

НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

КОРОЛЬ Тетяна Степанівна

ФАКТОРИ СТІЙКОСТІ ЛЮЩЕРНИ ДО ЛЮЩЕРНОВОЇ
КВІТКОВОЇ ГАЛИЦІ ТА ФІТОНОМУСА

Спеціальність 03.00.09 - ейтомологія

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1995



00761635 (S)

Дисертація виконана в Інституті ботаніки НАН України
1982-1990рр. 1 була складовою часткою дисертації тов. А. Г. Бабич
01.82.8055475 1 01.87.0046810.

Науковий керівник: доктор біологічних наук,
професор Смілянець Володимир Петрович

Офіційні опоненти:
доктор біологічних наук,
професор Білецький Євген Миколайович

кандидат біологічних наук
Нагорна Ірина Михайлівна

Провідна установа - Інститут рослинництва ім. В. Я. Кур'єва УААН

Захист дисертації відбудеться " 8 " жовтня 1995 року
о " 10 " годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д-01.05.13
в Національному Аграрному Університеті за адресою 252041, Київ-41,
Героїв оборони, 15, учбовий корпус 3, аудиторія 68.

Просимо прийняти участь в обговоренні дисертації при її захисті
або вислати Ваш відгук на автореферат у двох примірниках, заві-
рений печатком за адресою: 252041, Київ-41, Героїв оборони, 15,
Сектор захисту дисертацій.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці НАУ.

Автореферат розісланий " 04 " 11 1995р.

Вчений секретар
Спеціалізованої вченої ради,
кандидат сільськогосподарських
наук

А. Г. Бабич

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Люцерна - кормова культура, яка відіграє важливу роль в забезпеченні тваринництва повноцінним білком. Вона пошкоджується багатьма видами шкідників, найбільш шкочочинними є люцернова квіткова галиця та фітономус, які пошкоджують генеративні органи, що призводить до значних втрат урожаю насіння. Біологічні особливості розвитку цих шкідників значно ускладнюють боротьбу з ними за допомогою хімічних засобів захисту. В зв'язку з цим, важливо максимально використовувати природні фактори "самозахисту" люцерни від шкідників.

Теоретичною базою для проведення досліджень служили фундаментальні праці М.І.Вавилова, Р.Пайнтера, а також розробки відділу імунітету ІЗР УААН, зокрема Д.Ф.Руднева, М.П.Лісового, В.П.Смілянця.

Природа стійкості люцерни до шкідників, зокрема до люцернової квіткової галиці та фітономуса, з позицій системного підходу вивчена недостатньо. Дослідження окремих факторів стійкості та їх комплексів, а також механізмів функціонування захисної системи люцерни становить актуальну проблему.

Мета та завдання досліджень. Метою досліджень було вивчення взаємовідносин в системі коадаптації "люцерна - шкідники (люцернова квіткова галиця та фітономус)" на рівні біохімічних механізмів та фенотипічних ознак.

Для досягнення поставленої мети вирішувались такі завдання:

- визначення біохімічних параметрів стійкості рослин люцерни (білки, цукри, сапоніни, фенол-карбонові кислоти, амінокислоти);
- встановлення механізмів взаємовідносин між захисною системою люцерни та системою адаптації шкідників;
- пошук фенотипічних ознак (маркерів), пов'язаних з проявом захисних реакцій;
- розробка моделей захисної системи люцерни до шкідників за біохімічними показниками та аналіз її функціонування при різних рівнях стійкості рослин.

Наукова новизна досліджень.

1. Визначені окремі біохімічні фактори захисної системи люцерни.
2. Вперше вивчена захисна система люцерни та встановлені закономірності її функціонування при різному ступені стійкості рослин.
3. На основі теорії образів та логічного моделювання на ЕОМ обґрунтовано принцип створення образів захисної системи.
4. Вперше розроблені методологічні основи закономірностей функціонування системи коадаптації, які рекомендується використовувати при розробці методик експертизи в селекційному процесі на стійкість.

5. Визначені фенотипічні маркери, пов'язані з рівнем стійкості та біохімічними параметрами захисної системи люцерни.

На захист виносяться наступні положення:

- значення речовин первинного обміну в захисній системі люцерни до люцернової квіткової галиці та фітономуса;

- значення речовин вторинного обміну рослин в захисній системі люцерни від шкідників;

- імітаційні моделі захисної системи за біохімічними показниками та аналіз їх функціонування при різних рівнях стійкості люцерни;

- принцип створення образів захисної системи люцерни до шкідників;

- фенотипічні ознаки (маркери), пов'язані з рівнем стійкості та біохімічними факторами.

Апробація роботи. Основні положення та результати досліджень доповідались на засіданнях відділу імунітету, Ученій Раді ІЗР УААН, конференції "Региональные проблемы защиты сельскохозяйственных растений от вредителей и болезней" (м.Кишинів, травень 1985 р.); Всесоюзній науково - технічній нараді "Перспективы генетики и селекции винограда на фитоиммунитет" (м.Сімферополь, 3-5 вересня 1986 р.); VIII Всесоюзній нараді по імунітету сільськогосподарських рослин (м.Рига, грудень 1986 р.); Конференції молодих учених та спеціалістів УкрНДІЗР по проблемі "Защита сельскохозяйственных культур от вредителей и болезней" (м.Київ, 30 березня - 1 квітня 1988 р.); Всесоюзній конференції "Измерительная и вычислительная техника в управлении производственными процессами в АПК" (м.Ленінград, 14 - 18 листопада 1988 р.); Всесоюзній нараді "Методы отбора по комплексам признаков в селекции растений" (м.Сімферополь, 26-28 вересня 1989р.); XIII Міжнародному конгресі по захисту рослин (Голандія, 1995 г.).

Місце проведення досліджень. Дослідження проведені в лабораторії стійкості сільськогосподарських культур до шкідників Інституту захисту рослин УААН, а окремі досліди в лабораторії генетики Інституту землеробства УААН, лабораторії біохімії державного Нікітського Ботанічного саду, лабораторії хімії вина УНДІВІВ "Магарач", відділі екології та фізіології комах ВІЗР.

Публікації результатів досліджень. За матеріалами дисертації опубліковано 10 наукових праць, одна з них за кордоном.

Структура і обсяг роботи. Дисертація викладена на 162 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 25 таблицями, 7 малюнками. Складається з вступу, семи глав, висновків та рекомендацій виробництву. Список використаної літератури містить 294 найменування, у

тому числі 127 праць іноземних авторів.

Особистий внесок дисертанта в розробку наукових положень.

Автор обґрунтував актуальність напрямку досліджень, провів наукові експерименти, узагальнив отримані результати.

