

**УСПАДКУВАННЯ СТІЙКОСТІ ДО МІСЦЕВОЇ ПОПУЛЯЦІЇ
РАС ЛЕТЮЧОЇ ЧОРНОЇ (*USTILAGO NIGRA*) ТА ТВЕРДОЇ (*USTILAGO HORDEI*)
САЖОК В СЕЛЕКЦІЇ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЮ**

О. М. Шеремет, І. Б. Легкун

Селекційно-генетичний інститут «Національний центр насіннезнавства та сортовивчення» НААН України

Виявлено моногенний домінуючий контроль стійкості до чорної та твердої сажок. У F₂ дигібридного аналізуючого схрещування, частка рекомбінації коливалася у межах 5,0–8,7%. Отже, має місце неповне зчеплення цих генів.

Ключові слова: озимий ячмінь, селекція, сажка, гени стійкості, зчеплене наслідування, групова стійкість.

Сажкові хвороби належать до найбільш шкочинних захворювань озимого ячменю в південному регіоні країни. За даними наших досліджень, проведених разом з Л.О. Дубініною (відділ фітопатології Селекційно-генетичний інститут, у південній зоні найбільшого поширення набули: летюча чорна (*Ustilago nigra*) та тверда або кам'яна (*Ustilago hordei*) сажки. Ці гриби належать до класу Basidiomycetes, сімейства Ustilaginaceae, з роду *Ustilago* [1–3]. Зазначені патогени значно знижують енергію проростання і польову схожість насіння, в результаті чого явні та приховані втрати врожаю за кожним з них можуть становити більше 30%, як наслідок – обов'язковим агроприйомом є протруєння насіння [3–7]. В зв'язку з цим селекція озимого ячменю на резистентність до цих видів патогену є надзвичайно актуальною в плані підвищення рентабельності, через здешевлення технології при масовому виробництві зерна. Альтернативою можуть бути лише толерантні та імунні сорти, але до останнього часу у виробництві таких не було, хоча щодо ярого ячменю, дану проблему частково вирішено.

Стосовно селекції ярого ячменю, роботи на імунність до летючої сажки ведуться з 40-х років минулого століття. Свого часу було знайдено та ідентифіковано гени стійкості Un 1-6, але вони характеризувалися слабким і не гарантованим імунологічним ефектом, ген Un 7 також не давав 100 % ефекту. Лише ген Un 8, виявлений у сортозразка з Північного Кавказу, ідентифікували як домінуючий та ефективний до всіх рас летючої сажки [8]. До того ж, у нашій колекції виявлено сорт Джау Кабутак, аборигенний зразок з високогірних районів Паміру, який також є ефективним донором стійкості.

Дослідження Падьоріної (1982 р.) показали, що сорти з відомими генами стійкості до летючої сажки – Jet (run4, Run3, Run6), Dorsett (Run4), Нутанс 78 (Run8), Ogalitsu (run3) зберігали стійкість і до чорної сажки. Сорти Trebi (Run1), Keystone (Run6) виявилися надто сприйнятливими до *Ustilago nigra*. Сорти Massuri (Run2), Anoidium (Run2, run7) уражувалися окремо твердою та чорною сажками. При схрещуванні сортів Jet із Ogalitsu спостерігалось розчеплення в F₂ у прямому схрещуванні 15:1, що свідчить про присутність двох генів стійкості [9]. Проте автор вказує на позитивний ефект використання цих джерел у селекції на стійкість до летючої чорної сажки.

У наших дослідках, ми використали донори стійкості до летючої сажки у селекції озимого ячменю як джерела стійкості до чорної летючої та твердої (кам'яної) сажок.

Основним методом створення нового вихідного матеріалу на резистентність до названих видів сажки був і поки що є метод внутрішньовидової гібридизації.

Із перевірених донорів стійкості до летючої сажки нами використовувались зразки: лінія, Сі 13664 – носій гена (Un 8) (похідна сорту Milton); сорт Джау Кабутак – ген стійкості не ідентифікований. Озимою батьківською формою слугували надчутливі сорти: Одеський 165, Манас, Тамань, Основа.

Вивчення ефективності генів стійкості проводили за моногібридною схемою схрещування. Визначення зв'язку між генами стійкості до летючої чорної та твердої сажок здійснювали за дигібридною аналізуючою схемою в F₃. Принцип підходу полягав у інокуляції

300 рослин F₂ за усіма комбінаціями методом половинок окремо чорною та твердою сажками.

Вивчення спадковості до цих видів сажки проводилось на штучному фоні шляхом інфікування зерен рослин F₁ і F₂ місцевою популяцією хламідоспор, після штучного видалення квіткової плівки. Облік стійкості до популяцій місцевих рас сажок гібридів F₂ проводився після перезимівлі в полі за сівби восени 2004 р., а гібридів F₁ із-за ярого типу – за сівби навесні 2005 р.

Математичну обробку даних проводили методами: χ^2 і дисперсійного аналізу.

