

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра генетики та молекулярної біології

Д и п л о м н а р о б о т а

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

на тему «**Стійкість пшениці до збудника фузаріозу колоса**»

«Resistance of wheat to the pathogen of Fusarium head blight»

Виконала: студентка денної форми
навчання

Спеціальність 091 Біологія,
ОП Біологія

Кириченко Марія Сергіївна

Науковий керівник:

кандидат біологічних наук, доцент
Мірось Світлана Леонідівна

Рецензент:

кандидат біологічних наук, доцент
Зінченко Оксана Юріївна

Рекомендовано до захисту:

Протокол засідання кафедри

№ _____ від «___» _____ р.

Завідувач кафедри

(підпис)

Чеботар С.В.
(прізвище та ініціали)

Захищено на засіданні ЕК № 1

Протокол № _____ від «___» _____ р.

Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

Голова ЕК

(підпис)

Чеботар С.В.
(прізвище та ініціали)

АНОТАЦІЯ

Проведено дослідження ювенільної стійкості пшениці до збудника фузаріозу колосу 8 сортів пшениці селекції Херсонського інституту зрошуваного землеробства НААН. Оцінювались такі показники: схожість, ураженість та ступінь токсикації. Також проводився аналіз експресивності множинних молекулярних форм пероксидази, супероксиддисмутази, фенолоксидази, НАДФН-оксидази досліджуваних сортів пшениці.

Сорт Анатолія не був ураженим фузаріозом. Сорт Кассіопея мав 12,5% ураженості, а сорти Конка та Овідій – 18,1% ураженості. Аналіз множинних молекулярних форм показав, що найвища активність ПО була виявлена у сорту Кассіопея, ФО – у сортів Конка, Херсонська 99, Анатолія та Кошова, НАДФН-оксидази – у сорту Соборна. Зменшення активності супероксиддисмутази при інфікуванні спостерігалось у наступних сортів: Благо, Конка, Овідій, Кассіопея, у інших сортів змін не спостерігалось.

Дипломну роботу викладено на 54 сторінках, вона містить 5 таблиць та 5 рисунків. Наведено посилання на 57 джерел літератури (36 кирилицею та 21 латиницею).

Ключові слова: *Fusarium graminearum Schwabe, Triticum L., множинні молекулярні форми*

The investigation of the juvenile resistance of wheat to the Fusarium head blight of 8 varieties of wheat selected by the Kherson Institute of Irrigated Agriculture NAAS. The following indicators were evaluated: germination, lesion and degree of toxicity. The expressiveness of multiple molecular forms of peroxidase, superoxide dismutase, phenol oxidase, NADPH oxidase of the studied wheat varieties was also analyzed.

The Anatolia variety was not affected by Fusarium wilt. The Cassiopeia variety had a 12.5% infestation, and the Konka and Ovid cultivars had an 18.1% infestation. Analysis of multiple molecular forms showed that the highest PO activity was found in the variety Cassiopeia, FO – in the varieties Konka, Kherson 99, Anatolia and Koshova, NADPH oxidase – in the variety Soborna. Decreased superoxide dismutase activity during infection was observed in the following varieties: Blago, Konka, Ovid, Cassiopeia, in other varieties no changes were observed.

Diploma thesis is expounded on 54 pages, it contains 5 tables and 5 figures. It provides links to 57 references (36 cyrillic and 21 latinic).

Key words: *Fusarium graminearum Schwabe, Triticum L., multiple molecular forms*

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Таксономія грибів роду <i>Fusarium</i>	7
1.2. Біологія та життєвий цикл фузарієвих грибів	8
1.3. Механізми ураження пшениці фузаріозом	12
1.4. Сапротрофне живлення фузарієвих грибів.....	15
1.5. Геном пшениці. Відмінності генома м'якої та твердої пшениці	15
1.6. Генетичні основи стійкості рослин до інфекційних хвороб	17
1.7. Гени стійкості до фузаріозу колоса	21
2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	24
2.1. Матеріал дослідження	24
2.2. Визначення стійкості до фузаріозу колосу у лабораторних умовах.....	28
2.3. Визначення множинних молекулярних форм ферментів оксидазної системи	29
2.4. Статистична обробка даних	31
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	32
3.1. Стійкість до збудників фузаріозу колоса	32
1.2. Експресія генів пероксидази (ПО) та прояв ознаки стійкості до фузаріозу.....	34
1.3. Експресія генів супероксиддисмутази (СОД) та прояв ознаки стійкості до фузаріозу	37
1.4. Експресія генів фенолоксидази (ФО) та прояв ознаки стійкості до фузаріозу	40
1.5. Експресія генів НАДФН-оксидази та прояв ознаки стійкості до фузаріозу.....	43
УЗАГАЛЬНЕННЯ	46
ВИСНОВКИ	48
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	49

