

breeding were assessed for the presence of the 1AL/1RS translocation using alcohol-soluble proteins of grain as biochemical markers. The 1AL/1RS translocation (and thus the presence of the gene *Sr1RS^{Amigo}*) was identified in 12 winter varieties and 1 spring variety developed in the last 15 years. These varieties with the gene *Sr1RS^{Amigo}* are potentially resistant to race Ug99 and could serve as valuable sources in breeding for resistance to stem rust race Ug99.

**Захист і карантин рослин. 2010. Вип. 56.
УДК 632: 633.16**

Г.О. КОСИЛОВИЧ, кандидат біологічних наук, доцент
Львівський національний аграрний університет;

Ю.М. КОНОНЕНКО, кандидат біологічних наук, старший науковий
співробітник
Інститут захисту рослин УААН

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОПУЛЯЦІЙ ЗБУДНИКА БОРОШНИСТОЇ РОСИ ЯЧМЕНЮ В ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

В умовах Західного, Центрального та Північного Лісостепу України проведено порівняльний аналіз вірулентності популяцій збудника борошністої роси ярого ячменю. Встановлено частоту вірулентності для головних специфічних генів стійкості. Виявлені зміни в структурі популяції патогена свідчать про високу внутрішньовидову мінливість збудника хвороби.

ячмінь ярий, борошніста роса, вірулентність, гени стійкості, гени вірулентності, структура популяції патогена

Борошніста роса, збудником якої є гриб *Blumeria graminis* DC Speer f. sp. *hordei* Em. Marchal, одна із найпоширеніших і найшкідливіших хвороб ячменю. Ураження нею рослин призводить до зниження врожаю та погіршення якості зерна. В Україні борошніста роса ячменю поширена в усіх зонах вирощування зернових культур, особливо — в Лісостепу [1, 2, 3, 5].

Використання у виробництві сортів, стійких проти ураження збудниками хвороб, має винятково важливе значення в інтегрованих системах захисту посівів сільськогосподарських культур з метою обмеження застосування пестицидів. Проте, стійкість сортів з часом зменшується, а згодом втрачається зовсім. Причиною цього є властива патогенним мікроорганізм-

мам здатність пристосовуватися до нових сортів рослин. На території країни види патогенів представлені популяціями, які в генетичному відношенні є гетерогенними, тобто складаються з різних за вірулентністю рас, штамів, патотипів. У популяціях мікроорганізмів спостерігається швидке утворення нових за вірулентністю і агресивністю форм унаслідок їх мінливості. До того ж значної швидкості розмноження нові раси патогена впродовж кількох років здатні поширитись на значні території, витісняючи інші, менш вірулентні та агресивні, і уражуючи сорти, що раніше характеризувалися стійкістю проти збудника хвороби [4, 5, 7, 8].

Створення стійких сортів та обґрунтування районування їх неможливе без знання складу популяції патогена в тій чи іншій зоні та систематичного контролю за його змінами. Від цього залежить тривалість збереження властивостей стійкості сорту. Причиною виникнення нових патотипів (рас) збудника хвороби, поряд з гібридизацією, гетерокаріозом і парасексуальним процесом є спонтанні мутації за ознакою вірулентності. Патотипи зі зміненою вірулентністю завжди присутні у популяції патогена в незначній кількості і одержують перевагу в розмноженні за подолання функції генів стійкості [7].

Метою наших досліджень було визначення генетичної структури збудника борошністої роси ячменю в зоні Лісостепу України, порівняння вірулентності популяцій патогена в умовах західного, центрального та північного регіонів, а також моніторинг динаміки структури популяції, оскільки гриб *Blumeria graminis f. sp. hordei* належить до патогенів, що легко поширюються повітряними течіями.

Матеріали та методика досліджень. Інфекційний матеріал збудника борошністої роси у вигляді добре розвинених подушечок гриба на листках ячменю збирали у різних пунктах зони Лісостепу України — дослідні поля Львівського національного аграрного університету та Інституту землеробства і тваринництва західного регіону УААН (Західний Лісостеп, Львівська область), колекційний розсадник Миронівського інституту пшениці ім. В.М. Ремесла УААН (Центральний Лісостеп, Київська область), дослідні поля Інституту фізіології рослин і генетики НАНУ (Північний Лісостеп, Київська область). Аналіз вірулентності популяцій збудника борошністої роси ячменю проводили, використовуючи метод відрізків листя на бензімідазолі [6, 9]. У лабораторних умовах виділяли моноспорові ізоляти гриба, а для визначення вірулентності патотипів гриба використовували ізогенні лінії сорту *Pallas*.