За участю автора розроблений і впроваджений "Газохроматографічний метод визначення фенольних сполук у люцерні селекційних сортів" (Акт о внедрении законченных научных исследований от 15 декабря 1982 года), а також передані НВО "Еліта" донори стійкості люцерни до люцернової квіткової галиці (Апарантська місцева), фітономуса (Дніпропетровська жовта, Дикоростуча серпоподібна 22382), а також внутрішньопопуляційні відбори (3 зразки) для використання їх в селекційному процесі при створенні стійких сортів люцерни до згаданих шкідників (Акт о передаче от 19 июля 1985г.).

Вважаю за приємний обов'язок висловити щиро вдячність моєму вчителю доктору біологічних наук, професору Смілянцю Володимирі Петровичу, співробітникам ІЗР УАН Шеліхову О.Г., Дрозді В.Ф., зав. лабораторією генетики ІЗ УАН Бобру А.Ф., а також співробітникам лабораторій біохімії Нікітського Ботанічного саду та хімії вина УНДІВІВ "Магарач" за надану допомогу і підтримку в процесі роботи.

2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Дослідження проводили на сортах люцерни вітчизняної та зарубіжної селекції, модельних зразках, відібраних в результаті випробувань на жорсткому штучному фоні, як стійкі до люцернової квіткової галиці та фітономуса, а також популяцій вище названих шкідників.

Дослідження проводили згідно "Методических рекомендаций по оценке устойчивости бобовых культур к вредителям" (Ленінград, ВІЗР, 1981) в польових та лабораторних умовах.

Для біохімічних дослідів відбирали листя і бутони у фазі стеблання та бутонізації, які відповідають шкочочинним стадіям фітономуса (жуки, личинки) та люцернової квіткової галиці (личинки).

Біохімічні аналізи проводились за відомими (Ермаков, 1952, 1987; Мосолов, Скарлат, 1965; Починок, 1976; Конарев, 1982, 1985) та оригінальними методиками з використанням сучасних приладів та обладнання: амінокислотного аналізатора, газового хроматографа, тонкошарової хроматографії, ізoeлектрофокусування, що дало можливість істотно підвищити точність результатів.

Денситометричну обробку хроматограм та статистичний аналіз проводили на системі "IBAS" за стандартною програмою.

Для побудови моделей та обробки даних на ЕОМ використані мето-

ди математичної логіки та експертні системи, розроблені Інститутом кібернетики НАН України / Вагис, Братусь, Василенко, 1987/. Для створення образів захисної системи люцерни використана теорія образів Гренандера / Гренандер, 1981/.

Внутрішньопопуляційні відбори стійких форм люцерни в популяціях клону Бореале 47 та сорту Ярославна проводились за допомогою таблиць колориметричного атласу кольорів N 40 Всесоюзного НДІ Метрології, який містить 450 зразків кольорів та атестований як зразкова міра II-го розряду, згідно оригінальні методики.

3. ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

1. Стійкість зразків люцерни до люцернової квіткової галиці та фітономуса (Створення моделей для досліджень).

Пізнавання закономірностей взаємовідносин у системі "фітофаг - кормова рослина" можливе шляхом створення імітаційних багатофакторних моделей і їх аналізу на ЕОМ.

Для характеристики захисної системи люцерни розроблена блок-схема моделі взаємовідносин згідно якої, популяції взаємодіють між собою за допомогою адаптивної та захисної систем за принципом зворотнього зв'язку (мал. 1).

Захисна система популяції рослин включає ряд біохімічних параметрів, кожний з яких діє на окремі параметри системи адаптації популяції шкідників.

Для добору зразків різного рівня стійкості з метою побудови моделей взаємовідносин, проведена оцінка стійкості різних видів та сортів люцерни, з яких відібрані найбільш придатні для створення моделей.

Визначення рівня та типів стійкості зразків люцерни проводили шляхом дослідження фізіологічного стану популяцій шкідників. Вивчали наступні параметри: інтенсивність живлення імаго та личинок, масу їх тіла, виживання та смертність, щільність зимуючих стадій.

Моделними зразками для вивчення закономірностей взаємовідносин у системі "люцерна - фітономус" були:

- як стійкі: Дніпропетровська жовта, Дикоростуча серпоподібна К-41604, К-22382, Дикоростуча К-36118, Агс;

- як нестійкі: Веселоподолянська 11, Павлівська 7, Марусинська 425.

Вивчався комплекс параметрів захисної системи: білки, амінокислоти, цукри, білки-інгібітори, сапоніни, феноли.

Для вивчення закономірностей взаємовідносин в системі "люцерна



Мал. 1. Блок-схема моделі взаємовідносин в системі люцерна - шкідники

- квіткова галиця" відібрані модельні зразки:

- як стійкі: Люцерна північна, Саареамська дикоростуча, Дедівська, Апарантська місцева, Люцерна блакитна;

- як нестійкі: Павлівська 7, Веселоподолянська 11.

Вивчався комплекс параметрів захисної системи: білки, амінокислоти, цукри, білки-інгібітори, феноли, фенол-карбонові кислоти.

При цьому вважали, що результат взаємодії як окремих факторів, так і їх комплексів є об'єктивною характеристикою як захисної системи рослин, так і системи адаптації популяції шкідника і може бути виражений у вигляді образу стану системи коадаптації в певний момент часу.

2. Роль речовин первинного обміну в стійкості люцерни до шкідників.

Першим етапом вивчення захисної системи люцерни було визначення вільних амінокислот, які відіграють важливу роль як в процесах метаболізму самої рослини, так і в фізіологічних процесах комах, що харчуються.

Встановлено, що на стадії розвитку личинок фітономуса листя стійких зразків Агс, Дн пропетровська жовта, Дикоростуча 41604 містить більш повний набір вільних амінокислот, серед яких треонін, валін, фенілаланін, гістидин, триптофан та лізин є незамінними і відіграють особливо важливу роль у процесах життєдіяльності комах. Воно також містить підвищену кількість аміаку, який проявляє токсичну дію по відношенню до комах.

В нестійких сортах відсутні незамінні амінокислоти: валін, фенілаланін, гістидин та триптофан.

Зразки, стійкі до люцернової квіткової галиці відрізняються від нестійких як якісним складом, так і кількісним вмістом окремих амінокислот. Так, у бутонах стійких зразків Північна та Апарантська місцева вміст проліну та треоніну в 2 рази, а серину - в 6 разів вищий в порівнянні з нестійкими сортами Павлівська 7 і Веселоподолянська 11.

Порівнюючи між собою стійкі зразки Північна та Апарантська місцева слід відмітити, що перша з них менше пошкоджується люцерновою квітковою галицею та більш збалансована за амінокислотним складом.

Сумарний вміст амінокислот у стійких до обох шкідників зразках значно вищий (12999-33220нг/мг), ніж у нестійких (7151-9726нг/мг).

