

УДК 633.111:57.085.2

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНИХ ОЗНАК ДЛЯ ОЦІНКИ *IN VITRO* СТІЙКОСТІ ЗРАЗКІВ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ДО *FUSARIUM GRAMINEARUM*

© 2011 р. Т. М. Корня

Південний біотехнологічний центр в рослинництві

Національної академії аграрних наук України

(Одеса, Україна)

Наведено результати вивчення кореляційного зв'язку між толерантністю *in vitro* до фільтратів культуральної рідини (ФКР) *Fusarium graminearum* зразків пшениці за різними морфо-фізіологічними показниками та їх польовою стійкістю до фузаріозу колоса. Показано, що використання показника відношення маси до загальної довжини рослин-регенерантів на селективному середовищі з модифікованими ФКР (порівняно з контрольними зразками) є ефективним для оцінки стійкості *in vitro* зразків пшениці до захворювання, спричиненого грибом *F. graminearum*. Для приготування модифікованих ФКР гриб *F. graminearum* культивували на поживному середовищі Чапека з додаванням хімічних факторів токсинуотворювання – суміші амінокислот.

Ключові слова: *Triticum aestivum L.*, *Fusarium graminearum*, культура ізольованих зрілих зародків *in vitro*, фільтрат культуральної рідини

У боротьбі з фузаріозом колоса озимої м'якої пшениці створення стійких сортів методами селекції є найефективнішою, екологічно безпечною та економічно вигідною стратегією (Бабаянц та ін., 2007). Перспективним у створенні стійких до патогенів сортів пшениці є залучення до традиційної селекції біотехнологічних методів (Волощук та ін., 2001; Мазур, Ігнатова, 2007; Eudes et al., 2008). Важливим елементом біотехнології селекції *in vitro* стійких до фузаріозу колоса генотипів пшениці є використання фузарієвих вторинних метаболітів, таких як тріхотеценові мікотоксини (ТТМТ) та фільтрати культуральної рідини (ФКР) грибів-патогенів. Пошук оптимального селективного фактора *in vitro*, пов'язаного з механізмом патогенезу *in vivo*, має велике значення для оцінки та добору, оскільки дозволить створювати стійкі до патогенів форми пшениці і тим самим суттєво скорочувати процес селекції (Bruins et al., 1993; Eudes et al., 2008). У патогенезі *Fusarium graminearum* на пшениці тріхотеценові фузарієві токсини визначають силу та сту-

пінь ураження колоса, що дозволяє використовувати дані токсини в оцінці та селекції *in vitro* на стійкість до патогена (Dyer et al., 2005). В процесі спільних досліджень в напрямі ДНК-детекції генів тріхотеценового синтезу *Tri5* та *Tri6* у використаних в даній роботі штамів *F. graminearum ab* та *56* ідентифіковано гени, відповідальні за синтез ТТМТ (Балашова та ін., 2010; Корня та ін., 2010). Показано, що аргінін-поліамінні шляхи біосинтезу гриба можуть індукувати підвищений синтез ТТМТ під час фузаріозної інфекції на рослині-хазяїні (Gardiner et al., 2009). Тому актуальним є створення умов культивування патогенного гриба шляхом модифікації поживного середовища органічними амінокислотами для підвищеного синтезу мікроміцетом ТТМТ для подальшого отримання ФКР із фітотоксичними якостями.

Крім того, не повністю розкритим залишається питання щодо визначення показників морфогенезу експлантів та критеріїв для оцінювання в умовах *in vitro* стійкості зразків пшениці до фузаріозу колоса. Тому виникає необхідність в поглибленому дослідженні морфогенезу *in vitro* експлантів рослини-хазяїна за впливу метаболітів патогена та пошуку морфо-

Адреса для кореспонденції: Корня Тетяна Михайлівна, Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН, Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна;
e-mail: odonata@mail.ru

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНИХ

фізіологічних ознак, що корелюють із польовою стійкістю рослини до патогена.

МЕТОДИКА

Для оцінки *in vitro* стійкості зразків пшениці до *F. graminearum* як рослинний матеріал використовували сорти та лінію озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) з різною стійкістю до фузаріозу колоса (ФК) селекції Селекційно-генетичного інституту Національного центру насінництва та сортовивчення (СГІ-НЦНС) м. Одеси:

лінія 5/20-91 – високостійка до ФК (9 балів за десятибальною шкалою),

Вікторія – стійкий до ФК сорт (8 балів),

Селянка – середньостійкий (6 балів),

Фантазія одеська – середньостійкий (5 балів),

Сирена – сприйнятливий (4 бали),

Одеська напівкарликова – сприйнятливий (3 бали).

