

••• МІКРОБІОЛОГІЯ ••• MICROBIOLOGY •••

УДК: 579.64:633.11:581.14

Мікроміцети ризосфери та філосфери ізогенних за генами *VRN* ліній пшениці (*Triticum aestivum* L.) у зв'язку з темпами розвитку та продуктивністю

О.О.Авксентьєва, О.І.Віннікова

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна (Харків, Україна)
avksentyeva@karazin.ua

У польових дослідах вивчали чисельність та видовий склад мікроміцетів ризосфери та філосфери ізогенних за генами *VRN* ліній пшениці м'якої сорту Миронівська 808 у зв'язку з темпами їх розвитку. Встановлено, що лінії з доміантними генами *VRN-A1a* і *VRN-D1a* переходять до колосіння значно раніше, ніж лінія з доміантним геном *VRN-B1a*. У ліній, які розвиваються швидше, елементи індивідуальної продуктивності вищі, а вміст білка в зерні був нижчий, ніж у лінії, яка розвивається сповільненими темпами. Чисельність пропагул та видів мікроміцетів у ризосфері всіх ліній була більшою, ніж у філосфері. У результаті досліджень видової різноманітності мікоценозів NILs з ризосфери пшениці в чисту культуру було виділено 319 штамів мікроміцетів, які належали до 20 родів Zygomycota та Ascomycota. Найбільшою кількістю видів були представлені роди *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor* і темнопігментовані мікроміцети. Встановлено, що у ризосфері досліджуваних ізоляцій максимальна чисельність грибних пропагул та видів мікроміцетів характерна для ізоляцій *VRN-A1a* і *VRN-D1a*, які розвиваються прискореними темпами, а мінімальна – для прикореневого ґрунту лінії *VRN-B1a*. З філосфери колосів рослин пшениці усіх досліджених ліній було виділено невелике число видів мікроскопічних грибів – усього 27 штамів з 6 родів. Потенційні фітопатогени – представники роду *Fusarium* були знайдені в змивах з колосів усіх ліній, а у змивах з колосів рослин лінії *VRN-A1a* траплялися ще й представники темнопігментованих грибів. Кількість грибних пропагул також максимальною була у ізоляції з прискореними темпами розвитку *VRN-A1a* і *VRN-D1a*, мінімальною – у рослин ізоляції *VRN-B1a*. Таким чином, заселеність мікроміцетами та їх видова структура як ризосфери, так і колосу корелювала з темпами розвитку ліній, які детермінуються доміантним/рецесивним станом генів *VRN*. Тому можна припустити, що гени *VRN* опосередковано, через участь у регуляції фізіолого-біохімічних процесів, можуть бути задіяними у формуванні та функціонуванні мікоценозу досліджених ізогенних ліній пшениці м'якої.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., ізогенні лінії, гени *VRN*, темпи розвитку, продуктивність, ризосфера, філосфера, мікроміцети, чисельність грибних пропагул, видова різноманітність мікоценозу.

Micromycetes of rhizosphere and phyllosphere in the lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) isogenic by *VRN* in relation to the development rate and productivity

O.O.Avksentyeva, O.I.Vinnikova

The field experiments were performed in order to assess the micromycetes number and species composition in the rhizosphere and phyllosphere of the Myronivska 808 soft wheat lines isogenic by *VRN* genes in relation to the rate of wheat development. It was established that the lines with dominant genes *VRN-A1a* and *VRN-D1a* came to the earing phase remarkably earlier than the line with the dominant gene *VRN-B1a*. In lines, which have faster development, the parameters of individual productivity were higher, and the content of protein in grains was lower than that in the line with lower development rate. The number of micromycetes species and their propagules in the rhizosphere of all wheat lines were higher than that in the phyllosphere. As a result of the study of species diversity of NILs mycocenoses from rhizosphere of wheat 319 strains of micromycetes, belonging to 20 genera of Zygomycota and Ascomycota, were isolated in pure culture. The most species were identified from genera *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, and dark-pigmented micromycetes. It was established that in the rhizosphere the maximum number of micromycetes species and propagules was associated with the isolines of *VRN-A1a* and *VRN-D1a*, which showed an accelerated development, while the minimum fungi diversity occurred in the root soil of the *VRN-B1a* line. The phyllosphere of the plant ears in all studied wheat isolines appeared to be rather poor in microscopic fungi:

only 27 strains belonging to 6 genera were identified. Potential phytopathogens – representatives of the genus *Fusarium* were found on the surface of the plant ears of all lines, and in the phyllosphere of plants of VRN-A1a line there were also representatives of dark pigmented micromycetes. The number of fungal propagules was also maximal for isolines with accelerated rates of development – VRN-A1a and VRN-D1a, and minimal for plants of VRN-B1a isolate. Thus, population density of micromycetes and their species structure, both in rhizosphere and on plant ears, correlated with the rate of development of wheat lines, which was determined by the dominant/recessive state of the VRN genes. Therefore it can be assumed that VRN genes are indirectly involved in the formation and functioning of the mycosenoses of the studied isogenic lines of soft wheat, particularly via their participation in the regulation of physiological and biochemical processes.

Key words: *Triticum aestivum* L., isogenic lines, VRN genes, rate of development, productivity, rhizosphere, phyllosphere, micromycetes, number of fungal propagules, species diversity of mycosenosis.