Цілком імовірно, що в процесі живлення на нестійких зразках шкідники недоотримують ряд амінокислот, тому для нормального функ-

ціонування і розвитку організму їм необхідно більше їжі, що співпадає з даними по пошкодженості.

Одним із захисних механізмів рослин є їх здатність інгібувати протеїнази комах.

Аналізи по визначенню білків-інгібіторів травних ферментів з листя зразків показали, - що основна частина білків-інгібіторів фіксується у верхній частині електрофореграм при pH = 9-11 (мал.2).

Різкої якісної відмінності в спектрах білків-інгібіторів різних за стійкістю зразків, а також між листям та насінням одного сорту не спостерігається. Але, простежується різниця в кількісному співвідношенні фракцій білків-інгібіторів трипсину в контрастних за стійкістю сортах. Так, на електрофореграмі стійкого сорту Агс ширина спектру при pH=9 та 11 в 1,5 рази, а при pH=10 та 11,5 - в 2 рази вища, ніж у нестійкого сорту Павлівська 7. Середньостійкий сорт Надія займає проміжне положення за кількісним вмістом білків-інгібіторів між стійким сортом Агс та нестійким Павлівська 7.

Одним з компонентів захисної системи є цукри, які визначають перевагу в первинному виборі кормової рослини комахами, а також є важливими елементами для живлення та утворення енергетичного резерву.

Визначення вмісту загальних та відновних цукрів у контрастних за стійкістю до фітономуса зразках люцерни свідчить, що значущі відмінності спостерігаються тільки у сорту Агс і в меншій мірі у сорту Ліберті, та й то стосовно суми цукрів.

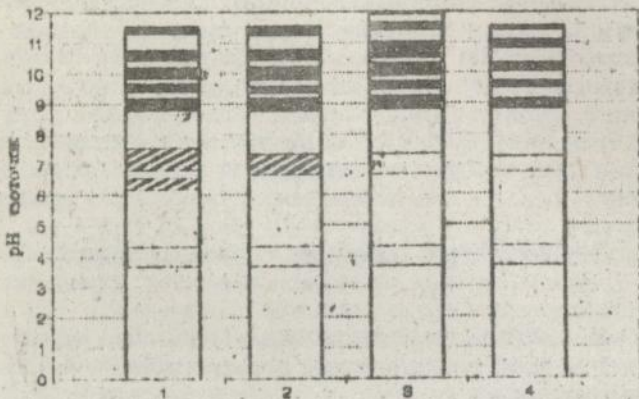
Аналогічна закономірність відмічена і у відношенні взаємозв'язку між стійкістю люцерни до квіткової галиці та вмістом цукрів. В цьому випадку тільки стійкі сорти Апарантська місцева та Дединівська містять більш високі показники суми цукрів та відновних цукрів в бутонах у порівнянні з іншими.

Отже, показник вмісту цукрів не завжди можна розглядати як маркер стійкості люцерни до цих шкідників, але його захисна функція реалізується в комплексі з іншими факторами захисної системи, про що буде викладено далі.



3. Роль речовин вторинного обміну в захисній системі люцерни від шкідників.

Крім речовин первинного обміну істотну роль у трофіці комах відіграють речовини вторинного обміну, які проявляють високу біологічну активність по відношенню до них.

Основна увага при дослідженні комплексу речовин вторинного обміну приділялась сапонінам, фенолам та фенол-карбоновим кислотам в



Мал. 2. Спектр білків-інгібіторів протеаз сортів люцерни

- | | |
|---|--|
|  білки-інгібітори трипсину |  білки-інгібітори інших протеаз |
| 1. Сорт Надія (насіння) | 3. Сорт Агс (листя) |
| 2. Сорт Надія (листя) | 4. Сорт Павлівська 7 (листя) |

зв'язку з їх важливим значенням в механізмах стійкості різних видів рослин до шкідників.

Аналіз кореляційної залежності між рівнем стійкості та вмістом сапонінів показав, що група малополярних глікозидів та вільних агліконів із значеннями $R_f=1,00 - 0,72$ та сапонін з $R_f=0,29$ мають зворотню кореляційну залежність з рівнем пошкодженості люцерни фітономусом, а полярні глікозиди мають пряму кореляційну залежність з пошкодженням (табл. 1).

Таблиця 1.

Кореляційна залежність в системі ознак
" вміст сапонінів - пошкодженість".

R_f сапоніну	Коефіцієнт кореляції $\pm r$	Стандартна похибка коефіцієнта кореляції $\pm m$	Критерій Стьюдента t
1,00	- 0,41	0,16	2,56
0,90	- 0,59	0,13	4,53
0,72	- 0,93	0,02	16,50
0,29	- 0,63	0,15	4,20
0,25	0,46	0,17	2,70
0,19	0,89	0,04	22,25
0,05 (цукри)	- 0,74	0,15	3,13

Найбільший інтерес викликає малополярний сапонін з $R_f=0,72$, для якого коефіцієнт кореляції склав $-0,93$. Цей сапонін можна вважати в якості основного фактора стійкості та негативної дії на фітономуса. Елизький за величиною, але протилежний за значенням характер зв'язку з пошкодженням має полярний сапонін з $R_f=0,19$. Його можна вважати як основний фактор привабливості рослин, так як із збільшенням його вмісту, збільшується і ступінь пошкодження.

Але, найбільш високе значення коефіцієнту кореляції, близьке до одиниці, спостерігається для співвідношення цих двох компонентів. Очевидно, склад сапонінів представляє собою підсистему стійкості люцерни до фітономуса в якій є фактори як позитивного; так і негативного впливу. Провідну роль у цій системі відіграють два сапоніни, один з яких має низьку ступінь глікозидування і визначає токсичну або антибіотичну властивість, а другий - з високим вмістом цукрів - привабливість для комах.

Встановлена тісна кореляційна залежність між кількістю вільних

цукрів та рівнем стійкості, з чого витікає, що вільні цукри мають певні токсичні та антифідантні властивості. З іншого боку, як уже відмічалось, цукри мають харчове значення для комах і, імовірно, приймають участь в глікозидуванні тритерпенів, що призводить до підвищення вмісту вільних цукрів в рослинах і зростання привабливості останніх на етапі первинного вибору.

Результати досліджень по вмісту загальних фенолів у різних за рівнем стійкості зразках люцерни до квіткової галиці свідчать про найбільш високий вміст фенольних сполук у гібридів *Medicago borealis* x *M. sativa* 30/5 (0,128%), *Medicago borealis* x *M. sativa* 6/7 (0,138%) і зразка *Medicago borealis* (0,095%), які характеризуються високим рівнем стійкості. Уражені зразки Веселоподолянська II та Північна гібридна містять фенолів значно менше - 0,058% та 0,044%.