Як експлант використовували зрілі зародки (Волошук та ін., 2001; Мазур, Игнатова, 2007).

Селективним фактором слугував фільтрат культуральної рідини (ФКР) штамів гриба *F. graminearum*: *ab* (слабопатогенний) та *56* (сильнопатогенний), надані відділом фітопатології та ентомології СГІ-НЦНС. Для приготування ФКР патоген культивували в рідкому поживному середовищі Чапека з додаванням суміші амінокислот та 0,001 г сульфату цинку для токсинування (Билай, 1977; Грушко та ін., 2005; Пат. 12712 U), оскільки синтез мікотоксинів є цинк-залежним процесом при наявності амінокислот. Культуру гриба витримували в темряві за температури 22°C впродовж 21 доби. Після цього отриману рідину відділяли від міцелію гриба і додавали в концентрації 15% та 30% від об'єму середовища перед автоклавуванням до безгормонального середовища MS (Murashige-Skoog) з половинним вмістом мінеральних солей (½ MS). Як контроль використовували середовище ½ MS, де вміст ФКР замінили аналогічним об'ємом води.

Математичні розрахунки та статистичний аналіз (Гланц, 1998; Атраментова, Утевська, 2007; Гржибовский, 2008а) проводили за допомогою комп'ютерної програми EXCEL (Обвис, 1999). В культурі ізольованих зрілих зародків визначали здатність зародків пшениці до проростання *in vitro* за відсотком пророслих зародків (%). Морфометричні показники обчислювали за

середніми значеннями довжин колеоптиля (мм), проростка (мм) та кореневої системи (мм). Також визначали середні значення маси рослин-регенерантів (г). Такі показники відображають фенотипову здатність рослини за певних умов виконувати свою генетичну програму. Оскільки організм являє собою фенотип як сукупність пов'язаних систем і органів, доцільним стало введення показника, який би відображав зв'язок між різними морфологічними показниками за різних умов вирощування. Таким показником може бути запропоноване нами відношення маси рослини до сумарної довжини її органів (формула 1).

$$\bar{\rho} = \left(\frac{1}{N} \right) \cdot \sum \frac{m_i}{A_i + B_i} = \left[\frac{r}{M} \right] \quad (1),$$

де N – обсяг вибірки, m – маса рослин-регенерантів (г), A – довжина проростків (мм), B – довжина кореневої системи регенерантів (мм).

Для зручності представлення числових значень запропоновано розраховувати даний показник у г/м.

Дана формула характеризує процес росту і розвитку рослин-регенерантів пшениці. А відношення середніх значень дослідних зразків (ρ_d) до контрольних (ρ_k) є відносним показником впливу селективного фактора (формула 2):

$$\Delta\rho = \frac{\rho_d}{\rho_k} \quad (2).$$

Статистично значущу різницю між вибірками розраховували за методом довірчих інтервалів (Гржибовский, 2008б).

Розрахунки кореляційного зв'язку між отриманими даними за морфо-фізіологічними показниками та польовою стійкістю використовуваних сортозразків пшениці проводили за допомогою непараметричного коефіцієнта кореляції Спірмена r_s (Гланц, 1998; Атраментова, Утевська, 2007). Як критерій стійкості в умовах *in vitro* використовували відносні морфо-фізіологічні показники: дослід/контроль. Польову оцінку стійкості до фузаріозу колоса зразків пшениці визначали за десятибальною шкалою.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Фузарієві тріхотеценові мікотоксини (ТТМТ) посідають вагоме місце у патогенезі грибів роду *Fusarium*, їх вплив має високу кореляцію з інокуляцією міцелієм патогена інтакт-

ної рослини, що було показано спеціальними експериментами (Nicolson et al., 2007).

На модельній культурі ізольованих зрілих зародків нами було досліджено вплив модифікованих фітотоксичних ФКР на різні морфологічні параметри десятиденних проростків контрастних за стійкістю зразків пшениці.