Результати досліджень. Аналіз частот генів вірулентності в популяції збудника борошністої роси ячменю, що відповідають генам стійкості тест-набору, дає повну інформацію про рівень ураження сортів, відображає загальну картину шкідливості збудника та є ефективним способом відображення генетичної структури популяції патогена. Ці гени позначають буквою V з індексом, що відповідає генів стійкості, що долається. У табл. 1 наведено частки ізолятів, які долали певний ген стійкості, або, що те саме, частоти відповідних генів вірулентності.

1. Частоти генів вірулентності (%) в популяції збудника борошністої роси ячменю в умовах Лісостепу України (2006—2010 рр.)

Гени вірулентності	Західний Лісостеп					Центральний Лісостеп				Північний Лісостеп			
	2006	2007	2008	2009	2010	2006	2007	2008	2009	2006	2007	2008	2010
Va1	49	47	52	50	54	70	86	81	71	—	64	62	81
Va3	27	28	25	29	23	77	86	68	88	50	68	60	86
Va6	59	63	62	78	90	55	97	51	94	50	90	92	79
Va7	78	79	74	78	75	65	79	88	—	—	62	55	27
Va7+Vk	56	52	64	62	58	78	86	84	75	—	69	62	73
Va8	59	82	67	78	82	91	86	97	86	—	73	94	92
Va9	73	70	68	69	71	39	72	59	61	—	51	42	38
Va10+V(Du)	37	35	38	42	40	35	83	72	—	—	60	65	46
Va13+V(Ru3)	21	18	19	20	24	52	83	75	—	—	64	13	27
Va22	70	71	65	62	63	82	86	73	91	58	60	78	86
Va23	11	9	8	10	9	39	24	34	—	—	29	13	38
V(Ru2)	31	32	33	30	29	30	52	53	82	—	58	32	65
Vnn	59	60	54	58	55	70	79	81	57	—	62	90	85
Vp	38	45	65	68	70	39	62	50	—	—	29	77	85
Vat	38	40	36	33	32	39	59	66	46	—	47	55	65
Vo5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	0	0	19
V(La)	19	20	18	25	22	65	86	94	82	—	58	97	92
Vra	58	59	55	62	60	64	48	29	91	58	68	57	75
Vk	66	64	64	63	62	55	72	51	91	50	64	89	61
Vh	68	73	70	66	69	77	45	73	97	58	82	92	89
Vn	64	68	59	60	65	64	66	90	94	8	76	100	89
Vg + V(CP)	78	77	81	78	80	68	45	68	84	58	68	78	68
Va1 + Vat	25	32	26	35	30	59	90	83	84	92	90	95	100
Va12	22	20	25	25	23	—	—	—	—	—	—	—	—
Va9 + Vk	70	75	74	70	72	—	—	—	—	—	—	—	—

Впродовж п'яти років досліджень (2006—2010 рр.) у популяціях збудника борошністої роси ячменю в умовах Західного, Центрального та Північного Лісостепу виявлено високу частоту (понад 50%) для генів вірулентності Va6, Va7+Vk, Va7, Va9, Va22, Vra, Vk, Vnn, Vg+V(CP), Vh, Vp, Vn, Va8. Однак, на відміну від західної частини, в Центральному та Північному Лісостепу також виявлено високі частоти для генів вірулентності Va1, Va3, Va10+V(Du), Va13+V(Ru3), V(La), Va1+Vat. Результати

досліджень свідчать про низьку ефективність відповідних генів стійкості, що, ймовірно, є наслідком вирощування у різних регіонах зони Лісостепу однакового набору сортів, які характеризуються схожим типом стійкості проти збудника хвороби.

