. Вплив ФКР ізолятів грибів роду *Alternaria* у концентрації 30 та 50 % на ріст головного корінця (% щодо контролю)

Аналіз та узагальнення отриманих даних дозволяє рекомендувати дану систему як для оцінки токсигенності ізолятів, так і для оцінки толерантності експлантів до дії ФКР. Селективною концентрацією його може служити концентрація 30%.

Висновки

Результати даних досліджень можна використовувати для побудови тест-системи *in vitro* для первинного скринінгу ізолятів грибів роду *Alternaria* на токсигенність та добору толерантних до альтернаріозу форм озимої м'якої пшеници. Було розроблено умови проведення роботи *in vitro* та відібрано для подальших досліджень найбільш токсигенні ізоляти.

Список літератури

1. Бабаянц О.В. Видовой состав и вредоносность микробиоты колосьев озимой пшеницы южной степи Украины // Актуальные проблемы иммунитета и защиты сельскохозяйственных культур от болезней и вредителей: Тез. докл. Междунар. научно-практической конференции СГІ–НЦНС, 11-14 вересня 2007 р. – Одеса: КП ОМД, 2007 р. – С. 42.
2. Ганнибал Ф.Б., Левитин М.М. Видовое и внутривидовое разнообразие токсигенных грибов рода *Alternaria* // Успехи медицинской микологии: Материалы IV Всероссийского конгресса по медицинской микологии. – М.: Национальная академия микологии, 2006. – Т. VII. – С. 7-8.
3. Ганнибал Ф.Б. Токсигенность и патогенность грибов рода *Alternaria* для злаков // Лаборатория микологии и фитопатологии им. А.А. Ячевского ВИЗР. История и современность / Под ред. А.П. Дмитриева. – СПб: ВИЗР, 2007. – С. 82-93.
4. Ганнибал Ф.Б. Виды рода *Alternaria* в семенах зерновых культур в России // Микология и фитопатология. – 2008. – Т. 42, Вып. 4. – С. 359-368.
5. Никифорова Е.А. Фитопатологическое состояние семян озимой мягкой пшеницы в зоне южной степи Украины // Актуальные проблемы иммунитета и защиты сельскохозяйственных культур от болезней и вредителей: Тез. докл. Междунар. научно-практической конференции СГІ–НЦНС, 11-14 вересня 2007 р. – Одеса: КП ОМД, 2007 р. – С. 17.
6. Ткачёва А.А., Поляков А.В., Бирюкова Н.К. Усовершенствованный метод оценки селекционного материала огурца на устойчивость к фузариозному увяданию // Проблемы научного обеспечения овощеводства юга России: Матер. Междунар. научно-практической конференции КНИИОКХ РАСХН, 4-7 сентября 2004 г. – Краснодар, 2004 г. – С. 70-75.
7. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и её регуляция. – Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ФИТОПАТОГЕНАМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВМЕСТНЫХ КУЛЬТУР

И.В. МАКСИМОВ, доктор биологических наук;

О.Б. СУРИНА, кандидат биологических наук;

Н.Б. ТРОШИНА, доктор биологических наук

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

Введение

Сложность оценки устойчивости растений к патогенам в полевых условиях связана с их многообразием. В связи с этим в исследованиях фитоиммунологов используются способы культивирования конкретных патогенов на растениях, поражаемых органах и каллусной культуре. Причем сроки оценки устойчивости растений с начала опыта могут занимать длительный период, связанный как с онтогенезом растений, так и с периодом вегетации. Например, возбудители твердой и пыльной головни пшеницы развиваются в растениях бессимптомно вплоть до формирования у них генеративных органов, что