За отриманими результатами в культурі *in vitro* спостерігали зниження відсотка проростання ізольованих зрілих зародків за дії ФКР обох штамів *F. graminearum* (табл. 1). ФКР слабопатогенного штаму *ab* у концентрації 15% порівняно з ФКР сильнопатогенного штаму *56* був більш фітотоксичним, що спостерігали у сортів Вікторія одеська, Фантазія одеська та Одеська напівкарликова. Із двох досліджених концентрацій ФКР обох штамів *F. graminearum* концентрації 30% виявилися однаково токсичними для п'яти сортів, окрім сорту Селянка. Серед досліджених зразків пшениці стійка до патогена лінія 5/20-91 та толерантний сорт Селянка за показником відсотка проростання ізольованих зрілих зародків в культурі *in vitro* були найбільш стійкими до впливу селективного фактора.

У дослідженні морфологічної ознаки довжини колеоптиля сформованих проростків пшениці в культурі ізольованих зрілих зародків також спостерігали фітотоксичну дію в поживному середовищі з низькою концентрацією ФКР слабопатогенного штаму *ab*. Інгібування спостерігали у сортів Селянка, Фантазія одеська, Сирена одеська та Одеська напівкарликова із польовою стійкістю – 6, 5, 4 та 3 бали за десятибальною шкалою відповідно. В культурі *in vitro* для показника довжини колеоптиля рослин-регенерантів токсичними були концентрації 30% ФКР обох штамів. Це видно за даними, отриманими за культивування на селективних середовищах зрілих зародків стійкої до лінії 5/20-91.

Спостерігали сильний інгібуючий вплив ФКР обох штамів на довжину проростків майже всіх зразків пшениці (табл. 1). Проте достовірного впливу досліджуваних ФКР на довжину проростка рослин-регенерантів у стійкої до фузаріозу колоса лінії 5/20-91 знайдено не було. Тобто за показником довжини проростка стійка лінія пшениці 5/20-91 виявилася толерантною до ФКР в культурі *in vitro*. Найбільш показові результати інгібування росту проростків виявлено у варіанті із середовищем з ФКР слабопатогенного штаму *ab* у концентраціях 15% та 30%.

Дослідження довжини кореневої системи рослин-регенерантів за дії ФКР показали сильний негативний вплив селективного фактора на ріст корінців (табл. 1). За дії ФКР в усіх варіантах селективних середовищ спостерігали некроз корневих апексів та збільшене формування додаткових корінців. Рослини-регенеранти стійкої лінії 5/20-91 в умовах *in vitro* на селективних середовищах за показником довжини кореневої системи були толерантними до ФКР *F. graminearum ab* у концентрації 15%. Токсичним для лінії 5/20-91 за цим показником був ФКР слабопатогенного штаму *ab* у концентрації 30%.

Зміну маси рослин-регенерантів порівняно з контролем спостерігали в усіх варіантах селективних середовищ у сортів Сирена одеська та Фантазія одеська. Загалом маса рослин-регенерантів у досліджених зразків пшениці зменшувалась порівняно з контролем при високих концентраціях ФКР (30%) та у варіанті з ФКР слабопатогенного штаму *ab* 15% (табл. 1).

Із ФКР двох штамів більш токсичним був ФКР *F. graminearum* слабопатогенного штаму *ab*. Отримані результати щодо відсутності інгібування *in vitro* морфогенезу майже всіх досліджених зразків пшениці за впливу низьких концентрацій ФКР сильнопатогенного штаму *56* в середовищі говорять про меншу фітотоксичність ФКР штаму *56* порівняно з ФКР штаму *ab*. Взагалі ФКР різних варіантів мали здатність пригнічувати морфогенез в культурі ізольованих зрілих зародків досліджених сортів пшениці, як стійких, так і сприйнятливих до патогена. Найбільш токсичними для зразків пшениці в культурі *in vitro* виявилися ФКР слабопатогенного штаму *ab*, які *in vitro* навіть у низькій концентрації значно пригнічували ріст та розвиток проростків пшениці. Ці дані збігаються з даними А.Л. Мазур та С.О. Ігнатової, які відзначили більшу фітотоксичну активність слабопатогенного штаму *F. graminearum* (Мазур, Ігнатова, 2005; Мазур, 2005).