Прийняті скорочення та аббревіатури

ДОН – дезоксиніваленол;

ЗЕА – зеараленон;

ММФ – множинні молекулярні форми;

МТ – мікотоксин;

ПО – пероксидаза;

ФО – фенолоксидаза;

СОД – супероксиддисмутаза;

НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений;

FHB – Fusarium head blight;

QTL – Quantitative Trait Loci (Локус кількісних ознак).

ВСТУП

Зростання захворюваності рослин, спричинене інфікуванням видами грибів, здатними до синтезу мікотоксинів (МТ), – актуальна на сьогоднішній день проблема, яка пов'язана з безпечністю харчових продуктів [Moretti, 2019]. Серед сільськогосподарських культур особливе місце займають саме зернові, які є уразливими до інфікування міцеліальними грибами. Фузаріоз колосу та зерна – глобальне та одне з найбільш шкочочинних захворювань зернових культур, зокрема й м'якої пшениці. Розвиток цього захворювання за різними даними може сягати від 25 до 50 % втрат урожаю [Лучків, 2013; Ковалишина, 2016]. Крім цього, патогени спричиняють зменшення маси зерна та накопичення мікотоксинів, що призводить до неможливості його використання для харчових та кормових цілей [Ferrigo, 2016]. Фузаріоз не завжди можна визначити візуально – зерно може бути нормальним за зовнішнім виглядом, проте містити мікотоксини, які спричиняють у людини і тварин різноманітні патології, що становить особливу небезпеку [Ma, 2013; Leslie, 2013].

Стійкість до FHB в пшениці контролюється полігенами, які зазвичай мають невеликі ефекти і змінюються під впливом навколишнього середовища. Для дослідників стійкість додатково ускладнюється її різними проявами, такими як стійкість I типу до первинного проникнення, II типу – до поширення грибків у колосі, III типу – стійкість до інфекції колоса [Dweba, 2017].

Через ці складнощі розуміння механізмів стійкості було дуже обмеженим, і прогрес в розведенні селекціонерами стійкості до фузаріозу був повільним.

З кінця минулого століття застосування молекулярної генетики для сільськогосподарських культур значно прискорило дослідження стійкості до FHB пшениці. Buerstmayr et al. [2008; 2009] підсумовували результати 52 досліджень з картування QTL з стійкості до FHB з використанням різних

зразків зародкової плазми. На сьогоднішній день зареєстровано понад 250 QTL, розподілених по всім 21 хромосомі. Однак більшість QTL мають невеликі ефекти і підлягають перевірці.

Таким чином, дослідження стійкості пшениці до збудників фузаріозу колоса є актуальними і важливими.

Метою даної роботи було дослідження стійкості сортів пшениці до збудника фузаріозу колоса.

Для досягнення мети вирішувалися наступні завдання:

1. Визначити схожість, ступінь токсикації і ураженість сортів озимої пшениці;
2. Визначити множинні молекулярні форми пероксидази, фенолоксидази, супероксиддисмутази, НАДФН-оксидази у контрольних та дослідних зразках сортів пшениці;
3. Проаналізувати вплив інфекції на експресивність та кількісний склад молекулярних форм ферментів.

Об'єкт досліджень – стійкість пшениці до патогенів.

Предмет досліджень – механізм формування стійкості пшениці до збудника фузаріозу колоса.