Низькі частоти в умовах Західного Лісостепу України спостерігалися для генів вірулентності Va3, Va10+V(Du), Va13+V(Ru)3, Va23, V(Ru2), Vat, V(La), Va1+Vat, що вказує на ефективність відповідних генів стійкості на даний час. У популяціях Центрального та Північного Лісостепу найменшу частоту вірулентності встановлено для гена Va23.

Для гена стійкості *mlo5* не знайдено жодного вірулентного ізоляту впродовж усіх років досліджень на території всієї зони Лісостепу. Лише в 2010 р. в Північному Лісостепу було виявлено 19% вірулентних ізолятів збудника. З літературних джерел відомо, що на полях *mlo*-стійкі сорти ячменю іноді потерпають від спалахів борошністої роси. Ці спалахи є спорадичними та перехідними і не виникають через генетичні зміни в популяції збудника, вони пов'язані з незвичними умовами навколишнього середовища. В нашому випадку, до часткової втрати *mlo*-стійкості призвела висока температура повітря та недостатня кількість опадів у 2010 році. Також в окремих випадках спостерігалася реакція надчутливості, тобто утворення некрозів у місцях проникнення інфекції у тканини рослини.

Стійкість ячменю проти збудника борошністої роси контролюється низькою домінантних генів, які локалізовані в 4 і 5 хромосомах рослин. Множинний алелізм виявлено в різних локусах стійкості рослин ячменю щодо борошністої роси. Mla-локус характеризується комплексним поліморфізмом. В даному локусі знаходиться до 31 різних алелів. Стійкість *mlo* не є расоспецифічною і зумовлена рецесивним геном, локалізованим у хромосомі 4Н. Цей тип стійкості, незважаючи на довготривалий і цілеспрямований тиск з боку патогена, є ефективним та, судячи з наших досліджень і повідомлень літератури, тривалим проти всіх патотипів (рас) борошністої роси.

Результати статистичної обробки даних показали достовірні відмінності за ознакою вірулентності між популяціями збудника із Західного Лісостепу та популяціями з Центрального та Північного Лісостепу. Їстотна відмінність у частотах спостерігалась для генів вірулентності Va1, Va3, Va6, Va7+Vk, Va10+V(Du), Va13+V(Ru3), Va23, V(Ru2), Vnn, V(La), Vh, Va1+Vat, що доведено статистично (табл. 2). Їстотну відмінність у частотах між Західним та Північним Лісостепом встановлено для генів вірулентності Va7, Va9, Vat. Для генів вірулентності Va8, Va22, Vp, Vra, Vk, Vn практично не виявлено відмінностей у частотах, за винятком деяких років спостережень. Різниця частот пояснюється різним сортовим набором, відмінностями у погодних умовах (Західний Лісостеп є зоною достатнього та, на відміну від Центрального та Північного Лісостепу, надмірного зволоження), конкурентоздатністю рас всередині популяцій, міграцією рас з сусідніх територій.

2. Статистичний аналіз частот генів вірулентності збудника борошнистої роси ярого ячменю в умовах Лісостепу України (за х²)