В цілому реакції в умовах *in vitro* сприйнятливого сорту пшениці Одеська напівкарликова та високостійкої лінії 5/20-91 на присутність в середовищі MS ФКР *F. graminearum* обох штамів відповідали результатам оцінки їх польової стійкості. Тому для виявлення показника *in vitro*, відповідного польовій стійкості зразків пшениці до фузаріозу колоса, необхідним стало визначення сили кореляційного зв'язку між польовою стійкістю до фузаріозу

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНИХ

Таблиця 1. Морфо-фізіологічні показники десятиденних проростків м'якої пшениці в культурі ізольованих зрілих зародків під впливом ФКР *F. graminearum*

Зразки пшениці	Контроль	<i>ab</i> 15 %	<i>ab</i> 30 %	56 15 %	56 30 %
Частота проростання, %					
5/20-91 (9 балів)	92,50±8,16	82,35±18,12	63,33±17,24**	80,00±12,40	40,00±16,23**
Вікторія одеська (8 балів)	96,67±6,42	51,43±16,56	13,33±12,16**	80,00±17,24	36,67±17,24**
Селянка (6 балів)	91,43±9,27	80,00±13,25	85,71±11,59	92,16±7,38	77,14±13,91
Фантазія одеська (5 балів)	100,00±0,00	76,67±15,14	76,67±15,14	100,00±0,00	73,33±15,82
Сирена одеська (4 бали)	93,33±8,93	80,00±17,53	46,67±17,85**	63,33±16,45	44,00±16,45**
Одеська напівкарл. (3 бали)	93,33±8,93	32,35±15,73	34,29±15,73	67,65±14,31	20,00±14,31**
Довжина колеоптиля, мм					
5/20-91 (9 балів)	25,60±4,37	22,00±7,84	16,05±2,47**	20,06±2,63	17,07±3,25**
Вікторія одеська (8 балів)	15,10±5,34	9,72±3,86	9,00±7,88	14,50±5,27	9,73±3,74
Селянка (6 балів)	17,63±3,46	7,32±2,42**	9,60±2,43**	11,89±1,73	9,07±2,04**
Фантазія одеська (5 балів)	22,77±3,35	15,83±2,20**	14,83±1,10**	22,84±1,92	15,73±2,20**
Сирена одеська (4 бали)	16,50±5,07	5,88±1,96**	11,93±5,82	11,68±4,18	11,45±5,07
Одеська напівкарл. (3 бали)	13,46±2,62	6,73±2,13**	10,50±2,23	11,13±1,48	7,33±1,20**
Довжина проростка, мм					
5/20-91 (9 балів)	88,70±21,20	58,67±40,51	73,79±15,61	99,97±12,92	76,64±15,26
Вікторія одеська (8 балів)	44,79±14,36	23,78±11,84	24,25±21,49	48,54±17,17	20,09±10,16**
Селянка (6 балів)	82,25±14,98	28,79±9,36**	41,07±10,29**	60,30±7,68	50,59±9,33**
Фантазія одеська (5 балів)	96,07±18,35	46,35±12,51**	35,00±7,00**	97,92±11,18	62,91±13,49**
Сирена одеська (4 бали)	50,54±14,56	16,88±3,80**	33,86±14,91	39,53±14,00	26,55±9,54
Одеська напівкарл. (3 бали)	58,11±12,55	23,55±12,62**	39,83±10,87	52,65±8,28	19,67±5,28**
Довжина кореневої частини регенерантів, мм					
5/20-91 (9 балів)	16,17±3,77	9,33±5,10	7,89±2,20**	20,50±4,22	12,36±4,35
Вікторія одеська (8 балів)	29,66±11,79	3,28±1,92**	2,25±3,24**	20,17±7,83	9,91±4,37**
Селянка (6 балів)	57,81±14,96	4,21±2,02**	7,13±2,79**	22,30±6,02**	12,19±4,82**
Фантазія одеська (5 балів)	71,90±17,79	11,43±2,84**	10,00±2,98**	60,64±8,32	30,36±5,88**
Сирена одеська (4 бали)	33,43±13,15	3,25±3,53**	6,36±3,07**	13,53±6,61**	9,27±4,89**
Одеська напівкарл. (3 бали)	35,68±15,96	3,82±2,78**	7,67±2,20**	14,09±5,31	7,83±3,18**
Маса рослин-регенерантів, г					
5/20-91 (9 балів)	0,04±0,01	0,04±0,03	0,04±0,01	0,04±0,01	0,02±0,01
Вікторія одеська (8 балів)	0,04±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,01±0,01**
Селянка (6 балів)	0,06±0,02	0,02±0,01**	0,02±0,01**	0,03±0,01	0,02±0,01**
Фантазія одеська (5 балів)	0,10±0,03	0,04±0,01**	0,03±0,01**	0,05±0,01**	0,03±0,01**
Сирена одеська (4 бали)	0,05±0,01	0,01±0,00**	0,02±0,01**	0,02±0,01**	0,01±0,01**
Одеська напівкарл. (3 бали)	0,06±0,01	0,02±0,01**	0,04±0,01	0,04±0,01	0,01±0,00**
Показник відношення маси регенерантів до сумарної довжини їх органів, г/м					
5/20-91 (9 балів)	0,30±0,05	0,60±0,25*	0,46±0,07	0,32±0,05	0,26±0,08
Вікторія одеська (8 балів)	0,59±0,16	0,77±0,24	0,64±0,07	0,42±0,11	0,38±0,12
Селянка (6 балів)	0,45±0,08	0,69±0,33	0,62±0,30	0,37±0,07	0,42±0,08
Фантазія одеська (5 балів)	0,61±0,07	0,67±0,15	0,53±0,11	0,33±0,05**	0,26±0,04**
Сирена одеська (4 бали)	0,57±0,11	0,56±0,14	0,63±0,21	0,58±0,24	0,36±0,11
Одеська напівкарл. (3 бали)	0,78±0,14	0,66±0,16	0,83±0,32	0,69±0,09	0,25±0,09**

