

Работа выполнена при поддержке Гранта РФФИ № 08-03-99029-р\_офи «Создание препаратов для борьбы с болезнями и вредителями пчел».

**КОБИЗЄВА Л.Н., БЕЗУГЛА О.М. ДІДОВИЧ С.В.**

Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН, Україна, 61060, Харків, проспект Московський 142, e-mail: [ppi@kharkov.ukrtel.net](mailto:ppi@kharkov.ukrtel.net)

Південна дослідна станція Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, Україна, 97513, Крим, Сімферопольський р-н, смт. Гвардійське, вул. К.Маркса, 107, e-mail: [uosmicrobiology@rambler.ru](mailto:uosmicrobiology@rambler.ru)

**СКРИНІНГ КОЛЕКЦІЇ НУТУ ЗА РЕАКЦІЮ НА ПЕРЕДПОСІВНУ ОБРОБКУ НАСІННЯ ШТАМАМИ *MESORHIZOBIUM CICERI***

Нут – цінна продовольча і кормова культура, яка має високу стійкість до посухи, практично не ушкоджується гороховою зернівкою та високотехнологічна при збиранні. У зв'язку зі змінами клімату нут набуває в землеробстві України особливого значення. Стримує процес широкого впровадження сортів нуту в аграрне виробництво недостатнє вивчення біології та генетичного потенціалу цієї культури, відсутність рекомендацій по технологіях вирощування нових сортів. Для підвищення продуктивності бобових рослин, родючості ґрунтів за рахунок симбіотичної фіксації азоту – найбільш дешевого, екологічно чистого джерела цього елемента для землеробства, застосовують передпосівну інокуляцію насіння нуту біопрепаратами на основі селекційних штамів *Mesorhizobium ciceri*. Такий агроприйом традиційно має назву нітрагінізація. На її ефективність впливає багато чинників, серед яких значне місце займає специфічність взаємодії генотипів сортів нуту і штамів ризобій. Пошук джерел з позитивною реакцією на обробку насіння високоефективними штамми ризобій і впровадження їх в селекційний процес важливо для генетичного удосконалення саме макросимбіонту за ефективністю симбіотичної азот-фіксації, що надалі забезпечить ефективне створення нових конкурентоспроможних сортів нуту для активного впровадження у сільськогосподарське виробництво.

Метою досліджень було вивчити реакцію колекційних зразків нуту двох нетаксономічних груп – *kabuli* та *desi* на передпосівну обробку насіння високоефективними штамми *M. ciceri* та оцінити доцільність нітрагінізації сучасних сортів нуту на фоні раніше інтродукованої популяції ризобій нуту.

**Матеріали і методи**

В дослідах використовували два селекційних штами *M.ciceri* 065 і Н-12; сорок п'ять зразків нуту різного походження із 13-ти країн Європи, Азії і Америки, з яких: тип *kabuli* із світлим насінням - 20 зразків і тип *desi* з темним насінням – 25 зразків. Досліди проводили в лабораторних і польових умовах за загально прийнятими методиками. Польові випробування були проведені на чорноземі звичайному на дослідних полях Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН. Розмір ділянки – 2 м<sup>2</sup> без повторень, схема посіву - 30x10 см. Ефективність нітрагінізації сортів нуту Ризобіофітом на основі штаму *M. ciceri* 065 досліджували на лучно-чорноземному ґрунті на дослідних ділянках Південної дослідної станції ІСГМ УААН. Облікова площа ділянок складала 4,2 м<sup>2</sup>, повторність дослідів 4-х разова, розміщення варіантів рендомізоване. Перед посівом насіння нуту зволожували (1,5% від маси) водною суспензією семидобової культури кожного штаму *M. ciceri* із розрахунку 10<sup>6</sup> бактерій на насінину, в контролі - водою. Після дію нітрагінізації насіння семи зразків нуту штамом *M.ciceri* 065 вивчали в порівнянні з українськими селекційними зразками та російським сортом Краснокутський 123. Агротехніка відповідала загально прийнятій при вирощуванні нуту в східній частині Лісостепу та Степу України. Попередником була озима пшениця, протруйники і гербіциди не застосовували, бур'яни