ВИСНОВКИ

1. Сорт Анатолія не був ураженим фузаріозом. Сорт Кассіопея мав 12,5% ураженості, а сорти Конка та Овідій – 18,1% ураженості. Найвищий ступінь токсикації спостерігався у сортів Овідій – 72,1% та Херсонська 99 – 62,0%, найнижчий – у сортів Благо – 47,3%, Соборна – 33,1% та Кассіопея – 25,7%. Середній ступінь токсикації відзначався у сортів Анатолія – 53,2%, Кошова – 53,0% та Конка – 51,1%.
2. Кореляція між схожістю та ступенем токсикації була відсутня. Коефіцієнт кореляції між ураженістю та ступенем токсикації становив 0,059 (слабкий, прямий), між ураженістю та польовою стійкістю – -0,48 (середній, зворотній), а між ступенем токсикації та польовою стійкістю – -0,50 (середній, зворотній).
3. У сортів Благо, Овідій, Соборна, Херсонська 99, Анатолія та Кошова спостерігалось зменшення активності пероксидази порівняно з контрольним варіантом, а у сорту Кассіопея, навпаки, – збільшення, у сорту Конка активність ферменту майже не змінилась.
4. Зменшення активності супероксиддисмутази спостерігалось у наступних сортів: Благо, Конка, Овідій, Кассіопея, у інших сортів змін не спостерігалось.
5. У сортів Конка, Херсонська 99, Анатолії та Кошова спостерігалось збільшення активності фенолоксидази порівняно з контрольним варіантом, а у сорту Благо – зменшення.
6. Збільшення активності НАДФН-оксидази спостерігалось тільки у сорту Соборна, у інших сортів змін не спостерігалось.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авраменко С. В. Каталог сортов и гибридов / С. В. Авраменко // Полевые культуры. – Електр. дан. – Режим доступу: <http://bit.do/eTYSu> (дата звернення: 17.04.2020). – Загол. з екрану.
2. Андреева В.А. Фермент пероксидаза. Участие в защитном механизме растений / В. А. Андреева. – Москва: Наука, 1988. – 128 с.
3. Атабаева Х. Н. Биология зерновых культур / Х. Н. Атабаева, И. В. Массино. – Ташкент: Гос. науч. издательство «УЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ ЭНЦИКЛОПЕДИЯСИ», 2005. – 36 с.
4. Гагкаева Т. Ю. Фузариоз зерновых культур / Т. Ю. Гагкаева, О. П. Гаврилова, М. М. Левитин, К. В. Новожилов // Агрономия. – 2011, №5. – С. 80.
5. Гончаров А. Коварный фузариоз колоса / А. Гончаров // Электр. издательство «Зерно». – Електр. дан. – Режим доступу: <https://u.to/JX9HFQ> (дата звернення: 21.03.2019). – Загол. з екрана.
6. Грицюк Н. В. Стійкість сортів пшениці озимої проти фузаріозної інфекції за різних строків ураження / Н. В. Грицюк // Наукові дослідження. – 2013. – С. 45 – 50.
7. Грушко Г.В. Характеристика и условия распространения фузариоза колоса на посевах озимой пшеницы южных регионов России / Г. В. Грушко, С. Н. Линченко, В. В. Хан // Агрономия. – 2005, №2. – 25 с.
8. Донченко Л. В. Безопасность пищевой продукции / Л. В. Донченко, В. Д. Надыкта. – Москва: ДеЛипринт, 2007. – 539 с.
9. Жигунов Д. А. Зернові продукти і комбікорми / Д. А. Жигунов // ОНАПТ, 2011. - № 3 (43). – С. 15.
10. Інститут зрошувального землеробства НААН // Реєстр сортів. – Електр. дан. – Режим доступу: <https://u.to/JX9HFQ> (дата звернення: 05.03.2018). – Загол. з екрану.

11. Ковалишина Г. М. Миронівські сорти пшениці озимої з груповою стійкістю проти хвороб для Лісостепу України / Г. М. Ковалишина, О. А. Демидов, Т. І. Муха, Л. А. Мурашко, О. А. Заїма // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2016. – Т. 5. – С. 25.
12. Комплексная оценка устойчивости пшеницы у фузариозу колоса. Методическое руководство / Л. Т. Бабаянц, О. В. Гонтаренко – Одесса, 1994. – 23 с.
13. Крючкова Л. О. Генетичні основи стійкості пшениці до грибних хвороб / Л. О. Крючкова, Л. М. Нежигай, Т. М. Чеченева // Физиология и биохимия культурных растений. — 2010. — Т. 42, № 3. — С. 202-209.
14. Лісова Г. М. Генетика імунітету пшениці до збудника бурої іржі / Г. М. Лісова // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. — Київ: Логос, 2001. — Т. 2. — С. 280—288.
15. Лісовий М. П. Генетика стійкості рослин до збудників хвороб: аспекти історичного розвитку та перспективи досліджень / М. П. Лісовий // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. — Київ: Логос, 2001. — Т. 2. — С. 263—279.
16. Лісневич Л.О. Принципи і застосування молекулярно-генетичних маркерів пшениці / Л. О. Лісневич, О. М. Радченко, В. І. Глазко // Физиология и биохимия культ. растений. — 2006. — 38, № 1. — С. 3—18.
17. Лучків О. М. Вміст низькомолекулярних компонентів антиоксидантної системи у проростках кукурудзи і пшениці за дії саліцилату й інфікування *Fusarium graminearum* Schwabe./ О. М. Лучків, М. С. Кобилецька, О. І. Терек // Физиология и биохимия культурных растений. – 2013. – Т. 45(3). – С. 45.
18. Методы биохимического исследования растений. Учебно-методическое пособие / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош и др. – Ленинград: Агропромиздат, 1987. – 430 с.