Примітка: в таблиці представлені середні значення ± довірчий інтервал

* - достовірне збільшення в порівнянні з контролем, $p < 0,05$

** - достовірне зменшення в порівнянні з контролем, $p < 0,05$

КОРНЯ

Таблиця 2. Коефіцієнт рангової кореляції Спірмена r між морфо-фізіологічними показниками рослин-регенерантів, культивованих на середовищах з ФКР, та результатами оцінки польової стійкості досліджених зразків пшениці

Варіант ФКР	Довжина ко- леоптиля	Довжина проростка	Довжина ко- реневої час- тини рослини	Маса рослини	Відсоток про- ростання зарод- ків
ab 15 %	0,60	0,71	0,49	0,71	0,49
ab 30 %	-0,77	0,09	-0,14	0,26	0,14
56 15 %	-0,03	0,60	0,54	0,37	0,49
56 30 %	0,09	0,60	0,54	0,83	0,14

Таблиця 3. Кореляційний аналіз польової стійкості до ФК досліджених зразків пшениці з *in vitro* толерантністю до ФКР за показником $\Delta\rho$

Зразки пшениці	Польова стійкість за 10-бальною шкалою	Толерантність до модифікованих ФКР <i>in vitro</i> за відносним показником $\Delta\rho$: дослід/контроль			
		ФКР штаму ab		ФКР штаму 56	
		15%	30%	15%	30%
5/20-91	9	2,00	1,53	1,07	0,87
Вкторія одеська	8	1,31	1,08	0,71	0,64
Селянка	6	1,53	1,38	0,82	0,93
Фантазія одеська	5	1,10	0,87	0,54	0,43
Сирена	4	0,97	1,09	1,00	0,62
Одеська напівкарликова	3	0,85	1,06	0,88	0,32
Коефіцієнт кореляції Спірмена r_s		0,97*	0,09	0,70	0,70

Примітка: * – коефіцієнт кореляції r_s на рівні значущості $p < 0,05$

колоса і толерантністю до ФКР в культурі *in vitro* за різними морфо-фізіологічними показниками. За отриманими даними у дослідних варіантах відносно контрольних було розраховано коефіцієнт рангової кореляції Спірмена r_s (табл. 2).

За результатами дослідження впливу ФКР *F. graminearum* на експланти пшениці в умовах *in vitro* за морфо-фізіологічними показниками рослин-регенерантів виявлено, що не для всіх генотипів, морфо-фізіологічних показників, штамів і концентрацій отримано достовірні відмінності від контролю (табл. 1). За даними табл. 2 за дослідженими показниками регенерантів в культурі *in vitro* за дії ФКР виявлено слабку кореляцію з оцінкою польової стійкості до фузаріозу колоса у досліджених зразків пшениці. При цьому ФКР сильнопатогенного штаму 56 в *in vitro* умовах неспецифічно та в основному у високих концентраціях пригнічували морфогенез пшениці, що пояснюється низьким рівнем кореляції. Однак за дії ФКР штаму ab в концентрації 15% досліджені показники в культурі *in vitro* тісно корелювали з польовою оцінкою стійкості до фузаріозу колоса. Втім, у жодному варіанті коефіцієнт кореляції не відповідав 95% рівню значущості, що свідчить про його недостовірність.