знищували вручну. Урожай збирали снопами. Отриману масу насіння перераховували на 100 % чистоту та 14% вологість. Фенологічні спостереження проводили згідно методичних вказівок ВІР з вивчення зернобобових культур [1]. Для визначення ефективності бобово-ризобіального симбіозу в період найбільшої фізіологічної активності рослин – фазі цвітіння проводили відбір по 5 або 10 рослин у 3-х або 4-х повтореннях кожного варіанту досліду і аналізували за симбіотичними показниками: кількістю, біомасою і нітрогеназною активністю корневих бульбочок. Нітрогеназну активність визначали ацетиленовим методом на газовому хроматографі „Chrom-5” [2].

Опис зразків за господарськими властивостями проводився згідно класифікатору роду *Cicer L.* [3]. Сортозразки нуту на стійкість до фузаріозу і аскохітозу оцінювалися на природному фоні згідно методичних вказівок [4, 5]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом дисперсійного аналізу [6].

### Результати та обговорення

Погодні умови в зоні Лісостепу у роки досліджень сприятливо склалися для розвитку і плодоутворення нуту. Високі температури повітря, починаючи з II декади червня, сягали до 32-37°C і пригнічували розвиток аскохітозу, періодичні помірні дощі в другій половині вегетації нуту сприяли оптимальному наливу, що дозволило рослинам сформувати високий врожай якісного насіння.

В результаті проведених досліджень встановлена висока ефективність передпосівної інокуляції нуту штамом *M. ciceri* 065. Застосування штаму *M. ciceri* Н-12 в умовах Харківської області виявилось менш ефективним, про що свідчить біомаса корневих бульбочок і урожайність насіння. Так, у національного стандарту Краснокутський 123, UD0500101 (Росія) при інокуляції штамом 065 маса бульбочок з рослини перевищувала контроль майже в 17 разів, а урожайність насіння складала 110% до контролю. При інокуляції штамом Н-12 маса бульбочок з рослини перевищувала контроль тільки в 7 разів, а урожайність насіння була на рівні контролю.

Передпосівна обробка насіння штамом *M. ciceri* 065 позитивно впливала на біомасу бульбочок, крупність і урожайність насіння. Суттєвого впливу на схожість, тривалість міжфазних періодів, висоту рослин, прикріплення нижніх бобів не виявлено. Нітрагінізація забезпечила формування біомаси бульбочок в 2-32 рази вище за контроль. Маса 1000 насінин у сорту Тріумф, UD0501163 (Україна) при інокуляції ризобіями в середньому перевищила на 51 г контроль, а урожайність насіння – на 46%. Цей сорт був найбільш чутливим на інокуляцію насіння штамом 065.

За результатами 2006-2008 рр. суттєвої різниці між реакцією світлонасінневих і темнонасінневих зразків нуту на інокуляцію не виявлено. Всього позитивно відізналися на передпосівну обробку насіння ризобіями 34 зразки, у яких урожайність насіння була підвищена на 3 г/м<sup>2</sup> і більше. У 13 зразків виявлено підвищення урожайності насіння, у порівнянні з контролем, більш ніж на 16 % (табл. 1).

Таблиця 1

Зразки нуту з позитивною реакцією на передпосівну інокуляцію насіння штамом *M. ciceri* 065 (середнє за 2007-2008 рр.)