Встановлено, що існує пряма залежність між вмістом фенолів у бутонах люцерни та їх пошкодженістю квітковою галицею. Так, зразки, які пошкоджувались на рівні 4,45% містили загальних фенолів 0,091%, а пошкоджені на 20% і більше - 0,060% і менше.

В результаті аналізів по вмісту фенол-карбонових кислот встановлено, що група стійких зразків люцерни містить підвищену кількість гентицинової, орто-кумарової, 2,4-діоксibenзойної та шикімової кислот. З підвищенням пошкодженості зразків збільшується вміст сиреньової, саліцилової, коричної, п-оксibenзойної кислот та зменшується вміст гентицинової, о-кумарової та шикімової кислот.

В групі відносно стійких зразків спостерігається різке зниження 2,4-діоксibenзойної кислоти та подальше підвищення її вмісту в групах слабкостійких та нестійких. Але її вміст в зразках даних груп не досягає рівня притаманного стійким зразкам.

Таким чином, ряд компонентів з сапонінів та фенол-карбонових кислот, що містяться в стійких зразках люцерни у високих концентраціях тісно корелюють з рівнем стійкості, відіграючи важливу роль в захисній системі.

4. Імітаційна модель захисної системи люцерни за біохімічними показниками.

Маючи велику кількість інформації про біохімічні показники колекції висхідного матеріалу люцерни, звичайними методами математичної статистики можна встановити тільки порівняльні характеристики або визначити тенденції до збільшення або зменшення деяких компонентів, які характеризують захисну систему. Тому для виявлення закономірностей, які характеризують комплексний вплив біохімічних параметрів на рівень проявлення стійкості рослин використовували

експертні системи побудовані на принципах математичної логіки. Для цього використовували спеціально розроблену програму індуктивних числень за допомогою яких, сформовані причинно-наслідкові гіпотези на ЕОМ про наявність асоціативних взаємозв'язків між рівнем стійкості (за показниками пошкодженості) та вмістом фенол-карбонових кислот та амінокислот.

Вихідна інформація про предметну область представлена стохастичними даними 30-ти зразків люцерни з параметрами: 1) пошкодженість; 2) вміст білку; 3) вміст фенолів; 4) вміст фенол-карбонових кислот 1 подана у вигляді шкал в таблицях 2 і 3.

В результаті моделювання для 6 груп люцерни, що відрізняються за рівнем стійкості (пошкодженість (P) від 0,1 до 50,5%) одержано декілька варіантів альтернативних гіпотез представлених в кон'юнктивно-диз'юнктивній формі, а саме:

- I $P(0,1 - 7,2\%) \sim 5(2) \wedge 7(2) \wedge 9(4) \vee^* 5(2) \wedge 9(4) \wedge 10(1) \vee$
 $\alpha=0,1$ 5(2) \wedge 11(1);
- II $P(8,9 - 13,8\%) \sim 3(3) \wedge 4(2) \vee 5(5) \wedge 6(2) \vee 5(1) \wedge 6(3) \vee$
 $\alpha=0,1$ 5(1) \wedge 7(4);
- III $P(16,3 - 19,5\%) \sim 2(4) \wedge 4(5) \wedge 7(3) \vee 2(4) \wedge 4(5) \wedge 9(3) \vee$
 $\alpha=0,1$ 2(4) \wedge 4(5) \wedge 11(4) \vee 2(4) \wedge 5(2) \wedge 9(2) \vee
2(4) \wedge 5(2) \wedge 7(3) \vee 2(4) \wedge 5(5) \wedge 9(3) \vee
2(4) \wedge 5(5) \wedge 11(4) \vee 2(4) \wedge 8(2) \vee
7(3) \wedge 10(3); \dots
- VI $P(36,5 - 50,5\%) \sim 3(1) \wedge 6(1) \vee 4(6) \wedge 6(3) \vee 4(6) \wedge 7(5) \vee$
 $\alpha=0,1$ 4(6) \wedge 8(4) \vee 4(6) \wedge 11(2) \vee 5(5) \wedge 6(3) \vee
5(5) \wedge 7(5) \vee 5(5) \wedge 8(4) \vee 5(5) \wedge 11(2) \vee
9(1) \wedge 11(3) \vee 10(4) \wedge 11(2), за допомогою

яких встановлена виразна різниця, у вмісті окремих компонентів, між стійкими та сприйнятливими зразками, а також між їх асоціаціями.

Низький рівень пошкодженості зразків квітковою галицею обумовлений вмістом таких фенол-карбонових кислот в рівнях^{**}: гентизиної (2), протокатехової (2) і шикімової (4) або гентизиної (2), шикімової (4) і хінної (1) або гентизиної (2) і бузкової (1).

Для високого рівня пошкодженості (36,5-50%) одержано 10 альтернативних причинно-наслідкових гіпотез взаємозв'язку пошкодженос-

*Примітка: Пошкодженість бутонів люцерни люцерновою квітковою галицею в інтервалі $P(0,1 - 7,2\%)$ асоціативно пов'язана, з достовірністю відмінностей $\alpha=0,1$, з вмістом саліцилової кислоти в рівні 2 (тобто $3,24 - 4,9 \cdot 10^{-2}\%$) і гентизиної - в рівні 2 ($1,07 - 1,56 \cdot 10^{-2}\%$) і протокатехової - в рівні 2 ($7,13 - 7,55 \cdot 10^{-2}\%$) або ...

** Див. табл. 2.

Таблиця 2.

Шкала концентрації фенол-карбонових кислот в бутонах люцерни, % ($\times 10^{-2}$)

N п/п	Компоненти	Р І В Н І К О Н Ц Е Н Т Р А Ц І Я					
		I	II	III	IV	V	VI
2	Σ фенолів	5,27 - 5,99	6,13 - 6,67	7,41 - 8,31			
3	Салцилова	0,80 - 2,01	3,24 - 4,90	7,60	18,70 - 20,10		
4	Ванілінова	0,80 - 1,29	2,70 - 4,80	8,00 - 10,40	15,20	20,70 - 21,70	27,3
5	Гентизинова	0,16 - 0,91	1,07 - 1,56	4,95 - 6,40	7,54 - 9,12	17,08	
6	О-кумарова	1,84 - 2,85	3,20 - 3,90	4,16 - 4,87	5,12 - 6,62	8,03 - 10,30	
7	Протокатехо- ва	0,19 - 0,59	1,54 - 1,60	2,56 - 4,16	7,13 - 7,55	12,38	
8	2,4-діокси- бензойна	0,085 - 0,09	0,384 - 0,481	0,550 - 0,753	0,86 - 1,025	1,426 - 1,447	5,91
9	Шикімова	0,30 - 0,75	1,23 - 1,32	2,62 - 3,16	3,95 - 3,97	4,34 - 4,94	
10	Хінна	0,50 - 1,02	1,60 - 2,39	3,44 - 5,02	23,48 - 25,80		
11	Сиреньова	0,18 - 0,29	0,50 - 0,85	1,17 - 1,49	2,69 - 3,50		
12	П-кумарова	0,51 - 1,10	1,40 - 2,50	5,80 - 6,90	19,20 - 25,60		

Таблиця 3.