Мікроміцети ризосфери і філосфери ізогенних по генам VRN ліній пшениці (*Triticum aestivum* L.) в зв'язі з темпами росту і продуктивністю

О.А.Авксентьева, О.И.Винникова

В полевих опытах изучали численность и видовой состав микромицетов ризосферы и филосферы изогенных по генам VRN линий пшеницы мягкой сорта Мироновская 808 в связи с темпами их развития. Установлено, что линии с доминантными генами VRN-A1a и VRN-D1a переходят к колошению значительно раньше, чем линия с доминантным геном VRN-B1a. У линий, которые развиваются быстрее, элементы индивидуальной продуктивности выше, а содержание белка в зерне ниже, чем у линии, которая развивается замедленными темпами. Численность спор и видов микромицетов в ризосфере всех линий была больше, чем в филосфере. В результате исследований видовой разнообразия микоценозов NILs с ризосферы пшеницы в чистую культуру было выделено 319 штаммов микромицетов, принадлежащих к 20 родам Zygomycota и Ascomycota. Наибольшим количеством видов были представлены роды *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor* и темнопигментированные микромицеты. Установлено, что в ризосфере исследуемых изолиний максимальная численность грибных спор и видов микромицетов характерна для изолиний VRN-A1a и VRN-D1a, развивающихся ускоренными темпами, а минимальная – для прикорневой почвы линии VRN-B1a. С филосферы колосьев растений пшеницы всех исследованных линий было выделено небольшое число видов микроскопических грибов – всего 27 штаммов из 6 родов. Потенциальные фитопатогены – представители рода *Fusarium* были найдены в смывах с колосьев всех линий, а в смывах с колосьев растений линии VRN-A1a встречались еще и представители темнопигментированных грибов. Количество грибных спор также максимальным было у изолиний с ускоренными темпами развития VRN-A1a и VRN-D1a, минимальным – у растений изолинии VRN-B1a. Таким образом, заселенность микромицетами и их видовая структура как ризосферы, так и колоса коррелировала с темпами развития линий, которые детерминируются доминантным/рецессивным состоянием генов VRN. Поэтому можно предположить, что гены VRN опосредованно, через участие в регуляции физиолого-биохимических процессов, могут быть задействованы в формировании и функционировании микоценозов исследованных изогенных линий пшеницы мягкой.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., изогенные линии, гены VRN, темпы развития, продуктивность, ризосфера, филосфера, микромицеты, численность грибных спор, видовое разнообразие микоценоза.

Вступ

Сучасне землеробство – багатокomпонентна система, окремі елементи якої знаходяться у взаємозв'язку між собою та природним середовищем. Важливу роль в розвитку рослин, в тому числі й сільськогосподарських, відіграють зовнішні фактори, які в комплексі впливають на ріст і продуктивність культур (Дем'янюк та ін., 2016). Серед таких факторів значну роль відіграють біотичні, а саме взаємовідносини рослина-мікроорганізм. Спектр цих взаємовідносин є поліфункціональним: забезпечення рослинного організму поживними речовинами за рахунок утилізації та мобілізації необхідних речовин ґрунту у доступній формі; пряме стимулювання росту за дії рістстимулюючих фітогормонів; продукування біологічно активних речовин (БАВ) – вітамінів, ферментів, антибіотиків; опосередковане стимулювання росту за рахунок конкуренції з фітопатогенами тощо. В той же час рослинний організм є нішею для існування різноманітних мікроорганізмів, які у сукупності формують унікальну фітосферу рослини (ризосферу, філосферу та

ендосферу) (Мошинець, Косаківська, 2010). Збалансований мікробоценоз фітосфери є ефективним для обох макро- і мікропартнерів, але за дії екстремальних факторів факультативні мікроорганізми можуть проявляти потенційну патогенність (Яринчин, 2008). Для стимулювання підвищення якості сільськогосподарської продукції та запобігання втрат урожаю за рахунок дії патогенної мікрофлори необхідно всебічно досліджувати мікроорганізми, які розповсюджені у ризосфері та на поверхні (фітосфері) рослинного організму (Ковалишина та ін., 2016).

Однією з найбільш розповсюджених і важливих сільськогосподарських культур в Україні є озима м'яка пшениця *Triticum aestivum* L. (Дубровна та ін., 2014). Ця культура має виключно широкий ареал, що свідчить про високу біологічну пластичність (адаптивність) щодо екологічних умов, що в свою чергу, пов'язано з особливостями її генотипу (Khotyljova et al., 2002).

Перехід рослин пшениці *Triticum aestivum* L. від вегетативного періоду розвитку до генеративного є найважливішим етапом онтогенезу, який визначає багато господарсько цінних ознак цієї сільськогосподарської культури (Dhillon et al., 2010). Ключовими генами в даному процесі є гени *VRN* (vernalization response), які детермінують реакцію пшениці на яровизацію (верналізацію) і тим самим визначають темпи її розвитку (Dennis, Peacock, 2009). Реакція на яровизацію у пшениці контролюється, щонайменше, п'ятьма генами (Степаненко и др., 2012), три основних з яких *Vrn-A1a*, *Vrn-B1a* і *Vrn-D1a*, локалізовані відповідно в хромосомах 5A, 5B і 5D. Озимий тип розвитку рослин проявляється тільки в тому випадку, якщо ці всі три основних гена рецесивні, а якщо хоча б один з них є домінантним, рослини розвиваються за ярим типом. Гени *VRN* активно досліджуються на молекулярно-генетичному рівні, вони клоновані і в останні роки для пшениці описано декілька їх алельних варіантів (Мутерко и др., 2015; Степаненко и др., 2012). Встановлено, що гени *Vrn-A1a* і *Vrn-B1a* є транскрипційними факторами (Trevaskis et al., 2003). Ген *Vrn-A1* кодує MADS-box транскрипційний фактор, локус *Vrn-B1* містить два тандемно дуплікованих гени, що пригнічують фактор цвітіння *ZCCT* (Distelfeld et al., 2009), а *Vrn-D1* кодує білок, схожий з інгібіторами Raf-кіназ (Степаненко и др., 2012). Ці дослідження мають дуже важливе значення для поглиблення уявлень про генетичні (Степаненко, 2012), епігенетичні (Щербань, Салина, 2013; Oliver et al., 2009) та молекулярно-біологічні (Мутерко и др., 2015; Trevaskis, 2010) механізми контролю розвитку пшениці.