№ каталогу	Нац. Сортозразок	Країна походження	Маса 1000 насінин		Урожайність	
			г	± до контролю, г	г/м <sup>2</sup>	% до контролю
1	2	3	4	5	6	7
Світлонасінневі (тип <i>kabuli</i> )						
UD0501163	Тріумф	Україна	461	+ 51	467	46
UD0500424	Розанна	Україна	312	+ 12	564	28
UD0500689	Скороспелка	Росія	234	+ 14	385	27
UD0500762	Заволжский	Росія	244	+ 18	495	19
UD0501268	Р 6231-1	Індія	218	+ 10	560	40

UD0501024	EC 26425	Індія	212	+ 6	501	22
UD0500879	Champion	Індія	234	0	532	20

Продовження табл.1

1	2	3	4	5	6	7
UD0501192	1439 as-22	Канада	392	+ 8	514	18
UD0501186	Flip 97-101c	Канада	388	+ 5	502	17
Темнонасінневі (тип <i>desi</i> )						
UD0501164	Перас	Україна	289	+ 11	616	24
UD0501285	LR 20-1	Сирія	392	+ 12	404	39
UD0501193	463-2	Канада	316	+21	514	17
UD0501190	418-59	Канада	274	+ 18	622	16

Високу ефективність передпосівної інокуляції насіння штамом *M. ciceri* 065 виявлено на українських сортах, у яких урожайність підвищувалася на 3-46% в порівнянні з контролем; сирійській лінії (+12-39%), зразках походженням з Індії (+5-40%) та канадських селекційних лініях (+12-18%). Зразки походженням з цих країн протягом терміну випробувань стабільно показували позитивну реакцію на інокуляцію штамом 065. Найбільшу прибавку урожайності показали сорти української селекції: Триумф, Розанна; лінії з Індії Р 6231-1 і EC 26425; сирійська лінія LR 20-1 та сорт з Росії Скороспелка. Зразки, походженням із США також були чутливі на інокуляцію, яка забезпечила підвищення урожайності в середньому за два роки на 6-15% в порівнянні з контролем, але ця реакція була нестабільна по рокам. Із зразків, походженням з Росії та Західної Європи, були такі, які показали зменшення урожайності насіння.

Проведена оцінка на ураження рослин нуту фузаріозом показала, що нітрагінізація сприяє покращенню фітосанітарного стану посіву нуту. Ступінь ураження рослин фузаріозом була практично однаковою на всіх варіантах досліду, але шкодочинність була значно меншою у варіантах із застосуванням інокуляції ризобіями.

В результаті вивчення післядії нітрагінізації встановлено, що на польову схожість минулорічна обробка штамом *M. ciceri* 065 не вплинула. Позитивна післядія нітрагінізації спостерігалась за такими ознаками: кількістю азотфіксувальних бульбочок на корінні, яка збільшувалася до 3,5 разів у порівнянні з контролем; масою 1000 насінин, яка більшала на окремих зразках на 6-28 г; урожайністю насіння, яка у сортів української селекції: Триумф - була більше на 29% за контроль, Розанна – на 16%, Колорит – на 7%, Луганець – на 7%. Цей факт доводить доцільність використання нітрагінізації на насінницьких посівах, для підвищення посівних властивостей насіння майбутньої репродукції.

У роки досліджень, проведених в зоні Степу України на лучно-чорноземному ґрунті на фоні інтродукованої раніше популяції ризобій нуту щільністю  $10^3$  бульбочкоутворювальних одиниць/г ґрунту умови вегетації нуту сприятливими за вологозабезпеченням були в 2006 та 2008 роках, в 2007 році розвиток рослин проходив в екстремальних умовах - підвищена температура і мала кількість опадів.

За результатами трирічних польових досліджень не виявлено суттєвої різниці між варіантами за симбіотичними показниками, проте встановлено, що передпосівна обробка насіння шести сортів нуту Ризобофітом на основі штаму *M. ciceri* 065 на всіх досліджених сортах підвищила урожайність насіння на 0,9-5,3 ц/га (4-24%) (табл. 2).