Гени вірулентності	Західний-Центральний				Західний-Північний				Центральний-Північний			
	2006 р.	2007 р.	2008 р.	2009 р.	2006 р.	2007 р.	2008 р.	2010 р.	2006 р.	2007 р.	2008 р.	2008 р.
Va1	3,49	15,02**	15,02**	4,43*	—	4,15*	0,87	6,65**	—	4,23*	—	3,08
Va3	23,03**	36,46**	36,46**	38,34**	2,95	26,73**	17,08**	35,70**	2,64	3,22	0,66	0,66
Va6	0,16	12,57**	12,57**	4,16*	0,38	12,91**	12,27**	16,33**	0,06	1,12	15,5**	—
Va7	1,88	0,00	0,00	—	—	5,80*	4,99*	29,96**	—	2,40	8,23**	—
Va7+Vk	4,20*	11,87**	11,87**	1,67	—	4,13*	2,30	2,06	—	2,87	4,26*	—
Va8	9,17**	0,27	0,27	0,82	—	1,82	8,92**	1,70	—	1,72	0,38	—
Va9	11,16**	0,05	0,05	0,84	—	5,90*	8,04**	11,21**	—	3,32	1,92	—
Va10+V(Du)	0,04	22,85**	22,85**	—	—	8,97**	7,43**	0,36	—	4,26*	0,39	—
Va13+V(Ru3)	10,92**	51,92**	51,92**	—	—	38,06**	0,75	0,08	—	2,91	24,6**	—
Va22	1,35	2,79	2,79	9,71**	0,72	2,37	2,50	11,22**	2,20	5,96*	0,29	—
Va23	13,64**	5,59*	5,59*	—	—	12,20**	0,67	17,50**	—	0,20	4,00*	—
V(Ru2)	0,00	4,27*	4,27*	27,93**	—	10,17**	0,01	13,38**	—	0,26	2,80	—
Vnn	0,96	3,97*	3,97*	0,01	—	0,07	14,15**	8,18**	—	2,40	1,06	—
Vp	0,01	2,86	2,86	—	—	3,87*	1,84	2,33	—	7,98**	5,11*	—
Vat	0,01	3,53	3,53	1,75	—	0,66	3,90*	10,68**	—	1,01	0,77	—
Vo5	0	0	0	0	0	0	0	34,51**	—	—	—	—
V(La)	24,32**	52,52**	52,52**	34,96**	—	25,49**	77,70**	52,62**	—	6,65**	0,32	—
Vra	0,26	1,27	1,27	9,71**	0,00	1,20	0,04	13,01**	0,09	2,99	6,02*	—
Vk	1,14	0,78	0,78	9,06**	1,28	0	8,73**	2,16	0,06	0,59	13,2**	—
Vh	17,53**	9,34**	9,34**	12,16**	3,52	1,63	7,59**	8,32**	1,34	11,7**	4,63*	—
Vn	0,00	0,07	0,07	13,55**	14,73**	1,18	22,61**	0,60	9,63**	1,00	3,80	—
Vg+V(CP)	1,08	13,04**	13,04**	0,62	2,46	1,74	0,15	1,58	0,33	4,09*	1,01	—
Va1 + Vat	11,33**	34,40**	34,40**	26,46**	24,55**	52,88**	61,23**	1,52	3,97*	0,00	2,59	—

*P < 0,05. **P < 0,01.

Відомо, що стійкість проти фітопатогенів залежить від генотипів двох взаємодіючих організмів господаря і паразита. Стійкий сорт стає сприйнятливим, якщо в популяції паразита підвищується частота генів вірулентності, комплементарних генам стійкості. Відповідно, чим більші площі посівів сортів з однаковою генетичною природою стійкості, тим сильніший тиск добору на користь відповідного гена вірулентності. Так, вищі частоти вірулентності спостерігалися до генів стійкості, присутніх у сортах, що тривалий час вирощувалися на великих площах. Сорти Роланд з геном стійкості *Mla9* та Миронівський 86, Носівський 11, Престиж з геном стійкості *Mla1* широко використовували у виробництві впродовж багатьох років. Ген стійкості *Mlg* був одним із перших, які почали залучати в селекцію на стійкість як у країнах Європи, так і в Україні (сорт Донезький 9, Каштан, Одеський 100, Одеський 151) [5]. Переважна більшість сортів ярого ячменю, вирощуваних в Україні, мають лише один ген стійкості, а більшість сортів озимого ячменю не мають взагалі специфічних генів стійкості.

Високі частоти *Vra*, *Vh*, *Vnn*, *Va22*, *Va7*, *Vk* можуть бути пояснені перенесенням повітряними течіями спор патогена із сусідніх країн. Генетична структура популяції збудника борошністої роси на території зони Лісостепу України схожа до популяцій гриба прилеглих країн Білорусі, Латвії, Польщі, Чехії, Словаччини щодо вірулентностей *Va3*, *Va6*, *Va9*, а щодо вірулентностей *Va12* і *Va13* лише до Латвії та відмінною щодо генів вірулентності *Va1*, *Va7*, *Vk*, *V* (*La*) [8]. Низка досліджень, описаних у зарубіжній та вітчизняній літературі, свідчить про швидку втрату рослинами стійкості проти інфекційних захворювань внаслідок її генетичної однорідності у вирощуваних сортах, тобто як результат використання для гібридизації одного й того самого донора. Тому збереження впродовж тривалого часу ефективності генів стійкості можливе лише за умов створення і впровадження у виробництво сортів із різними генетичними факторами стійкості.