Характер та інтенсивність фізіолого-біохімічних процесів, що протікають в рослинному організмі, також генетично детерміновані генами контролю темпів розвитку рослин (Авксентьева, 2011; Жмурко та ін., 2017). Це дає підставу припускати, що рівень екзометаболітів, які відіграють основну роль у формуванні та функціонуванні специфічного мікробоценозу фітосфери, може залежати від генотипу. Проте ефекти генів *VRN* на фізіологічні процеси, які координують регуляцію взаємовідносин в системі рослина-мікроорганізм, а саме здатність формувати специфічний ризоценоз, залишаються мало дослідженими (Авксентьева, Віннікова, 2016).

Сучасні дослідження мікробоценозів фітосфери рослин пшениці проводяться з вивчення різноманітності мікроміцетів кореневої зони ярої пшениці (Копилов, 2010), ризосфери ярих злаків (Гажеєва и др., 2011), залежності чисельності окремих фізіологічних груп мікроорганізмів від фаз онтогенезу рослин, умов зростання, специфічності угруповань залежно від виду макропартнеру. Проте дослідження мікроміцетів, які є дуже розповсюдженими організмами у ризосфері, проводяться переважно з вивчення їх патогенної дії на рослинний організм (Крючкова, Грицюк, 2014) та якість зернової продукції (Фузаріоз зерна..., 2012). У цих роботах висвітлені вагомні аспекти взаємодії сортів польових культур з мікроорганізмами ризосфери, які вказують на залежність цього процесу від генотипу макропартнеру. Однак, вони не дають можливості виокремити роль конкретних генів у функціонуванні системи рослина-мікроорганізм.

У зв'язку з викладеним вище, метою даної роботи було з'ясувати можливий зв'язок чисельності та видової структури мікроміцетів (ризо- та фітосфери) з темпами розвитку і характером фізіолого-біохімічних процесів у пшениці м'якої під контролем генів *VRN*.

Матеріали та методи

Усі досліджені нами лінії пшениці створені в генофоні сорту Миронівська 808. Експериментальна модель, яка складається з ізогенних за генами *VRN* ліній (NILs) пшениці є достатньо зручною для досліджень, оскільки рослини утворені в генофоні одного сорту, відрізняються тільки за станом (домінантний/рецесивний) конкретних алелів, що дозволяє виокремити їх ефекти на досліджуваний параметр, фізіолого-біохімічний процес тощо.

Досліджувані ізогенні лінії за спільного генотипу сорту Миронівська 808 ярого типу розвитку і різняться за однією з домінантних алелей та мають наступні генотипи *VRN-A1aVRN-B1bVRN-D1b*, *VRN-A1bVRN-B1aVRN-D1b*; *VRN-A1bVRN-B1bVRN-D1a*. У тексті роботи, таблицях та на рисунках вказані тільки домінантні алелі.

Дослідні рослини вирощували в природних умовах, на польовій ділянці кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна протягом 2016–2017 років. Рослини вирощували за умов оптимальних весняних строків сівби, яку проводили вручну на ділянках 1 м² у триразовій повторності за кожним варіантом ізогенної лінії. Ґрунт дослідної ділянки – чорнозем опідзолений, важко суглинковий.

Протягом вегетаційного періоду були проведені фенологічні спостереження – визначали тривалість періоду сходи-колосіння (ПСК), а також морфометричні та біохімічні аналізи – визначали елементи індивідуальної продуктивності – довжину колосу, масу зерна з колосу, кількість зерен в колосі та масу 1000 зерен, а також білковість зерна. Вміст білку в зерні визначали методом К'ельдаля з коефіцієнтом перерахунку на білок 5,25 (Методы..., 1987). Усі дослідні і аналізи проведені у триразовій повторності. Результати оброблені статистично, в таблицях наведені середні значення та їх стандартні відхилення (Доспехов, 1985).

Для дослідження складу мікроміцетів ризосфери пшениці відбір проб проводили у фазу кушіння рослин, а для дослідження мікроміцетів колосу (філосфери) – під час колосіння та наливу зерна. Для роботи використовували по 10–12 рослин, які рандомізовано відбирали по всій ділянці. Відбір зразків здійснювали з використанням загальноприйнятих в мікологічній практиці методів (Зенова и др., 2002). Видовий склад мікроміцетів визначали методом глибинного засіву водної суспензії ризосферного ґрунту або змивної води з поверхні колосів у розплавлені живильні середовища Чапека і сусло-агар у чашки Петрі, які витримували при кімнатній температурі. Окремі штами грибів виділяли у пробірки з відповідними живильними середовищами для зберігання та ідентифікації (Методы..., 1991). Чисельність грибних пропагул визначали за умов розведення ґрунтової суспензії 1 : 100 – 1 : 1000, шляхом підрахунку колоній, що виростили на твердому поживному середовищі у чашках Петрі з подальшим перерахунком на 1 г ґрунту (Методы..., 1991). Ідентифікацію мікроміцетів здійснювали у нативних препаратах з використанням загальноживлених методів та визначників (Методы..., 1991). Систематичну структуру мікроскопічних грибів подано згідно Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi (Kirk et al., 2008). В таблицях і на діаграмах наведені абсолютні значення або відсоток певної систематичної одиниці від загального числа виділених видів мікроміцетів в даній точці відбору зразка. Також представлені середні значення і стандартні відхилення кількості грибних пропагул (Доспехов, 1987).