Таблиця 2

Ефективність застосування Ризобофіту (*M. ciceri* штам 065) на сучасних сортах нуту (середнє за 2006-2008 рр.)

Варіант досліду	Кількість бульбочок, од/рослину	Маса бульбочок, мг/рослину	Нітрогеназна активність, нМоль етилену на рослину за годину	Урожайність насіння, ц/га
1	2	3	4	5

сорт Пам'ять (тип <i>kabuli</i> )				
Без інокуляції	14,7	566	2377	22,9
Ризобіфіт	12,2	624	2256	24,8
1	2	3	4	5
сорт Розанна (тип <i>kabuli</i> )				
Без інокуляції	11,0	514	1920	20,6
Ризобіфіт	15,9	535	1718	22,7
сорт Буджак (тип <i>kabuli</i> )				
Без інокуляції	16,6	578	1528	23,1
Ризобіфіт	18,8	688	1283	25,0
сорт Антей (тип <i>kabuli</i> )				
Без інокуляції	18,4	648	1204	22,4
Ризобіфіт	20,9	738	2038	27,7
сорт Тріумф (тип <i>kabuli</i> )				
Без інокуляції	24,6	902	3393	29,5
Ризобіфіт	24,9	997	4591	31,1
сорт Александрит (тип <i>desi</i> )				
Без інокуляції	21,9	594	1642	22,9
Ризобіфіт	20,3	667	1803	23,8

За результатами досліджень було створено спеціальну колекцію за реакцією зразків нуту на передпосівну інокуляцію насіння штамом *M. ciceri* 065 і подано її на реєстрацію в Національний центр генетичних ресурсів рослин України (Запит № 159 від 5.11.2008 р.), а також виділено сорт-еталон позитивної реакції на інокуляцію бульбочковими бактеріями штаму 065 – Тріумф, UD0501163 (Україна) та нейтральної реакції – NEC 2149, UD0501224 (Іран).

### Висновки

Експериментально доведено доцільність застосування передпосівної обробки насіння сучасних сортів нуту селекційним штамом *M. ciceri* 065 для підвищення урожайності насіння при вирощуванні в агроценозах Лісостепу і Степу України навіть на фоні раніше інтродукованої популяції. Встановлено, що передпосівна інокуляція насіння селекційними штамми ризобій позитивно впливає на крупність насіння і фітосанітарний стан посівів нуту. Виділено 13 джерел позитивної реакції нуту на нітрагінізацію, у тому числі з України – Тріумф, UD0501163 і Розанна, UD0500424; з Росії – Скороспелка, UD0500689 і Заволжский, UD0500762. Виявлена позитивна післядія нітрагінізації на крупність насіння нуту та урожайність сортів української селекції: Тріумф, Розанна, Колорит, Луганець. Створено і передано на реєстрацію в Національний центр генетичних ресурсів рослин України спеціальну колекцію за реакцією зразків нуту на передпосівну інокуляцію насіння штамом *M. ciceri* 065, яка включає 43 зразки з 12 країн світу.

### Література

1. Методические указания по изучению коллекции зернобобовых культур / [сост. Корсаков Н.И., Адамова О.П., Буданова В.И. и др.; ред. Корсаков Н.И.]. - Л., 1975. - 40 с.
2. Алисова С.М. Методические указания по использованию ацетиленового метода при селекции бобовых культур на повышение симбиотической азотфиксации /С.М.Алисова, А.И.Чундерова. – Л., 1982. – 12 с.
3. Короткий класифікатор роду *Cicer* L. – Харків, 1990. – 5 с.
4. Методические указания по изучению устойчивости зернобобовых культур к болезням / [сост. Голубев А.А., Никитина К.В.; ред. Кривченко В.И.] - Л., 1976. - 126с.