Шкала концентрації амінокислот у бутонах льодерни (x 10. нм/мг)

N п/п	Амінокислоти	Р І В Н І К О Н Ц Е Н Т Р А Ц І Я				
		1	2	3	4	5
2	Треонін	1.1-1.8	2.9-3.6	4.3-4.5	5.2-5.6	6.0-7.0
3	Серін	8.0-15.0	21.0-25.2	27.0-30.0	33.0-39.0	116.0
4	Глутамін	1.5-3.0	4.0	5.0	6.0-7.4	
5	Пролін	12.0-15.0	19.0-20.0	22.0-24.0	28.0-32.0	
6	Аланін	4.0-6.0	8.0-11.0	14.0-15.0	19.0	29.0
7	Фенілаланін	1.0	2.0	3.0-4.0		
8	Гістидін	4.0-5.0	7.0-10.0	11.0-12.0	13.0-16.0	
9	Аміак	16.0-19.0	22.0-31.6	50.0-67.0		
10	Аргінін	1.0-3.0	3.0-3.2	4.0-5.7		

кислот:

саліцилова (1)	Λ	орто-кумарова (1) V
ванілінова (6)	Λ	орто-кумарова (3) V
ванілінова (6)	Λ	протокатехова (5) V
ванілінова (6)	Λ	2,4-діоксибензойна (4) V
ванілінова (6)	Λ	бузкова (2) V
гентизинова (5)	Λ	орто-кумарова (3) V
гентизинова (5)	Λ	2,4-діоксибензойна (4) V
гентизинова (5)	Λ	бузкова (2) V
шикімова (1)	Λ	бузкова (3) V
хінна (4)	Λ	бузкова (2) V

Проміжні за рівнем стійкості зразки характеризуються широкою варіабільністю в спектрі компонентів фенол-карбонових кислот, а також у їх бінарних композиціях.

Викликають інтерес гіпотези для (3) P_1 , тим, що для цього середнього рівня стійкості синергетично врахований вплив високого рівня загальних фенолів P_2 у вигляді 9 гіпотез.

Сума причинно-наслідкових гіпотез, що являють собою базу знань I-го порядку, послужила основою для побудови моделей захисної системи з визначеними параметрами стійкості і дала можливість отримати знання II-го порядку, що є прогнозом майбутнього. Таким чином, для пошкодженості люцерни галицею на рівні 4%, одержано 3 варіанти гіпотез, що свідчать про роль у захисній системі фенолів та фенол-карбонових кислот:

I - Σ фенолів (0,095) Λ саліцилова (0,004) Λ ванілінова (0,018) Λ гентизинова (0,033) Λ о-кумарова (0,095) Λ протокатехова (0,051) Λ 2,4-діоксибензойна (0,124) Λ шикімова (0,101) Λ хінна (0,0537) Λ бузкова (0,011) Λ п-кумарова (0,012);

II - Σ фенолів (0,095) Λ саліцилова (0,004) Λ ванілінова (0,018) Λ гентизинова (0,033) Λ о-кумарова (0,095) Λ протокатехова (0,046) Λ 2,4-діоксибензойна (0,124) Λ шикімова (0,101) Λ хінна (0,0537) Λ бузкова (0,011) Λ п-кумарова (0,012);

III - Σ фенолів (0,095) Λ саліцилова (0,004) Λ ванілінова (0,018) Λ гентизинова (0,033) Λ о-кумарова (0,09) Λ протокатехова (0,046) Λ 2,4-діоксибензойна (0,124) Λ шикімова (0,101) Λ хінна (0,0537) Λ бузкова (0,011) Λ п-кумарова (0,012) кислоти, які в незначній мірі відрізняються за рівнями вмісту орто-кумарової та протокатехової кислот.

Для пошкодженості на рівні 50% одержано 2 варіанти ідентичних гіпотез:

I - Σ фенолів (0,051) Λ саліцилова (0,004) Λ ванілінова (0,0019) Λ гентизинова (0,0033) Λ орто-кумарова (0,0091) Λ протокатехова

техова (0,0051) А 2,4-діоксibenзойна (0,039) А шикімова (0,0028) А хінна (0,0136) А бузкова (0,01) А пара-кумарова (0,00076) кислоти.

Встановлено, що нестійкі зразки (пошкодженість 50%) характеризуються зниженим вмістом загальних фенолів, 2,4-діоксibenзойної, шикімової, хінної та пара-кумарової кислот, які, очевидно, і відіграють основну роль у захисній системі, виступаючи як композиції речовин, що обумовлюють ступінь стійкості люцерни. При цьому, інші компоненти є фоном, на якому реалізуються захисні функції основних компонентів.

При встановленні взаємозв'язків між кількісним вмістом вільних амінокислот, їх якісним складом та рівнем пошкодженості люцерни отриманий ряд альтернативних гіпотез для стійких, середньостійких та нестійких зразків. Ці залежності виражені в кон'юнктивно-диз'юнктивній формі, мають вигляд:

I P(0,4 -13,0%) ~ 7(2) А 9(2) V 9(2) А 10(1);

$\alpha=0,1$

II P(21,0-36,0%) ~ 5(3) А 8(4) V 6(3) А 9(2) V 6(2) А 9(1) V

$\alpha=0,1$ 7(3) А 8(3) V 7(3) А 9(2) V 8(4) А 9(2) V
8(3) А 9(1);

III P(45,0-57,0%) ~ 5(4) А 6(3) V 5(4) А 10(3) V 6(3) А 2(2) V

$\alpha=0,1$ 7(2) А 10(3) і свідчать, що низька пошкодженість (0,4-13,0%) люцерни галицею залежить від вмісту у відповідних рівнях: фенілаланіну (2)* і аміаку (2) або аміаку (2) і аргініну (1).

Висока пошкодженість (45-57%) обумовлена вмістом у відповідних рівнях: проліну (4) і аланіну (3) або проліну (4) і аргініну (3) або аланіну (3) і фенілаланіну (2) або фенілаланіну (2) і проліну (3).

Висока пошкодженість (45-57%) обумовлена вмістом у відповідних рівнях: проліну (4) і аланіну (3) або проліну (4) і аргініну (3) або аланіну (3) і фенілаланіну (2) або фенілаланіну (2) і проліну (3).