Результати та обговорення

Відомо, що мікроорганізми ризосфери можуть істотно впливати на ріст, розвиток і продуктивність рослин, зокрема пшениці (Копилов, 2010). З цієї точки зору доцільним було визначити характер (темпи) розвитку, елементи продуктивності та вміст білку в зерні досліджених ліній, які використані як модель макропартнера для дослідження чисельності та видової структури мікроміцетів у їх ризо- та філосфері, залежно від генотипу за генами *VRN*.

Фенофаза колосіння-цвітіння рослин пшениці головним чином є визначальною для формування майбутнього врожаю. Показано, що фотосинтетична активність і азотний статус впливають на накопичення сухої маси і вміст білку в зерні (Моргун и др., 2010). Результати фенологічних спостережень показали (табл. 1), що лінії з домінантними генами *VRN-A1a* та *VRN-D1a* переходили до колосіння через 57 та 52 доби після сходів відповідно, тоді як ізоляція *VRN-B1a* колосилася через 65 діб після сходів. Отже за даними фенологічних спостережень залежно від генотипу за генами *VRN* ізоляції можна розподілити на лінії з прискореними темпами розвитку *VRN-A1a* та *VRN-D1a* і зі сповільненими темпами розвитку – *VRN-B1a*, що співпадає з даними літератури та раніше одержаними нами даними (Степаненко и др., 2012; Жмурко та ін., 2017).

На нашу думку, різні темпи розвитку ліній можуть бути обумовлені саме комбінацією домінантних та рецесивних алелів, за якою ізоляції різняться між собою. Вірогідно, що домінантні та рецесивні алелі генів функціонально пов'язані як генетична регуляторна система, яка детермінує темпи розвитку пшениці м'якої (Степаненко и др., 2012).

Таблиця 1.
 Темпи розвитку та вміст білка в зерні рослин різних ізогенних ліній пшениці сорту
 Миронівська 808

Генотип лінії	Період сходи- колосіння (ПСК), діб	Темпи розвитку	Вміст білку, мг/г сухої маси
<i>VRN-A1aVRN-B1eVRN-D1e</i>	57 ± 2	Прискорені	140,3±2,0
<i>VRN-A1eVRN-B1aVRN-D1e</i>	65 ± 4	Сповільнені	161,3±3,5
<i>VRN-A1eVRN-B1eVRN-D1a</i>	52 ± 1	Прискорені	155,0±1,1

Вміст білка в зерні пшениці – одна з найважливіших господарських ознак, яка визначає поживну цінність і хлібопекарські якості борошна. Показана залежність вмісту білка в зерні пшениці від зовнішніх факторів і генотипу сорту (Рибалка та ін., 2011). Досліджені ізолінії сорту Миронівська 808 у напрямку зниження вмісту білка в зерні ранжуються в наступному порядку: *VRN-B1a* > *VRN-D1a* > *VRN-A1a*. Тобто, найвищий вміст білка в цих умовах виявлений у лінії, що найбільш повільно розвивається, – *VRN-B1a*, дещо нижчий у лінії *VRN-D1a*, а мінімальний – у лінії *VRN-A1a*. Можливо, це може бути пов'язане з опосередкованою, через регуляцію темпів розвитку, участю генів *VRN* у формуванні рівня білковості зерна пшениці.

Біологічна продуктивність рослин пов'язана, головним чином, з процесом фотосинтезу (Моргун и др., 2010). Результати вивчення продуктивності досліджених ліній показали таку закономірність – показники елементів продуктивності у лінії, що найбільш повільно розвивається, – *VRN-B1a*, були нижчі, ніж у ліній, що розвиваються прискореними темпами, – *VRN-A1a* і *VRN-D1a* (табл. 2).

Таблиця 2.
 Показники індивідуальної продуктивності рослин ізогенних за генами *VRN* ліній
 пшениці сорту Миронівська 808

Генотип лінії*	Довжина колоса, см	Маса зерна з колосу, г	Кількість зерен в колосу, шт.	Маса 1000 зерен, г
<i>VRN-A1a</i>	10,0±0,5	0,72±0,02	23,7±0,2	27,8±0,5
<i>VRN-B1a</i>	7,7±0,3	0,31±0,01	16,2±0,2	17,4±0,4
<i>VRN-D1a</i>	7,8±0,2	0,41±0,01	18,0±0,3	25,8±0,5

* показані тільки домінуючі гени.

Максимальні відмінності стосувалися числа зерен у колосі: у рослин лінії *VRN-A1a* даний показник був у 1,3–1,5 рази більшим, ніж у рослин інших ліній. Що стосується маси 1000 зерен, то за цим показником найбільші відмінності були встановлені для ліній *VRN-A1a* і *VRN-D1a* відносно лінії *VRN-B1a* – майже у 1,6 рази, а відмінності між лініями *VRN-A1a* і *VRN-D1a* були незначущими (табл. 2). Отже, лінії *VRN-A1a* і *VRN-D1a*, які переходять до колосіння раніше, ніж лінія *VRN-B1a*, формують і більш високу продуктивність, що свідчить про участь генів *VRN* в детермінації цього процесу (табл. 2).