Вірулентність окремих патотипів збудника борошністої роси визначається комплексністю ізолятів, тобто кількістю генів вірулентності на досліджуваній ізолят. У наших дослідженнях [2, 3, 5] до 1997 року в Західному Лісостепу домінували низьковірулентні патотипи, що налічували від 1 до 4 генів вірулентності на ізолят — 57% ізолятів, до 2010 року їх частка в популяції знизилася до 25%. Високовірулентні патотипи, що мають від 7 до 10 генів вірулентності, до 1997 року займали 21% в популяції, а впродовж останніх років їх частка підвищилася до 60% ізолятів (рис. 1).

У популяціях збудника з Центрального та Північного Лісостепу також домінували високовірулентні патотипи — 82% ізолятів. Частка низьковірулентних патотипів становила 3% (рис. 2). Різниця в комплексності патотипів між популяціями Центрального та Північного Лісостепу становила лише 2—3%. Дослідження показують, що в популяціях збудника борошністої роси ярого ячменю в зоні Лісостепу України спосте-

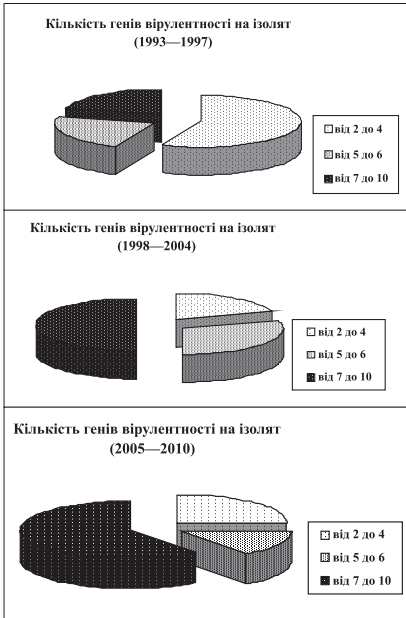


Рис. 1. Вірулентність патотипів збудника борошнистої роси ярого ячменю в Західному Лісостепу

наслідком збіднення генетичної основи селекції, що тривалий час базувалась на обмеженій кількості джерел і донорів стійкості щодо збудників хвороб. Тому необхідний безперервний пошук нових джерел та донорів стійкості серед світової колекції сортів, що є біологічним фундаментом в цьому напрямі. Селекційний процес повинен мати безперервний характер, щоб покращення стійкості було систематичним.

ВИСНОВКИ

1. Визначено внутрішньовидову структуру популяції збудника борошнистої роси ярого ячме-

рігається наростання частки високовірулентних патотипів (рас), що ілюструє високу расоутворюючу здатність патогена, швидкість його пристосування до нових умов, в тому числі й до використання в селекції нових комбінацій стійкості.

Отже, результати досліджень генетичної структури збудника *B. graminis* f. sp. *hordei* в регіонах Лісостепу України продемонстрували, що період ефективної дії більшості відомих генів стійкості, які досліджувалися, закінчився. Оскільки вони дуже часто використовувалися в селекційному процесі, то це призвело до генетичної однорідності сортів за ознакою стійкості та до накопичення високої частоти в популяції відповідних генів вірулентності. Разом з використанням у виробництві одного або кількох генів стійкості з одночасним контролем вірулентного складу популяції патогенів — більш прогресивний спосіб створення нових сортів. Але в наш час низка фітопатологічних проблем є

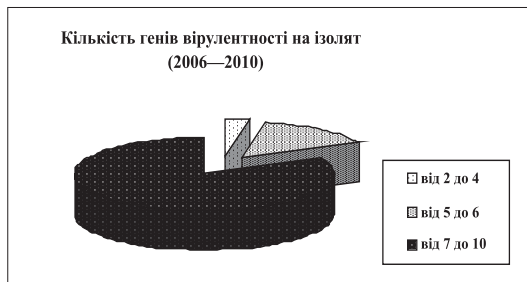


Рис. 2. Вірулентність патотипів збудника борошнистої роси ярого ячменю в Центральному та Північному Лісостепу

ню в зоні Лісостепу України. Встановлено частоту вірулентності для головних специфічних генів стійкості та їх комбінацій. Зміни, що спостерігались у структурі популяції патогена, ілюструють високу внутрішньовидову мінливість збудника хвороби, його швидке пристосування до нових умов.