Отримані гіпотези свідчать, що рівень стійкості люцерни до квіткової галиці пов'язаний з наявністю окремих замісних та незамінних амінокислот, які виконують різні функції в процесах метаболізму комах.

Стойкі кон'юнкції взаємозв'язку незамінних амінокислот фенілаланіну та аргініну з аміаком для низького рівня пошкодженості свідчать, про їх основну роль у захисній системі люцерни.

Результати досліджень окремих компонентів та їх ролі у виконанні захисних функцій показали, що захисна система є багатокомпонентною і складається з параметрів різної функціональної належності та різної значущості захисного ефекту.

На основі теорії образів, використавши комплекс біохімічних

* Див. табл. 3.

параметрів. сформована імітаційна модель захисної системи, в якій виділені основні компоненти, що визначають її рівень і є ядровими, а також ті, які є обов'язковими в системі метаболізму, але закономірного прямого їх впливу не виявлено. Разом з тим, вони притаманні, як стійким, так і не стійким зразкам, в зв'язку з чим, їх можна вважати фоном, на якому протікають захисні реакції. Таким чином, складний термінальний образ захисної системи складається з параметрів трьох рівнів значущості - ядрова ситуація, фонові компоненти I-го та II-го порядків.

Ядрова ситуація визначена на основі машинних експериментів з функціональними імітаційними моделями захисних систем різних за рівнем стійкості рослин і являє собою перелік причинно-наслідкових гіпотез. Механізми імунологічних реакцій протікають в присутності фонових компонентів I-го порядку, визначених аналогічно, і представлених продуктами первинного та вторинного метаболізму, а також на фоні компонентів II-го порядку, представлених елементами живлення.

На малюнку 3 представлений образ захисної системи з високим рівнем стійкості (пошкодженість 0,1-13,0%) в ядрову ситуацію якого входять фенол-карбонові кислоти - гентизинова (2), протокатехова (2), шикімова (4), хінна (1), бузкова (1); амінокислоти - фенілаланін (2), аргінін (1), аміак (2); сапоніни - Rf (1,00) - 5-15,0 од. оптичної щільності, Rf (0,29) - 12,5-15,0 од. опт.щільн.; цукри 14,5-44,0 од. опт.щільн., а також, білки-інгібітори фракції pH 9-11,5, що у 1,5-2 рази перевищують їх вміст у порівнянні з нестійкими зразками.

Порівняння образів захисних систем з різним рівнем стійкості дало можливість встановити, що вони мають аналогічні структури, але відрізняються за кількісним та якісним складом досліджених компонентів, що в кінцевому результаті визначає рівень стійкості рослин і впливає на фізіологічний стан популяцій шкідників, знижуючи інтенсивність живлення імаго та личинок, масу їх тіла, виживання, щільність зимувачих стадій та підвищуючи смертність.

5. Обґрунтування методики внутрішньопопуляційного відбору стійких форм льщери за кольоровими варіаціями.

Для селекційного процесу важливим є виявлення фенотипічних ознак або маркерів, пов'язаних з захисними реакціями та розробка на їх основі методик відбору та контролю стійких форм. Так, простежується залежність між стійкістю рослин до комах та їх забарвленням, а також між забарвленням рослин та їх хімічним складом. В зв'язку з

ЯДРО: ФКК ~ АК ~ С ~ БІФ

ФКК ~

гентизинова (2) А протокатехова (2) А шкімова (4) V
гентизинова (2) А шкімова (4) А хінна (1) V
гентизинова (2) А бужкова (1)

~ АК ~

Фенілаланін (2) А аміак (2) V
аміак (2) А аргінін (1)

~ С ~

Rf (1,00)	5,0-15,0
Rf (0,72)	13,5-15,5
Rf (0,29)	12,5-18,0
Rf (0,19)	9,5-15,0
Rf (0,05)	14,5-44,0

~ БІФ

pH = 9; 11 > 1,5
pH = 10; 11,5 > 2,0

ФОНОВІ КОМПОНЕНТИ ПЕРШОГО ПОРЯДКУ:

ФКК ~ АК ~ С ~ БІФ

ФКК ~

ванілінова; о-кумарова; 2,4-діоксибензойна;
п-кумарова; галова; кофейна

~ АК ~

аспарагін; треонін; серін; глутамін; пролін;
аланін; валін; ізолейцин; лейцин; гістидін

~ С ~

Rf (0,9); Rf (0,25)

~ БІФ

pH = 3-8

ФОНОВІ КОМПОНЕНТИ ДРУГОГО ПОРЯДКУ:

Σ білків; Σ цукрів; вітаміни; гормони; ліпіди; вода

Мал. 3. Образ захисної системи для низького рівня пошкодженості
(0,1-13,0%)

ФКК - фенол-карбонові кислоти; АК - амінокислоти;
С - сапоніни; БІФ - білки-інгібітори ферментів

чим, встановлювали залежності між забарвленням квіток люцерни, її стійкістю до квіткової галиці та взаємозв'язок між забарвленням і біохімічними факторами, які визначають стійкість.

Внутрішньопопуляційні відбори бутонів проводились серед рослин клону Бореале 47 і сорту Ярославна селекції УНДІЗ, квітки яких характеризуються великим діапазоном відтінків та проявом стійкості.

Аналіз частоти пігментів та їх відтінків в квітках, що зустрічались в популяціях рослин люцерни клону Бореале 47, свідчить, що найбільш часто зустрічаються кольорові варіації кобальт фіолетовий темний (К-14) інтервали 16/2-12/2, кобальт фіолетовий світлий (К-15), інтервали 2/6; 8/6; 10/6, крапплак фіолетовий (К-16) інтервали 8/2; 6/4; 8/6; 2/6, для яких характерна мінімальна пошкодженість бутонів (від 0 до 5%). Вони складають 40,74% від загальної кількості аналізованих зразків.

Аналізи вмісту фенольних сполук показали, що в бутонах квіток люцерни з більш темним пігментом та білим, загальна кількість фенольних сполук більша (0,076%) ніж в бутонах квіток проміжного забарвлення (0,025 - 0,055%). Поряд з цим встановлено, що в стійких зразках міститься підвищена кількість окремих фенол-карбонових кислот.

Перевірка розробленої методики на сорті Ярославна, показала, що даний сорт включає всього 8 кольорових відтінків. Серед них відбори з пігментом кобальт фіолетовий світлий (К-15), більш стійкі до квіткової галиці, але переважає пігмент кобальт фіолетовий темний (К-14), відтінки якого пов'язані з високим пошкодженням люцерни, що в цілому характеризує даний сорт як нестійкий.