Тому досліджені морфо-фізіологічні показники є малоефективними і не можуть бути використані в оцінці стійкості пшениці до фузаріозу колоса в умовах *in vitro*. Це спонукало ввести новий показник для оцінювання рослин-регенерантів пшениці. На нашу думку, такий показник повинен відображати зміну цілісної системи органів рослини за дії стресового фактора, яким є ФКР у поживному середовищі. Оскільки рослина-регенерант – цілісний організм із системою пов'язаних органів, цілком справедливо застосувати формулу, що описує зв'язок всередині такої системи. Нами пропонується новий показник \bar{P} , що визначає відношення маси рослини в одиниці її довжини за формулою 1.

За отриманими даними показника відношення маси до довжини рослини-регенеранта маємо групу сортів пшениці, у яких не було знайдено впливу жодних варіантів ФКР (табл. 1). Це такі сорти, як Сирена одеська та Селянка, які за даними фітопатологічної оцінки є толерантними до фузаріозу колоса та Вікторія одеська – стійка. Експериментальні дані щодо сортів Фантазія одеська та Одеська напівкарликова показують вплив ФКР штаму 56 ($p < 0,05$) та слабкий вплив ФКР штаму ab. А для високостійкої до ФК лінії 5/20-91 виявлено збільшення

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНИХ

значення показника \bar{P} у два рази ($p < 0,05$). Позитивний вплив ФКР на відносні значення показника \bar{P} може пояснюватись морфогенетичним потенціалом високостійкої до патогена форми пшениці за дії метаболітів патогенного гриба під час інфекції. Оскільки значення показника \bar{P} відображає масу рослини-регенеранта, яка припадає на одиницю її довжини, то збільшення показника \bar{P} показує зростання маси рослини за збереження її відносної довжини.

Для оцінки стійкості в культурі *in vitro* рослин-регенерантів отримані у дослідних варіантах дані слід відносити до контрольних та представляти їх за показником Δp (табл. 3). За отриманими результатами із ФКР *F. graminearum* двох штамів *ab* та *5b* за показником Δp найбільш ефективним для оцінювання стійкості в умовах *in vitro* виявився ФКР штаму *ab* у концентрації 15%.

За допомогою відносного показника Δp виявлено, що за дії селективного фактора середнє значення \bar{P} (г/м) збільшується відносно контролю в два рази у стійких зразків ($p < 0,05$), майже не змінюється у середньостійких, і зменшується відносно контролю у сприйнятливих до фузаріозу колоса зразків пшениці. Таким чином, оцінка стійкості *in vitro* з використанням даного показника Δp є найбільш ефективною і може бути використана у селекційних програмах. Даний показник з високою достовірністю дозволяє проводити *in vitro* оцінку стійкості матеріалу пшениці на рівні, максимально наближеному до польового оцінювання стійкості. Коефіцієнт кореляції склав $r_s = 0,97$.

Для пояснення отриманих у дослідженні даних нами був зроблений аналіз літературних джерел патогенезу фузарієвих грибів, ініціації та розвитку інфекції на рослині. Відомо, що гриби та мікроорганізми в першу чергу уражують паренхімні та меристематичні тканини, а в останню – клітини провідних пучків (Волощук та ін., 2002). Проростання гіфів відбувається через породи, а потім міжклітинно, уражуючи переважно паренхімні та меристематичні тканини. За даними В.І. Білай (1977), на проростання гіфів всередину рослинних тканин впливає «упаковка» клітинної стінки рослини, яка піддається деградації ферментами гриба. За впливу ретарданту хлорхолінхлориду (XXX) на рослини злаків виявлено зменшення інфекційних захворювань, спричинених грибами, за рахунок ущільнення та потовщення соломини, яке пов'язане з призупиненням активного росту верхівкової меристеми та стимулюванням поді-

лів клітин в поперечному напрямку (Регулятори ... , 1979). На основі цитологічного аналізу, за результатами якого ФКР *F. graminearum* не впливав на активність поділу клітин кореневої меристеми високостійкої лінії пшениці 5/20-91 (Серков та ін., 2010), можна припустити, що у стійких до *F. graminearum* форм пшениці існують внутрішні фізіолого-біохімічні механізми, які забезпечують приріст маси на одиницю довжини, напевно, за рахунок реалізації клітинних поділів під впливом патогена та через блокування їх розтягнення. Таким чином здійснюється ущільнення рослинної тканини. Даний механізм у рослин може бути захисним проти проникнення грибного міцелію всередину тканин.