19. Міресь С. Л. Генетична детермінація ознаки стійкості озимих м'яких пшениць півдня України до збудника фузаріозу колоса (*Fusarium graminearum* Schwabe): дис. канд. біол. наук: 03.00.15 / С. Л. Міресь; СГІ. – Одеса, 2003. – 147 с.
20. Науково-виробнича фірма "Дріада" / Сорта, гібриди. – Електр. дан. – Режим доступу: <https://u.to/NJWRFQ> (дата звернення: 29.03.2020). – Загол. з екрану.
21. Невмержицкая Ю. Ю. Активность лектиновых белков и антиоксидантных ферментов в проростках пшеницы, инфицированных микромицетами / Ю. Ю. Невмержицкая, Г.Х. Шаймуллина, О.А. Тимофеева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2016. – Т. 18, № 2. – с. 155 – 157.
22. Одинцова И.Г. Методы оценки общей и специфической устойчивости / И. Г. Одинцова // Науч. труды ВАСХНИЛ. Генетические основы устойчивости растений к болезням. — Ленинград: Колос, 1977. — С. 129—138.
23. Озерецковская О. Л. Проблемы специфического фитоиммунитета // Физиология растений. — 2002. — 49, № 1. — С. 148—154.
24. Осокина Н. В Особенности роста мицелия грибов рода *Fusarium* в условиях *in vitro* / Н. В. Осокина, Е. А. Калашникова, А. Н. Князев, Н. П. Карсункина // Микология. – 2015, №4. – 28 с.
25. Павлюшин В.А. Фузариоз зерновых культур и опасность микотоксинов в России / В. А. Павлюшин // АгроСнабФорум. – 2017. - № 3(151). – С. 41 – 43.
26. Райдер К. Изоферменты / К. Райдер, К. Тейлор // М.: Мир. – 1983. – С. 112.
27. Селекція та генетика окремих культур. Навчальний посібник / М. М. Чекалін, В .М. Тищенко, М. Е. Баташова. – Полтава: ФОП, 2008. – 45 с.
28. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции / А. А. Созинов // – Москва: Наука, 1985. — 272 с.

29. Созинов А.А. Генетические маркеры у растений / А. А. Созинов // Цитология и генетика. — 1993. — 27, № 5. — С. 3—14.
30. Статистические методы в биологии. Учебно-методическое пособие / А. А. Зверев, Т. Л. Зефилов. — Казань: КФУ, 2013. — 42 с.
31. Технологии и техническое обеспечение производства продукции растениеводства / Т. М. Дайнеко. — Минск: ИВЦ Минфина, 2008 — 72 с.
32. Терновська Т.К. Генетичний аналіз м'якої пшениці за кількісними ознаками / Т. К. Терновська // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. — Київ: Логос, 2001. — Т. 2. — С. 361—367.
33. Тутельян В.А. Микотоксины (медицинские и биологические аспекты) — / В. А. Тутельян, Л. В. Кравченко. — Москва: Медицина, 1985. — 320 с.
34. Фуртат І. М. Біологічні особливості та екологія представників роду *Fusarium*, збудників захворювань злаків / І. М. Фуртат, Н. А. Остапюк, М. З. Антонюк // Наукові записки НаУКМА. Правничі науки. — 2017. — Т. 197. — С. 3-18.
35. Чоні С. Фузаріоз. Чи знаємо ми ворога в обличчя? / Зернові. — Електр. дан. — Режим доступу: <https://u.to/eYBNHFQ> (дата звернення: 25.04.2020). — Загол. з екрану.
36. Энциклопедия Научной Библиотеки / Посевные качества семян. — Електр. дан. — Режим доступу: <http://bit.do/eTYWi> (дата звернення: 04.03.2019). — Загол. з екрану.
37. Antonissen G. The Impact of Fusarium Mycotoxins on Human and Animal Host Susceptibility to Infectious Diseases / G. Antonissen, A. Martel, F. Pasmans // Toxins (Basel). — 2014. — 6(2). — P. 430 – 452.
38. Bürstmayr H. Breeding for Fusarium head blight resistance in wheat-update on the Fusarium research at IFA-Tulln / H. Bürstmayr, K. Huber, A. Alimari, B. Steiner, K. Schießl, M. Bürstmayr, M. Lemmens // Genetics. — 2008. — P. 1 – 3.