Аналіз частоти кольорових варіацій, що зустрічались, та ступеню стійкості сортів-популяцій дозволив сформувати три термінальних образи структури стійких популяцій люцерни до квіткової галиці, які можуть бути виражені у вигляді формули асоціативного взаємозв'язку високої стійкості та вказаних варіацій у вигляді кон'юнкцій:

$Y \sim 16/2 \wedge 6/2 \wedge 2/2 \wedge 2/8$ (для карти 14);

$Y \sim 10/4 \wedge 10/6 \wedge 2/8$ (для карти 15);

$Y \sim 8/2 \wedge 6/4 \wedge 8/6 \wedge 2/6$ (для карти 16).

Метод внутрішньопопуляційного відбору за кольоровими варіаціями пропонується як експрес-метод діагностики сортів на стійкість до люцернової квіткової галиці, а також як метод контролю стійкості на етапах селекційного процесу.

В И С Н О В К И

1. Побудована блок-схема моделі захисної системи люцерни згідно якої проведені біохімічні аналізи вмісту загального білку, білків-інгібіторів, вільних амінокислот, цукрів, сапонінів, загальних фенолів та фенол-карбонових кислот в бутонах та листі люцерни різної за рівнем стійкості до люцернової квіткової галиці та фітономуса.

2. Показано, що популяції рослин люцерни та шкідників взаємодіють на рівні захисної та адаптивної систем через комплекс механізмів коадаптації.

3. Встановлено, що імунна система багатокomпонентна і складається з біохімічних параметрів різної функціональної належності.

4. Факторами захисної системи є речовини первинного (білки, амінокислоти, цукри, білки-інгібітори) та вторинного (феноли, фенол-карбонові кислоти, сапоніни) обмінів.

5. Факторами адаптації є зміни в ферментативній, кровоносній системах, в різноманітні ольфакторних, смакових, трофічних реакцій, що відображується в післядії на життєздатності популяції.

6. Встановлено, що стійкі зразки більш збалансовані за складом вільних амінокислот, а також відрізняються за кількісним та якісним складом фенол-карбонових кислот, сапонінів та білків-інгібіторів. Ці показники можна використовувати як біохімічні маркери при первинній оцінці та відборах селекційного матеріалу.

7. Методами логічного моделювання на ЗОМ одержані причинно-наслідкові гіпотези взаємозв'язку окремих біохімічних компонентів з рівнем стійкості люцерни до шкідників, котрі свідчать що стійкість люцерни до шкідників обумовлюється комплексом факторів, які являють собою образ захисної системи, а прояв стійкості до конкретного шкідника залежить від кількісного та якісного складу окремих компонентів, що входять в цей образ.

8. Сформовані імітаційні моделі захисних систем на основі теорії образів, які складаються з трьох рівнів значущості: ядрові ситуації, фонові компоненти 1-го порядку та фонові компоненти 2-го порядку, що дає змогу зобразити захисну систему з принципово нових позицій.

9. Встановлено, що рівень стійкості люцерни до квіткової галиці тісно пов'язаний з інтенсивністю забарвлення квіток люцерни: кольорові варіації з темним та білим забарвленням відрізняються підвищеною стійкістю до квіткової галиці. На цій основі розроблений метод внутрішньопопуляційного відбору стійких форм за показниками

забарвлення квіток за допомогою колориметричного атласу кольорів.

10. Отримані закономірності є теоретичною базою, яку рекомендується використовувати як методологічну основу створення стійких до шкідників сортів люцерни.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРІВНИЦТВУ.

1. При доборі висхідного матеріалу для селекції рекомендується проводити первинний відбір стійких зразків люцерни на природному фоні шкідників.

2. Проводити повторний відбір та оцінку відібраних рослин на штучному фоні шкідника, створеного шляхом додаткового внесення шкідника на дослідну ділянку.

3. Проводити відбір стійких до люцернової квіткової галлиці форм за кольоровими маркерами.

4. Використовувати метод ізоелектрофокусування білків-інгібіторів для відбору та контролю стійкості люцерни до фітонсуса. Відсутність різниці в спектрах білків-інгібіторів в листі та насінні дає змогу проводити оцінку як свіжого рослинного матеріалу, так і насіння.

5. При створенні висхідного селекційного матеріалу здійснювати точний контроль стійкості за біохімічними образами захисної системи з урахуванням наступних параметрів: білки, амінокислоти, цукри, феноли, фенол-карбонові кислоти і сапоніни.

Список опублікованих робіт за темою дисертації:

1. Шелихов А.Г., Король Т.С., Корнич А.М., Клименко О.П. Природа устойчивости различных сортов люцерны к вредителям семян и перспективы использования их в ограничении пестицидных обработок // Тез. докл. на заседании Секции генетических аспектов проблемы "Человек и биосфера", Киев, 11-13 октября 1983. - М., 1983. - С. 35-36.

2. Смелянец В.П., Шелихов А.Г., Король Т.С., Корнич А.М. Природа устойчивости различных сортов люцерны к люцерновой цветочной галлице и перспективы использования их в направленной селекции на устойчивость // Тез. докл. на конференции "Региональные проблемы защиты с.-г. растений от вредителей и болезней", г. Кишинев, 1985. - Кишинев, 1985. - С. 18-19.

3. Смелянец В.П., Король Т.С. Содержание фенольных соединений в образцах люцерны с различной устойчивостью к люцерновой цветочной галлице /Contarinia medicaginis/ // Защита растений. - Вып. 33. - Киев, 1986. - С. 39-41.

4. Шелихов А.Г., Король Т.С. Биохимические показатели устойчивости люцерны к люцерновой цветочной галлице // Тез. докл. Всесоюзного научно-практического совещания "Перспективы генетики и селекции винограда на фитоиммунитет"; г. Симферополь, 3 - 5 сентября 1986. - М., 1986. - С. 45-46.

5. Шелихов А.Г., Клименко О.П., Король Т.С. Биохимические показатели устойчивости люцерны к фитомому // Тез. докл. VIII Всесоюзного совещания по иммунитету, г. Рига, 15-17 декабря 1986. - М., 1986. - С. 126-127.

6. Король Т.С. Некоторые биохимические особенности устойчивости люцерны к люцерновой цветочной галлице // Тез. докл. VIII Всесоюзного совещания по иммунитету, г. Рига, 15-17 декабря 1986. - М., 1986. - С. 101-102.

7. Смелянец В.П., Вагис А.Г., Король Т.С. Формирование причинно-следственных гипотез на ЭВМ о свойствах иммунной системы люцерны к вредным организмам // Тез. докл. Всесоюзной конференции "Измерительная и вычислительная техника в управлении производственными процессами в АПК". - г. Ленинград, 14-18 ноября 1988. - Ленинград, 1988. - С. 356-358.