Отримані нами дані про властивості модифікованих ФКР гриба *F. graminearum* слабопатогенного штаму *ab* дають підстави для наступного етапу досліджень ефективності використання даного селективного фактора в селекції для створення шляхом андрогенезу *in vitro* толерантних гомозиготних форм пшениці із стійкістю до *F. graminearum*.

ЛІТЕРАТУРА

- Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. – Х.: ХНУ ім. В.Н. Каразіна, 2007. – 288 с.
- Бабаянц Л.Т., Бабаянц О.В., Васильев А.А., Палянский В.А. Исходный материал для селекции озимой мягкой пшеницы на групповую устойчивость к фитопатогенам // Зб. наукових праць СГП-НЦНС. – Одеса, 2007. – Вип. 9 (49). – С. 224-237.
- Балашова И.А., Бабаянц О.В., Звездин Г.А., и др. Применение дуплексной ПЦР для детекции трихоценовых генов *Tri5* и *Tri6* у грибов рода *Fusarium* // Современная биотехнология сельскохозяйственных растений и биобезопасность (геном растений VI). Тез. VI междунар. конф. (7-10.09.2010 г.). – Одесса, 2010. – С. 89.
- Билай В.И. Фузариоз. – Киев: Наукова думка, 1977. – 442 с.
- Волощук С.І., Бойко Н.Г., Волощук Г.Д., Гірко В.С. Ріст і морфогенні реакції калусних культур пшениці при культивуванні з асоціативною та патогенною мікрофлорою // Наук.-техн. бюлетень Миронівського ін-ту пшениці ім. В.М. Ремесла. – 2002. – Вип. 2. – С. 96-105.
- Волощук С.І., Волощук Г.Д., Гірко В.С. Використання технології *in vitro* в селекції пшениці на стійкість до грибних патогенів // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. – К.: Логос, 2001. – Т. 1. – С. 625-634.

КОРНЯ

- Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
- Гржибовский А.М. Выбор статистического критерия для проверки гипотез // Экология человека: практикум. – 2008а. – № 11. – С. 48-57.
- Гржибовский А.М. Доверительные интервалы для частот и долей // Экология человека: практикум. – 2008б. – № 5. – С. 57-60.
- Грушко Г.В., Линченко С.Н., Хан В.В. Биохимические и токсикологические особенности микотоксина, продуцируемого грибами-патогенами озимой пшеницы // Успехи современного естествознания. Медицинские, социальные и экономические проблемы сохранения здоровья населения. III научн. конф. с междунар. участием (Анталия, Турция, 22-29.05.2005 г.). – Анталия, 2005. – № 8. – С. 74-79.
- Корня Т.М., Балашова И.А., Игнатова С.А. Селективные свойства фильтрата культуральной жидкости гриба *Fusarium graminearum* в культуре *in vitro* пшеницы // Современная биотехнология сельскохозяйственных растений и биобезопасность (Геном растений VI). Тез. VI междунар. конф. (Одесса, 7-10.09.2010 р.). – Одесса, 2010. – С. 13.
- Мазур А.Л. Эффекты воздействия фильтрата культуральной жидкости штаммов фузариевых грибов на рост проростков из зрелых и незрелых зародышей в культуре *in vitro* // Биологические основы селекции и генофонда растений. Мат-лы Междунар. научн. конф. (Алматы, 3-4.11.2005 г.). – Алматы, 2005. – С. 443-447.
- Мазур А.Л., Игнатова С.А. Особенности воздействия фильтратов культуральной жидкости штаммов гриба *Fusarium graminearum* на изолированные зародыши пшеницы // Актуальные проблемы иммунитета и защиты сельскохозяйственных культур от болезней и вредителей. Междунар. научно-практическая конф. (Одесса, 1-4.09.2007 г.). – Одесса, 2007. – С. 37.
- Мазур А.Л., Игнатова С.А. Отзывчивость изолированных зрелых зародышей разных сортов пшеницы на действие культурального фильтрата *Fusarium graminearum* // Стрес і адаптація рослин: Фізіологія. Біохімія. Генетика. Мат-ли семінару молодих учених, аспірантів і студентів (Харків, 5-6.10.2005 р.). – Харків, 2005. – С. 76-77.
- Орвис В. Excel для ученых, инженеров и студентов. – Киев: Юниор, 1999. – 528 с.
- Пат. 12712 U. Україна, МПК (2006) C12Q 1/02. Спосіб експресного визначення здатності грибів *Fusarium* spp. продукувати зеараленон / Рухляда В.В., Андрійчук А.В., Білан А.В. – № u200508728; заявл. 13.09.2005; опубл. 15.02.2006. Бюл. № 2/2006.
- Регуляторы роста растений. / Ред. Г.С. Муромцев. – М.: Колос, 1979. – 279 с.
- Серков С.А., Корня Т.М., Игнатова С.А. Влияние метаболитов *Fusarium graminearum* на митотическую активность клеток корешков пшеницы // Биология – наука XXI века. Сборник тез. 14 Пушкинской междунар. школы-конф. мол. ученых (Пушино, 19-23.04.2010 г.). – Пушино, 2010. – Т. 1. – С. 285-286.
- Bruins M.B.M., Karsai I., Schepers J., Snijders C.H.A. Phytotoxicity of deoxynivalenol to wheat tissue with regard to *in vitro* selection for fusarium head blight resistance // Plant Sci. – 1993. – V. 94. – P. 195-206.
- Dyer R.B., Plattner R.D., Kendra D.F., Brown D.W. *Fusarium graminearum* TR14 is required for high virulence and DON production on wheat but not for DON synthesis *in vitro* // J. Agric. Food Chem. – 2005. – № 53 (23). – P. 9281-9287.
- Eudes F., Comeau A., Rioux S., Collin J. Trichothecene-mediated *in vitro* selection in wheat for reduced mycotoxin accumulation caused by *Fusarium graminearum* // Can. J. Plant Sci. – 2008. – V. 88. – P. 1115-1125.
- Gardiner D.M., Kazan K., Manners J.M. Nutrient profiling reveals potent inducers of trichothecene biosynthesis in *Fusarium graminearum* // Fungal Genet. Biol. – 2009. – V. 46. – P. 604-613.
- Nicolson P., Gosman N., Draeger R. et al. The Fusarium head blight pathosystem. Status and knowledge components // Wheat Production in Stressed Environments. – 2007. – P. 23-36.