Як відомо, ґрунтові мікроміцети достатньо поширені, мають важливе значення у кругообігу речовин та формуванні ефективних мікоценозів рослин пшениці м'якої (Копилов, 2010), тому дослідження чисельності та видового складу мікроміцетів кореневої зони та філосфери колосу є важливим. Дослідження чисельності та видової різноманітності мікроміцетів у ризосфері та на поверхні колосів пшениці різних ізогенних ліній показали відмінності даних показників. В цілому показано, що прикоренева зона – ризосфера є більш заселеною мікроміцетами, ніж філосфера, що пов'язано з більш жорсткими умовами дії фізичних факторів існування у філосфері – перепад температур, зневоднення, інсоляція, обмеженість трофічних факторів (Мошинець, Косаківська, 2010). Кількість грибних пропагул та число видів мікроміцетів у ризосфері є на порядок вищим, ніж у філосфері колосся у всіх досліджуваних ліній, незалежно від їх генотипу (табл. 3).

Таблиця 3.

Чисельність грибних пропагул та число видів мікроміцетів у ризосфері та на поверхні колосу (філосфері) ізогенних за генами VRN ліній пшениці сорту Миронівська 808

Генотип ізоляції*	Ризосфера		Філосфера	
	кількість грибних пропагул	число видів мікроміцетів	кількість грибних пропагул	число видів мікроміцетів
VRN-A1a	$1,66 \pm 0,05 \times 10^3$	28	$1,25 \pm 0,02 \times 10^2$	5
VRN-B1a	$1,33 \pm 0,02 \times 10^3$	22	$1,12 \pm 0,01 \times 10^2$	2
VRN-D1a	$1,57 \pm 0,03 \times 10^3$	26	$1,25 \pm 0,02 \times 10^2$	4

* показані тільки домінуючі гени.

Встановлено, що у ризосфері досліджуваних ізоляцій максимальна чисельність грибних пропагул та число видів мікроміцетів характерна для ізоляцій VRN-A1a і VRN-D1a, які розвиваються прискореними темпами, а мінімальна – у прикореновому ґрунті лінії VRN-B1a (табл. 3). Як було показано нами в попередніх дослідженнях (Самойлов и др., 2009), це може бути пов'язано з продукуванням рослинами цих ліній більшої кількості корневих виділень – розчинних цукрів, також більш інтенсивний розвиток може приводити до інтенсивного росту корінців, а відмерлі клітини кореневої системи є поживними речовинами для мікроміцетів.

Прискорений розвиток ізоляцій VRN-A1a і VRN-D1a пов'язаний з інтенсифікацією фотосинтетичних процесів (Жмурко та ін., 2017), що, можливо, стимулює відтік асимілятів до атрагуючих центрів – колосся, що формуються, та кореневої системи. Саме тому, можливо, ці лінії в більшій мірі постачають трофічні речовини в кореневу зону, що в свою чергу, зумовлює більшу чисельність мікроміцетів.

Результати вивчення видової різноманітності мікобіоти під посівами пшениці різних ізогенних ліній представлені на рис. 1.

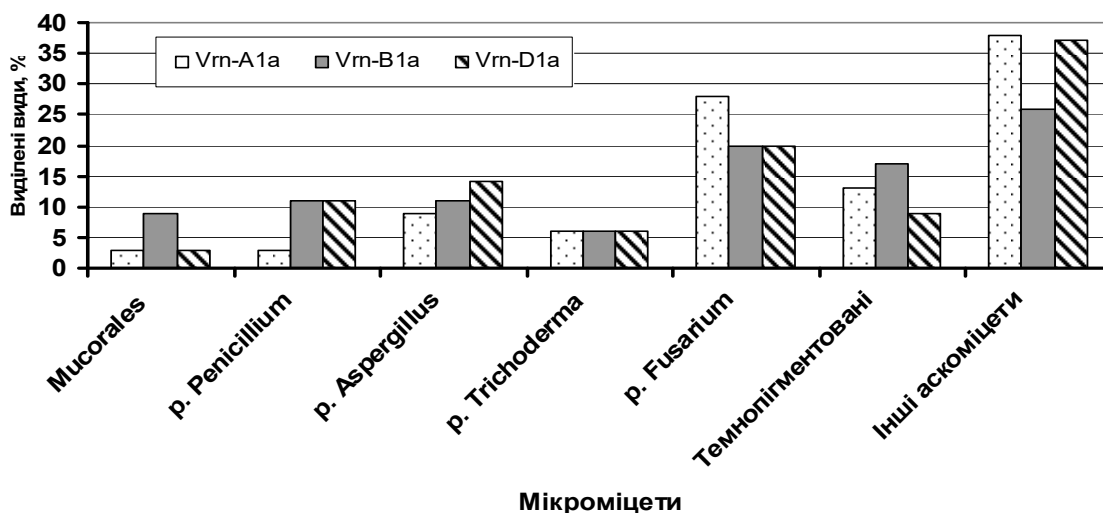


Рис. 1. Різноманітність ризосферних мікроміцетів у ізогенних за генами VRN ліній пшениці сорту Миронівська 808

У результаті дослідження видової різноманітності мікоценозів NILs встановлено, що з ризосфери пшениці в чисту культуру було виділено 319 штамів мікроміцетів, які належали до 20 родів Zygomycota та Ascomycota. Найбільшою кількістю видів були представлені роди *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, темнопігментовані мікроміцети та ін. В цілому, систематична структура ризосферних мікроміцетів, які виявлені у досліджених ліній,

характеризувалася незначною різноманітністю і була аналогічною. Проте співвідношення родів і груп мікроміцетів у мікобіоті певної лінії відрізнялося. Так, суттєві відмінності стосувалися видів – потенційних фітопатогенів (темнопігментовані гриби та представники р. *Fusarium* Link): максимальний їх відсоток виявлений в мікобіоті лінії *VRN-A1a*, дещо менше їх було в ризосфері рослин лінії *VRN-B1a*. Ризосфера рослин лінії *VRN-D1a* містила найменшу кількість потенційних фітопатогенів, з чого можна робити припущення про більш високу потенційну стійкість даного генотипу до фітопатогенів. Також слід відмітити, що вклад у мікобіоту природних антагоністів фітопатогенів, грибів роду *Trichoderma* Pers., для ризосфери рослин усіх ліній, був однаковим – 6% (рис. 1).