8. Король Т.С. Внутрипопуляционный отбор сортообразцов люцерны на устойчивость к люцерновой цветочной галлице по фенотипическим признакам // Тез. докл. Всесоюзного совещания "Методы отбора по комплексу признаков в селекции растений". - г. Симферополь, 26 - 28 сентября 1989. - Ялта, 1989. - С. 49-50.

9. Смелянец В.П., Шелихов А.Г., Король Т.С. Біологічні показники стійкості люцерни проти фітомоуса // Захист рослин. - Київ: Урожай, 1991. - N38. - С. 54-57.

10. Акимов Д.А., Фадеев Д.М., Смелянец В.П., Король Т.С. Состав и содержание сапонинов у сортов люцерны с различной устойчивостью к фитомому // Труды Государственного Никитского ботанического сада (у друці).

11. Korol T.S., Smelyanets V.P. Simulation modeling with information using of biochemical parameters of the Alfalfa's protection system presented with phenolcarboxylic acids and aminoacids // European Journal of Plant Pathology, XIII International Plant Protection Congress, The Hague - The Netherlands - 2-7 July 1995. - P. 216.

Ключові слова: люцерна, люцернова квіткова галлиця, фітомус, стійкість, біохімічні параметри, захисна система, імітаційні моделі, фенотипічні маркери.

А Н Н О Т А Ц И Я

Король Т. С. Механизмы устойчивости люцерны к люцерновой цветочной галице и фитоному.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.09 - энтомология. Национальный аграрный университет. Киев, 1995.

Показано, что популяции растений люцерны и вредителей взаимодействуют на уровне защитной и адаптивной систем через комплекс механизмов коадаптации.

Методами логического моделирования на ЭВМ получены причинно-следственные гипотезы взаимосвязи отдельных биохимических компонентов со степенью устойчивости люцерны к вредителям, свидетельствующие, что устойчивость люцерны к вредителям обуславливается комплексом факторов, представляющих собой образ защитной системы, а проявление устойчивости к конкретному вредителю зависит от количественного и качественного состава отдельных компонентов, входящих в этот образ.

Сформулированы имитационные модели защитных систем на основе теории образов, состоящие из трех уровней значимости: ядровые ситуации, фоновые компоненты 1-го порядка и фоновые компоненты 2-го порядка, что дает возможность представить защитную систему с принципиально новых позиций.

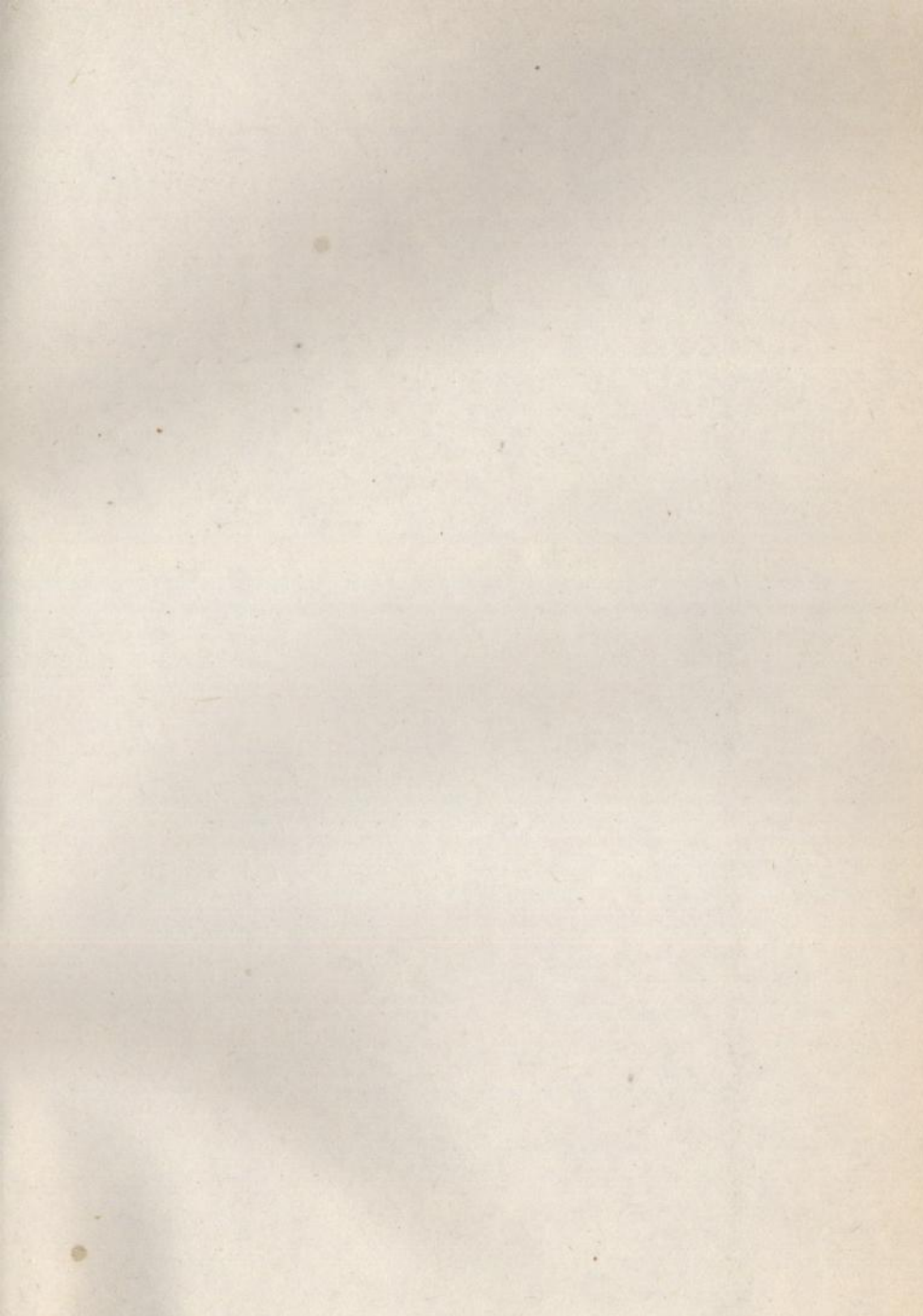
S U M M A R Y

Korol T.S. Mechanisms of alfalfa resistance to *Contarinia medicaginis* Kieff. and *Phytonomus variabilis* Hbst.

Studies of the biochemical factors and their protective functions have shown that the immune system is multicomponent and consists of parameters with different functional applicanse.

It has been formed the simulative model of protective system to the pest on the basis of the images theory.

The complicated terminal image of the protective system of resistant and nonresistant samples consists of parameters of three levels of significance - nucleus situations, background components of the 1-st and the 2-nd orders.



АВ 33.513

Подписано к печати 30.10.95 Формат 60x84, 1/16
Объем 1,0 печ.лист. Заказ № 118 Тираж 100

ОПТИМІД УкрНІМО