Надійшла до редакції
19.08.2010 р.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНИХ

EFFICIENCY OF USE OF MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL FEATURES FOR *IN VITRO* EVALUATION OF RESISTANCE OF SOFT WHEAT SAMPLES TO *FUSARIUM GRAMINEARUM*

T. M. Kornya

*South Plant Biotechnology Center
National Academy of Agrarian Science of Ukraine
(Odessa, Ukraine)*

The results of the study of correlation between tolerance *in vitro* to the culture liquid filtrate (CLF) *Fusarium graminearum* on wheat samples of different morpho-physiological parameters and field evaluation of resistance to Fusarium head blight are presented. Shown that the use ratio of mass to the total length of the regenerated plants were obtained on selective medium with modified CLF in comparison with control samples is effective in evaluation the *in vitro* samples of wheat to the disease caused by the fungus *F. graminearum*. To prepare the modified CLF the fungus *F. graminearum* were cultivated on Чапек medium with the addition of toxin production factors – amino acid mixture.

Key words: *Triticum aestivum L., Fusarium graminearum, culture in vitro of isolated mature embryos, culture liquid filtrate*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ *IN VITRO* УСТОЙЧИВОСТИ ОБРАЗЦОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ К *FUSARIUM GRAMINEARUM*

Т. М. Корня

*Южный биотехнологический центр в растениеводстве
Национальной академии аграрных наук Украины
(Одесса, Украина)*

Приведены результаты изучения корреляционной связи между толерантностью *in vitro* к фильтратам культуральной жидкости (ФКЖ) *Fusarium graminearum* образцов пшеницы по разным морфо-физиологическим показателям и их полевой устойчивостью к фузариозу колоса. Показано, что использование показателя отношения массы к общей длине растений-регенерантов на селективной среде с модифицированными ФКЖ по сравнению с контрольными образцами является эффективным в оценке *in vitro* образцов пшеницы к заболеванию, вызываемому грибом *F. graminearum*. Для приготовления модифицированных ФКЖ грибок *F. graminearum* культивировали на питательной среде Чапека с добавлением факторов токсинообразования – смеси аминокислот.

Ключевые слова: *Triticum aestivum L., Fusarium graminearum, культура изолированных зрелых зародышей in vitro, фильтрат культуральной жидкости*