39. Buerstmayr H. QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: a review / H. Buerstmayr, T. Ban, J.A. Anderson // PlantBreed.– 2009. – P. 1 – 26.
40. Chen Yun Fusarium graminearum Trichothecene Mycotoxins: Biosynthesis, Regulation, and Management /Yun Chen, H. Corby Kistler, Zhonghua Ma // Annual Review of Phytopathology. – 2019. – Vol. 57:15-39.
- 41.Cuthbert P.A. Fine mapping Fhb1, a major gene controlling Fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) / P.A. Cuthbert, D.J. Somers, J.Thomas, S. Cloutier, A. Brule-Babel // Theor. Appl. Genet. – 2006. – P. 112.
42. Devis B. I. Disk-electrophoresis. 2. Method and application to human serum protein / B. I. Devis // Ann. N.-J.cad. Sci. – 1964. – V.121. – P. 404 – 427.
43. Dweba C.C. Fusarium head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies / C. C. Dweba, S. Figlan, H. A. Shimelis, T. E. Motaung, S. Sydenham, L. Mwadzingeni, T. J. Tsilo // Crop Protection. – 2017. – V. 91. – P. 114 –122.
44. He Y. Molecular Characterization and Expression of PFT, an FHB Resistance Gene at the Fhb1 QTL in Wheat / Y. He, X. Zhang, Y. Zhang, D. Ahmad, L. Wu, P. Jiang, H. Ma // Phytopathology. – 2018. – 108(6). – P. 730 –736.
45. Index Fungorum database // Species Fungorum. – Електр. дан. – Режим доступу: <http://bit.do/eTYXY> (дата звернення: 07.04.2019). – Загол. з екрану.
46. Liu S. Toward positional cloning of Fhb1, a major QTL for fusarium head blight resistance in wheat / S. Liu, G. Bikram, Z. Julia, C. Boulos, A. James // Cereal Res.Commun. – 2008. – P. 36.
47. Le Boulc'h V. Identification of specific powderymildew-resistance genes in individual wheat plants using the first two seedling leaves / V. Le Boulc'h, H. Goyeau, P. Brabant, C.Vallavieille-Pope // Plant Breed. — 1995. — 114. — P. 281—286.

48. Leplat Johann Survival of *Fusarium graminearum*, the causal agent of Fusarium head blight. A review / Johann Leplat // *Agronomy for Sustainable*. – 2013. – Vol. 33. – P. 97 – 111.
49. Lutz J. Identification of powdery-mildew-resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L. Em. Thell.). V. Old German cultivars and cultivars released in the former GDR / J. Lutz, M. Katzhammer, U. Stephan // *Ibid.* — P. 29—33.
50. Mesterhazy A. Types and components of resistance to Fusarium head blight of wheat / A. Mesterhazy // *Ibid.* — 1995. — 114. — P. 377—386.
51. Meidaner T. Breeding wheat and rye for resistance to Fusarium diseases / T. Meidaner / *Plant Breed.* — 1997. — 116. — P. 201—220.
52. Parry D.W. Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals / D.W. Parry., P. Jenkinson, L. McLeod / *Plant Pathol.* — 1995. — 44. — P. 207—238
53. Miladinov Z. Effect of Biostimulators on Sunflower Germination Energy and Seed Germination / Z. Miladinov, V. Radić, V. Miklič, J. Crnobarac, I. Balalić, Jocković, M. J. Mrđa // *Plants*. – 2014. – 51:1. – P. 33.
54. Neil S.J. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants / S.J. Neill, R. Desikan, A. Clarke et al. // *Journal of Experimental Botany*. – 2002. – V. 53. – P. 1237– 1247.
55. The University of Adelaide Fungal // Descriptions and Antifungal Susceptibility. – Електр. дан. – Режим доступу: <http://bit.do/eTYZN> (дата звернення: 06.04.2019). – Загол. з екрану.
56. Turkington T. K. *Fusarium graminearum* (Fusarium Head Blight) / T. K. Turkington, A. Petran, T. Yonow, D. J. Kriticos // *Harvest Choice*. – 2014. – P. 1 – 2.
57. United States Department of Agriculture (USDA) // Classification for Kingdom Plantae. – Електр. дан. – Режим доступу: <http://bit.do/eTY2i> (дата звернення: 20.03.2019). – Загол. з екрану.