Для визначення ефективності використання джерел Сі 13664 та Джау Кабутак (ярого типу розвитку) як можливих донорів стійкості до чорної та твердої сажок на озимому ячмені їх було схрещено з чотирма озимими сортами, які мають імунітет до цих хвороб.

Для виявлення ступеня резистентності гібридів F₁ було взято 100 гібридних зерен із кожної комбінації, спочатку їх розподілили на дві рівні частини, а потім, після попередньої штучної інокуляції місцевою популяцією рас (у першому випадку спорами чорної, у другому – твердої сажки), висіяли у двох окремих дослідах. При цьому в F₁ не було виявлено жодного колоса, який би був інфікований місцевою популяцією патогенів чорної та твердої сажок (табл. 1), тобто в них проявився домінуючий характер стійкості до патогенів. Аналіз сприйнятливості нащадків у F₂, після попереднього зараження зерен за всіма комбінаціями схрещувань, показав співвідношення стійких до ураження генотипів близьке до очікуваного – 3:1. Отже, маємо підстави стверджувати, що використані нами джерела стійкості до летючої сажки є ефективними донорами стійкості озимого ячменю як до чорної летючої, так і до твердої сажки. Генетичний контроль, як показав гібридологічний аналіз, відбувається моногенно домінують (умовно позначимо ген стійкості до чорної сажки **Ung**, до твердої **Uh**). Це свідчить, що і в комбінаціях з Сі 13664, і в комбінаціях з Джау Кабутак ці ознаки контролюються домінуючим геном.

За характером прояву спостерігається повне домінування, навіть один алель у нащадків зумовлює резистентність генотипу, і для того, щоб позбавитися гетерозигот за цими ознаками потрібно проводити повторні оцінки і відбори в старших поколіннях.

Виникає закономірне питання – ця стійкість зумовлена єдиним геном. Тобто насправді ми маємо приклад плейотропного ефекту, що є ефектом одного гена, чи в цьому випадку дійсно діють два гени, які до того ж зчеплено успадковуються.

В досліді ми розглянули подвійну стійкість за диалельною схемою.

Для вирішення питання про наявність генетичного зв'язку нами проведено аналізуюче схрещування **Ung,ung;Uh,uh** × **ung,ung;uh,uh**. У звичайному випадку незалежного розходження гамет співвідношення класів повинно становити 1 (гетерозигот): 1 (гомозигот). При зчепленому успадкуванні ймовірність виникнення кросинговеру між локусами **Ung,Uh; ung,uh** дуже низька, має відбутися зміна очікуваної формули співвідношення фенотипових класів. Клас гомозигот повинен переважати фенотиповий клас гетерозигот: **Ung,Uh** + **ung,uh**, > **Ung,uh** + **ung,Uh**.

1. Характер успадкування резистентності до популяції рас летючої чорної та твердої сажок у гібридів F₁ і F₂ озимого ячменю при штучній інокуляції

Комбінації схрещування	Кількість рослин	Кількість колосків, шт		Зимостійкість, %	Кількість рослин	Теоретично очікуване розщеплення, шт		Фактичне розщеплення, шт		P
		резистентних	ушкоджених			резистентних	спряятливих	резистентних	спряятливих	
Стійкість до чорної летючої сажки										

F ₁				F ₂							
Одеський 165 x Сі 13664	48	112	0	75,1	580	435,0	145,0	441	139	0,90-0,75	
Манас x Джау Кабутак	47	123	0	69,5	409	381,7	127,3	296	113	0,20-0,10	
Тамань x Сі 13664	48	119	0	73,4	624	468,0	156,0	476	148	0,50-0,25	
Основа x Джау Кабутак	46	120	0	68,1	494	370,3	123,7	374	120	0,80-0,75	
<i>Стійкість до твердої сажки</i>											
Одеський 165 x Сі 13664	47	98	0	72,4	530	397,3	132,7	407	123	0,5-0,25	
Манас x Джау Кабутак	40	86	0	70,7	496	371,7	124,3	377	119	0,9-0,75	
Тамань x Сі 13664	41	99	0	73,1	512	384,0	128,0	391	121	0,5-0,25	
Основа x Джау Кабутак	45	88	0	69,8	489	366,7	122,3	370	119	0,8-0,75	

Враховуючи об'єктивні складнощі у роботі із цим об'єктом, а саме – неможливість одночасного існування двох патогенів на одній рослині, невелика кількість вибірки та ярий тип розвитку в F₁, єдиним можливим методом аналізу даного матеріалу може бути лише сімейно-груповий з інфікуванням зерен F₂ методом половин та оцінка рослин у F₃.

Практичне завдання зводиться до питання: чи є достовірне відхилення фенотипових класів від рівності?