З поверхні філосфери колосів рослин пшениці усіх досліджених ліній було виділено незначне число видів мікроскопічних грибів – всього 27 штамів, які належали до 6 родів (табл. 4). Потенційні фітопатогени – представники роду *Fusarium* були знайдені в змивах з колосів усіх ліній, а у змивах з колосів рослин лінії *VRN-A1a* траплялися ще й представники темнопігментованих грибів. Кількість грибних пропагул також максимальною була у ізолінії з прискореними темпами розвитку *VRN-A1a* і *VRN-D1a*, мінімальною – у рослин ізолінії *VRN-B1a* (див. табл. 3).

Таким чином, в результаті проведених досліджень нами встановлено, що ізолінії, які розвиваються прискореними темпами, характеризувалися більш чисельним та різноманітним складом мікоценозу. Ізолінія, яка розвивалася повільно та мала більш тривалий вегетаційний період, була здатна формувати більш специфічний мікоценоз. Отже, одержані дані показали, що чисельність та видова структура мікроміцетів ризосфери і колосу (філосфери) досліджених ізогенних ліній пов'язана з їх генотипом за генами *VRN*.

Таблиця 4.

Перелік видів мікроміцетів, виділених з поверхні колосів рослин ізогенних ліній сорту Миронівська 808

Мікроміцети**	Генотип ізолінії*		
	<i>Vrn-A1a</i>	<i>Vrn-B1a</i>	<i>Vrn-D1a</i>
<i>Mucor</i> sp.	-	-	+
<i>Penicillium</i> sp. секція <i>Asymmetrica</i>	+	-	-
<i>Fusarium avenaceum</i> var. <i>herbarum</i> (Corda) Sacc.	+	+	+
<i>Fusarium</i> sp.	+	+	+
<i>Trichoderma</i> sp.	-	-	+
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keiss.	+	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fr.) de Vri.	+	-	-
Усього видів	5	2	4

* показані тільки домінантні гени;

** (+) наявний, (-) відсутній вид.

На нашу думку, пояснити встановлені відмінності між дослідженими лініями за чисельністю і видами мікроміцетів у кореневій зоні та колосі можна, спираючись на особливості протікання у них фізіолого-біохімічних процесів. Показано, що для ізолінії пшениці сорту Миронівська 808, які несуть домінантні гени *Vrn-A1a* і *Vrn-D1a* і розвиваються швидше, ніж ізолінія з домінантним геном *Vrn-B1a*, характерний більш інтенсивний вуглеводний та азотний обмін і перебіг ростових процесів (Жмурко та ін., 2017). Встановлено, що лінії з прискореними темпами розвитку відрізняються від лінії із сповільненим розвитком більшим рівнем виділення та іншим складом метаболітів у кореневій зоні (Самойлов и др., 2009). Отже, саме це може бути одним з головних чинників, які обумовлюють різницю між лініями за чисельністю, видовим складом та співвідношенням видів мікроміцетів у ризосфері.

Той факт, що ізолінії різняться за чисельністю мікроміцетів у філосфері, може бути пов'язаний з різними темпами їх розвитку. Досліджені лінії переходять до колосіння у різні строки, тому ця фенофаза може протікати у них за різного рівня напруги чинників довкілля – температурних, фотоперіодичних умов, інсоляції та зволоження. Ці чинники, як відомо, впливають на рівень розвитку мікроорганізмів залежно від їх біологічних особливостей.

Таким чином, аналіз одержаних результатів дозволяє припустити, що гени VRN беруть участь у формуванні і функціонуванні мікоценозів пшениці. Вірогідно, що ці їх ефекти реалізуються опосередковано, через участь у регуляції темпів розвитку, продуктивності, якості зерна та перебігу фізіолого-біохімічних процесів.

Автори виражають подяку заступнику директора з наукової роботи Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насінництва і сортовивчення НААН України д.б.н. Файту Віктору Івановичу за представлений рослинний матеріал – ізогенні за генами VRN лінії сорту Миронівська 808 для проведення досліджень.

Робота виконана в рамках держбюджетної теми «Дослідження фізіолого-біохімічних і молекулярно-біологічних механізмів генетичного контролю розвитку і продукційного процесу сільськогосподарських культур» (номер держреєстрації № 0112U000101) за пріоритетним тематичним напрямком «Фундаментальні проблеми наук про життя і розвиток біотехнологій».