2. На даний час в умовах Західного Лісостепу України ефективними для включення в схеми селекційного процесу ярого ячменю є гени стійкості *Mla3*, *Mla12*, *Mla13* і *MI(La)*, *mlo5*, в умовах Центрального і Північного Лісостепу — гени стійкості *Mla23* та *mlo5*.

3. Встановлено комплексність патотипів збудника борошністої роси: частка високовірулентних патотипів в популяції Західного Лісостепу становила 60%, в Центральному та Північному Лісостепу — 82%. Частка низьковірулентних патотипів становила 25% та 3% відповідно. Отримані дані свідчать про високу вірулентність досліджуваних популяцій збудника борошністої роси ячменю, що є загрозою втрати стійкості нових сортів ячменю.

4. Оскільки популяція збудника борошністої роси ячменю характеризується швидкою зміною структури, тому важливим і на майбутнє залишається завдання постійного контролю динаміки вірулентності патогена, визначення домінуючих патотипів гриба, а також досконале і детальне вивчення та пошук джерел і донорів стійкості.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. Кононенко Ю.М. Генетична структура збудника борошністої роси ячменю / Ю.М. Кононенко // Карантин і захист рослин. — 2008. — №12. — С. 18.

2. Косилович Г.О. Борошніста роса ячменю в західному регіоні України: вірулентність і стійкість / Г.О. Косилович // Вісник Львівського державного аграрного університету. Агрономія. — Львів : ЛДАУ, 2005. — №9. — С. 322—328.

3. Косилович Г.О. Аналіз вірулентності популяції збудника борошністої роси ячменю в західному регіоні України / Г.О. Косилович // Вісник Львівського державного аграрного університету. Агрономія. — Львів : ЛДАУ, 2006. — №10. — С. 296—301.

4. Косилович Г.О. Внутрішньовидова мінливість збудника борошністої роси ячменю / Г.О. Косилович // Вісник Львівського національного аграрного університету. Агрономія. — Львів : ЛНАУ, 2008. — №12 (1) — С. 144—148.

5. Косилович Г.О. Стійкість сортів ярого ячменю проти збудника борошністої роси / Г.О. Косилович, З.М. Копчик, А.М. Марухняк, О.Т. Вронська // Передгірне та гірське землеробство і тваринництво. — 2001. — Вип.43. — С.102—107.

6. Кривченко В.И. Изучение устойчивости зерновых к мучнистой росе. / В.И. Кривченко // Метод. указания. — Л.: ВИР, 1980. — С. 5—20.

7. Лісовий М.П. Історичні етапи розвитку досліджень генетики стій-

кості рослин щодо збудників хвороб / М.П. Лісовий // Захист і карантин рослин. — 2001. — Вип. 47. — С.3—31.

8. *Hovmoller M.S.* The European barley powdery mildew virulence survey and disease nursery 1993—1999 / M.S. Hovmoller // *Agronomie*. — 2000. — Т. 20. — Р. 729—743.

9. *Wolfe M.S.* The use of virulence analysis in cereal mildews / M.S. Wolfe, E. Schwarzbach // *Phytopathology*. — 1975. — Z. 82. — Р. 297—302.

Косилович Г.А., Кононенко Ю.Н.

Сравнительная характеристика генетической структуры популяций возбудителя мучнистой росы ячменя в Лесостепи Украины

В условиях Западной, Центральной и Северной Лесостепи Украины осуществлено сравнительный анализ вирулентности популяций возбудителя мучнистой росы ярового ячменя. Установлены частоты вирулентности для главных специфических генов устойчивости. Выявленные изменения структуры популяции патогена свидетельствуют о высокой внутривидовой изменчивости возбудителя болезни.

Kosylovych H.O., Kononenko Y.M.

Comparative description the population's genetical compositions of barley powdery mildew in Forest-Steppe of Ukraine

In the under conditions of the Western, Central and Northern region of a zone Forest-Steppe of Ukraine the population's virulence of barley powdery mildew were analyses. The frequencies virulence for matching resistance genes was determined. The educed changes of structure of population of pathogen testify to high intraspecific variability the causal organism of disease.