2. Дигібридний аналіз успадкування стійкості до місцевої популяції рас летючої чорної та твердої сажок

Комбінація схрещування	Кількість рослин	Кількість рослин проаналізованих методом половин	Кількість номерів уражених чорною сажкою		Кількість номерів уражених твердою сажкою		%, рекомбінації	χ^2
			F ₃	%	F ₃	%		
F ₁ (Одеський165 × × Сі13664) × Одеський 165	22	300	9	3,0±0,97	10	3,3±1,06	6,3±1,4	114,4
F ₁ (Манас × Джау Кабутак) × Манас	20	300	12	4,0±1,28	14	4,7±1,49	8,7±1,6	102,5
F ₁ (Тамань × Сі13664) × × Тамань	24	300	6	3,3±1,06	9	3,0±0,97	5,0±1,3	121,5
F ₁ (Основа × Джау Кабутак) × Основа	23	300	12	4,0±1,28	11	3,7±1,19	7,7±1,5	107,5

Насіння висівали навесні, тому що гібриди першого покоління мали ярий тип розвитку. Зерно F₂ висівали у звичайні строки, після зимівлі залишилося ≈ 60 % рослин.

У F₂ з кожної популяції ми взяли 300 колосів з різних рослин. Кожному колосові було присвоєно номер та розділено навпіл. Лабораторним методом одну половину колоса було інокульовано чорною, іншу – твердою сажкою.

Отже, нами було інфіковано та закладено два блоки досліду, де на різних фонах аналізувались одні генотипи.

При оцінці обох блоків обліку підлягали зразки, які несли стійкість лише до твердої або чорної летючої сажки. Фактично ми визначали кількість гетерозигот за типом *Ung,uh* і *ung,Uh* та їх частку в загальній вибірці (табл. 2). Кількість гетерозигот зі стійкістю до місцевої популяції рас тільки летючої чорної сажки і з її відсутністю до популяції рас твердої сажки і, навпаки, зі стійкістю до останньої, але без стійкості до першої становила відповідно 3,0–4,0 та 3,3–4,7 %.

Спираючись на аналіз нащадків дигібридного аналізуючого схрещування, можемо засвідчити наявність незначної частки гетерозигот по відношенню до загальної вибірки нащадків, що є переконливим доказом присутності двох домінантних самостійних і, вірогідно, дуже близько розташованих у хромосомі генів стійкості до летючої чорної та твердої сажок.

Висновки

1. При використанні донорів стійкості до летючої сажки Сі 13664 та Джау Кабутак на озимому ячмені нами виявлено їх високу ефективність як донорів стійкості і до чорної, і до твердої сажок.

2. Стійкість до чорної та твердої сажок контролюється двома різними домінуючими генами *Ung, Uh*, які локалізовані у рослин сортів ярого ячменю – Сі 13664 та Джау Кабутак.

3. Вказані гени стійкості до обох видів місцевої популяції рас сажок успадковуються з великою ймовірністю зчеплено. При дигібридному аналізуючому схрещуванні відсоток кросинговеру між ними за усіма комбінаціями не перевищує 8,7 %.

Бібліографічний список

1. *Tapke V.F.* Occurrence, indentification and species validity of the barley loose smuts, *Ustilago nuda*, *U. nigra* and *U. medians* / *V.F. Tapke* // *Phutopathology*. – 1943. – V. 33, № 2. – P. 194–200.
2. *Savulescu T.* Shwarzer Gerstenflugbrand (*Ustilago nigra* Tapke) in der rumanischen Volksrepublik / *T. Savulescu* // *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten (Pflanzenpathologie) and Pflanzenschutz*. – 1957. – Vol. 64, № 7. – P. 437–469.
3. *Широков А.И.* Чёрная головня ячменя в Омской области / *А.И. Широков* // *Защита растений*. – 1879. – № 9. – С. 18.
4. *Широков А.И.* Распределение и расовый состав возбудителей головневых заболеваний ячменя в Омской области / *А.И. Широков, Е.В. Падёрина* // *Микология и фитопатология*. – 1981. – Т. 15, № 3. – С. 250–252.
5. *Кривченко В.И.* Устойчивость зерновых колосковых к возбудителям головневых болезней / *В.И. Кривченко*. – М.: Колос, 1984. – С. 242–260.
6. *Степанских А.С.* Головневые болезни ячменя / *А. С. Степанских*. – Челябинск, 1990. – С. 289–353.
7. *Шеремет О.М.* Підсумки селекції озимого ячменю у Селекційно-генетичному інституті за період 1984-2007 рр. / *О.М. Шеремет*. – Одеса, 2008. – Вип. 12 (52). – С. 96–105. – (Зб. наук. пр. / Селекційно-генетичний ін-т – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення).
8. *Кірдогло Є.К.* Селекційно-генетичні дослідження стійкості ячменю до найбільш поширених в Україні хвороб / *Є.К. Кірдогло*. – Одеса. – Вип 12(52). – С. 58–75. – (Зб. наук. пр. / Селекційно-генетичний ін-т – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення).
9. *Падерина Е.В.* Иммунологическое изучение и селекция ячменя на устойчивость к головневым заболеваниям в южной лесостепи Западной Сибири: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / *Е.В. Падерина*. – Одесса, 1982. – 19 с.
10. *Серебровский А.С.* Определение наличия геносвязи / *А.С. Серебровский* // *Генетический анализ*. – М., 1970. – С. 67–75.