Список літератури / References

- Авксентьева О.А. Физиолого-биохимическая регуляция темпов развития изогенных линий пшеницы *Triticum aestivum* L. // Регуляція росту і розвитку рослин: фізіолого-біохімічні і генетичні аспекти. Матеріали II міжнародної наукової конференції. – Харків, 2011. – С. 15–16. /Avksentyeva O.A. Physiological and biochemical regulation of the rate of development of wheat isogenic lines of *Triticum aestivum* L. // Regulation of growth and development of plants: physiological, biochemical and genetic aspects. Materials of the II International Scientific Conference. – Kharkiv, 2011. – P. 15–16./
- Авксентьева О.А., Вінникова О.І. Чисельність мікроміцетів у ризосфері ізогенних за генами VRN ліній пшениці у зв'язку з темпами розвитку та продуктивністю // Сучасні напрями селекційного удосконалення пшениці. Матеріали міжн. конф., присвяченої 100-річчю селекції пшениці в Селекційно-генетичному інституті – Національному центрі насіннезнавства та сортовивчення. – Вінниця: ТОВ Нілан-ЛТД, 2016. – С. 54–56. /Avksentyeva O.A., Vinnikova O.I. The number of micromycetes in the rhizosphere of the wheat lines isogenic by VRN genes in connection with the rate of development and productivity // Current trends of breeding improvement of wheat. Materials of the international conference dedicated to the 100th anniversary of wheat selection at the Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation. – Vinnitsa: LLC Nilan LTD, 2016. – P. 54–56./
- Гажеева Т.П., Гордеева Т.Х., Масленникова С.Н. Динамика численности и состава микроорганизмов ризосферы некоторых злаковых растений в процессе их роста и развития // Вестник ОГУ. – 2011. – №12 (131). – С. 328–330. /Gazheeva T.P., Gordeeva T.H., Maslennikova S.N. Dynamics of the number and composition of microorganisms of the rhizosphere of some cereal plants in the process of their growth and development // Bulletin of the OSU. – 2011. – No. 12 (131). – P. 328–330./
- Дем'янюк О.С., Шерстобоева О.В., Чайковська В.В. Спрямованість біологічних процесів у ґрунті за різних систем удобрення пшениці озимої та погодних умов // Збалансоване природокористування. – 2016. – №2. – С. 146–151. /Dem'yanyuk O.S., Sherstoboeva O.V., Chaykovska V.V. Direction of biological processes in the soil under different fertilizer systems of winter wheat and weather conditions // Balanced Natural Resources. – 2016. – No. 2. – P. 146–151./
- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351с. /Dospikhov B.A. Methodology of field experience. – M.: Agropromizdat, 1985. – 351p./
- Дубровна О.В., Моргун Б.В., Бавол А.В. Біологічна характеристика та господарське значення пшениці та чинники, що обмежують її урожайність // Біотехнології пшениці: клітинна селекція та генетична інженерія. – К.: Логос, 2014. – С. 11–16. /Dubrovna O.V., Morgun B.V., Baval A.V. Biological characteristics and economic value of wheat and factors limiting its yield // Biotechnology of wheat: cell selection and genetic engineering. – K.: Logos, 2014. – P. 11–16./
- Жмурко В.В., Авксентьева О.О., Юхно Ю.Ю. та ін. Ефекти генів фотоперіодичної чутливості і потреби в яровизації у рослин пшениці м'якої та сої культурної // Фізіологія рослин: досягнення та нові напрями розвитку. – К.: Логос, 2017. – С. 187–197. /Zhmurko V.V., Avksentyeva O.O., Yukhno Yu.Yu. et al. Effects of genes of photoperiodic sensitivity and the need for vernalization in soft wheat and soybean plants // Plant physiology: achievements and new directions of development. – K.: Logos, 2017. – P. 187–197./
- Зенова Г.М., Степанов А.Л., Лихачева А.А. Практикум по биологии почв. – М.: Издательство МГУ, 2002. – 120с. /Zenova G.M., Stepanov A.L., Likhacheva A.A. Workshop on soil biology. – Moscow: Publisher MSU, 2002. – 120p./
- Ковалишина Г.М., Демидов О.А., Муха Т.О. та ін. Миронівські сорти пшениці озимої із груповою стійкістю проти хвороб для Лісостепу України // Ел. журнал «Наукові доповіді НУБіП України». – 2016. – №5 (62). – http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2016_5_23. /Kovalishina G.M., Demidov O.A., Mukha T.O. et al.