5. Энтомологическая оценка селекционного материала зерновых и зернобобовых культур: методические указания / [под рук. канд. биол. наук А.В. Заговоры] – Харьков, 1980. - 61с.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта /Б.А. Доспехов. – М: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

**КОЗУБ Н.А.,<sup>1,2</sup> СОЗИНОВ И.А.<sup>1</sup>, СОЗИНОВ А.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Институт защиты растений УААН, Украина, 03022, Киев, ул. Васильковская, 33, e-mail: sial@i.com.ua

<sup>2</sup> ГУ Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, Украина, 04123, г. Киев, ул. Осиповского, 2а

### **АЛЛЕЛИ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СУБЪЕДИНИЦ ГЛЮТЕНИНОВ *Aegilops lorentii***

*Aegilops lorentii* Hochst. (синонимы *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. macrochaeta* Schutt. et Huet, *T. lorentii* (Hochst), *T. macrochaetum* (Schutt. et Huet) K. Richt, *T. biunciale* K. Richt) широко распространен в западной и центральной части ареала распространения рода *Aegilops* [1], в частности, в Южной Европе, Турции, западной части «Плодородного Полумесяца», Пред- и Закавказье, встречается в средиземноморских странах Европы, в Северной Африке. В Украине, данный вид распространен в Крыму [1–3].

*Ae. lorentii* — тетраплоид (2n=28) с геномной формулой UUM<sup>b</sup>M<sup>b</sup> (геном U происходит от вида *Ae. umbellulata*, геном M<sup>b</sup> — родственен геному M *Ae. comosa*), цитоплазма происходит от *Ae. umbellulata* [1, 2]. Известно, что дикие виды могут служить источником полезных генов для расширения генофонда культурных пшениц [4]. Новые аллели запасных белков от эгилопсов являются потенциалом для улучшения качества зерна пшеницы. Запасные белки, в частности высокомолекулярные субъединицы глютенинов, непосредственно сопряжены с уровнем хлебопекарного качества [5]. Локусы высокомолекулярных субъединиц глютенинов (*Glu-1*) у мягкой пшеницы и родственных видов находятся на длинных плечах хромосом первой гомеологической группы [6] и кодируют 0–2 субъединицы. Полиморфизм высокомолекулярных субъединиц глютенинов у диплоидных видов *Ae. umbellulata* и *Ae. comosa* был изучен Rodriguez-Quijano et al. [7], тогда как полиморфизм тетраплоида *Ae. lorentii* по этим локусам практически не исследован. Задачей нашего исследования была идентификация аллелей локусов высокомолекулярных субъединиц глютенинов *Glu-U1* и *Glu-M<sup>b</sup>1* у образцов *Ae. lorentii*.

#### **Материалы и методы**

Материалом исследования служила коллекция образцов *Ae. lorentii*, собранных в разных регионах Крыма (Кара-Даг, мыс Мартъян, Бахчисарайский р-н). Также анализировали образцы *Ae. umbellulata* (IUO15892 и IUO15893) и *Ae. comosa* (IUO15968 и IUO15969), полученные из Национального центра генетических ресурсов растений Украины. На опытном участке проводили скрещивание образцов *Ae. lorentii*, отличающихся по спектрам запасных белков. Анализировали зерна F<sub>2</sub> с гибридных растений F<sub>1</sub> *Ae. lorentii* от четырех комбинаций скрещивания (41, 25, 25 и 75 зерен каждого скрещивания).

Электрофорез высокомолекулярных субъединиц глютенинов проводили по методике Laemmli в 10% разделяющем геле [8]. Электрофоретический спектр сорта озимой мягкой пшеницы Безостая 1 служил в качестве стандарта для сравнения результатов с разных гелей. Для анализа расщеплений использовали критерий  $\chi^2$  [9].

#### **Результаты и обсуждение**

Для определения геномной принадлежности компонентов спектра высокомолекулярных субъединиц глютенинов тетраплоидного вида *Ae. lorentii* проводили сравнение электрофоретических спектров коллекции образцов *Ae. lorentii* и диплоидных