- Mironovsky winter wheat varieties with group resistance to diseases for the forest-steppe of Ukraine // Electronic journal "Scientific Reports of NUBiP of Ukraine". – 2016. – No. 5 (62)./
- Копилов Є.П. Видове різноманіття мікроміцетів лучно-чорноземного вилугованого ґрунту кореневої зони пшениці ярої // Агроекологічний журнал. – 2010. – №3. – С. 55–59. /Kopylov Ye.P. Species diversity of micromycetes of meadow-chernozem extracted soil of the root zone of spring wheat // Agroecological Journal. – 2010. – No. 3. – P. 55–59./
- Крючкова Л.О., Грицьок Н.В. Кореневі гнилі пшениці озимої – поширення в Північному Лісостепу України // Карантин і захист рослин. – 2014. – №2. – С. 9–12. /Kryuchkova L.O., Gritsyuk N.V. Root rot of winter wheat – distribution in the Northern Forest-steppe Ukraine // Quarantine and Plant Protection. – 2014. – No. 2. – P. 9–12./
- Методы биохимического анализа растений / Под ред. А.И.Ермакова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 432с. /Methods of biochemical analysis of plants / Ed. A.I.Ermakov. – L.: Agropromizdat, 1987. – 432p./
- Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г.Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304с. /Methods of soil microbiology and biochemistry / Ed. D.G.Zvyagintsev. – M.: MSU Publishing House, 1991. – 304p./
- Моргун В.В., Швартау В.В., Киризий Д.А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т.42, №5. – С. 371–393. /Morgun V.V., Shvartau V.V., Kiriziy D.A. Physiological bases of formation of high productivity of grain cereals // Physiology and Biochemistry Cult. Plants. – 2010. – Vol.42, no. 5. – P. 371–393./
- Мошинець О.В., Косаківська І.В. Екологія фітосфери: рослинно-мікробні взаємовідносини. 1. Структурно-функціональна характеристика ризо-, енто- та філосфери // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2010. – Вип.2. – С. 19–35. /Moshinets O.V., Kosakivska I.V. Ecology of the phytosphere: plant-microbial interrelations. 1. Structural-functional characteristic of rhize, endo- and phyllosfera // Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series: Biology. – 2010. – Vol.2. – P. 19–35./
- Мутерко О.Ф., Балашова І.А., Файт В.І., Сиволап Ю.М. Молекулярно-генетичні механізми регуляції типу розвитку пшениці // Цитологія і генетика. – 2015. – Т.49, №1. – С. 71–86. /Muterko O.F., Balashova I.A., Fayt V.I., Sivolap Yu.M. Molecular genetic mechanisms of regulation of wheat development type // Cytology and Genetics. – 2015. – Vol.49, no. 1. – P. 71–86./
- Рибалка О.І., Моргун В.В., Починок В.М. Сучасні дослідження якості зерна пшениці у світі: біосинтез та накопичення запасних білків, структура, агрегація і реологія у зв'язку з технологією зернопродуктів // Физиология и биохимия культ. растений. – 2011. – Т.43, №6. – С. 463–477. /Rybalka O.I., Morgun V.V., Pochynok V.M. Contemporary researches on the quality of wheat grain in the world: biosynthesis and accumulation of spare proteins, structure, aggregation and rheology in connection with the technology of grain products // Physiology and Biochemistry Cult. Plants. – 2011. – Vol.43, no. 6. – P. 463–477./
- Самойлов А.М., Авксентьева О.А., Жмурко В.В. Энд- и экзометаболиты корней изогенных по генам *VRN* линий озимой пшеницы и их влияние на хемотаксический ответ *Azospirillum brasilense* // Физиология растений: проблемы и перспективы развития. – К.: Логос, 2009. – Т.1. – С. 585–593. /Samoylov A.M., Avksentyeva O.A., Zhmurko V.V. Endo- and exometabolites of the roots of the isogenic lines of winter wheat by *VRN* genes and their influence on the chemotaxis response of *Azospirillum brasilense* // Plant physiology: problems and prospects of development. – K.: Logos, 2009. – Vol.1. – P. 585–593./
- Степаненко І.Л., Смирнова О.Г., Титов І.І. Модель генной сети регуляции времени цветения у озимой пшеницы и ячменя // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т.16, №1. – С. 99–106. /Stepanenko I.L., Smirnova O.G., Titov I.I. Model of the gene network for the regulation of flowering time in winter wheat and barley // Vavilovsky Journal of Genetics and Selection. – 2012, Vol.16, no. 1. – P. 99–106./
- Фузариоз зерна: опасность и меры снижения вредоносности / Bayer Crop Science /Fusarium grain: danger and harm reduction measures / Bayer Crop Science./ (<http://www.bayercropscience.ru/ru/fusarium.html>)
- Щербань А.Б., Салина Е.А. Эпигенетическая регуляция экспрессии генов яровизации // Цитология. – 2013. – Т.55, №4. – С. 234–237. /Shcherban A.B., Salina E.A. Epigenetic regulation of expression of vernalization genes // Cytology. – 2013. – Vol.55, no. 4. – P. 234–237./
- Яринчин А.М. Оптимальный склад комплексу грибів роду *Fusarium* LK:FR для штучної інокуляції озимої пшениці при селекції на стійкість // Захист і карантин рослин. – 2008. – Вип.54. – С. 504–509. /Yarynchin A.M. Optimal composition of the complex of fungi of the genus *Fusarium* LK:FR for artificial inoculation of winter wheat in breeding for resistance // Plant protection and quarantine. – 2008. – Vol.54. – P. 504–509./
- Dennis E., Pearce W. Vernalization in cereals // Journal of Biology. – 2009. – Vol.8, no. 57. – P. 1–4.
- Dhillon T., Pearce S.P., Stockinger E.J. et al. Regulation of freezing tolerance and flowering in temperate cereals: the *VRN-1* connection // Plant Physiol. – 2010. – Vol.153. – P. 1846–1858.
- Distelfeld A., Tranquilli G., Li C. et al. Genetic and molecular characterization of the *VRN2* loci in tetraploid wheat // Plant. Physiol. – 2009. – Vol.149 (1). – P. 245–257.
- Khotyljova L.V., Kaminskaya L.N., Koren L.V. Influence of genetic systems of *VRN*- and *PPD* genes on the ecological adaptation of wheat and *Triticale* // Biologija. – 2002. – No. 4. – P. 45–48.

Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W. et al. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. – CAB International, 2008. – 771p.

Oliver S.N., Finnegan E.J., Dennis E.S. et al. Vernalization-induced flowering in cereals is associated with changes in histone methylation at the VERNALIZATION1 gene // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol.106. – P. 8386–8391.

Trevaskis B., Bagnall D.J., Ellis M.H. et al. MADS-box genes control vernalization-induced flowering in cereals // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol.100 (22). – P. 13099–13104.

Trevaskis B. The central role of the VERNALIZATION1 gene in the vernalization response of cereals // Funct. Plant Biol. – 2010. – Vol.37. – P. 479–487.

Представлено: В.П.Петренко / Presented by: V.P.Petrenkova

Рецензент: С.Н.Шамрай / Reviewer: S.N.Shamray

Подано до редакції / Received: 02.03.2018

About the authors: O.O.Avksentyeva – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-3274-3410>

O.I.Vinnikova – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, o.i.vinnikova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-8632-0213>

Про авторів: О.О.Авксентьева – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-3274-3410>

О.І.Віннікова – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, o.i.vinnikova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-8632-0213>

Об авторах: О.А.Авксентьева – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, avksentyeva@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0002-3274-3410>

О.И.Винникова – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, o.i.vinnikova@karazin.ua, <https://orcid.org/0000-0001-8632-0213>