

ЗБУДНИКИ КІЛЬЦЕВОЇ ГНИЛІ КАРТОПЛІ В УМОВАХ ПОЛІССЯ УКРАЇНИ

*Доведено, що кільцева гниль – широко розповсюджене захворювання в зоні Полісся України. В патогенезі хвороби беруть участь різні за ступенем вірулентності штами бактерій, збудника *Corynebacterium sepedonicum*. Найбільшу патогенність мали штами 107, 92 л, 63 л, які доцільно використовувати для проведення оцінки вихідного і селекційного матеріалу картоплі на стійкість до цієї хвороби.*

Постановка проблеми

Кільцеву гниль картоплі викликають фітопатогенні бактерії *Corynebacterium sepedonicum*.

В Україні вона спричиняє значні збитки картоплярству. Шкідливість кільцевої гнилі щорічно зростає, особливо в системі насінництва. Це пов'язано із широким впровадженням механізації при вирощуванні, збиранні і післязбиральній доробці врожаю. Шкодочинність хвороби різко збільшується за рахунок числа травмованих бульб. В роки епіфітотії втрати врожаю можуть сягати до 30%.

Наразі розроблені методи щодо захисту картоплі від кільцевої гнилі, які включають профілактичні агротехнічні, фізичні та хімічні методи. Але при впровадженні у виробництво стійких до кільцевої гнилі сортів

з'являються нові штами збудника *Corynebacterium sepedonicum*, що ускладнює систему захисту картоплі від цього патогену. А тому названа проблема потребує вирішення.

Аналіз останніх результатів досліджень

Кільцева гниль нині поширена на всій території України, спричиняючи значні втрати врожаю в період вегетації картоплі та при зберіганні бульб.

У переважній більшості європейських країн ця хвороба є карантинним об'єктом [1, 12].

Особливо небезпечна кільцева гниль для науково-виробничих установ, що виробляють еліту картоплі, бо в сприятливі для її розвитку роки ця хвороба є основною причиною для випробування насінницьких посівів, районованих, перспективних та дефіцитних сортів [1, 2, 3, 6].

В умовах зберігання картоплі за високої температури і вологості повітря повністю гине від кільцевої гнилі близько 30% бульб, які в подальшому стають осередком для мокрої гнилі [4, 9].

Кільцева гниль викликається збудником *Corynebacterium sepedonicum*. Його бактерії – нерухомі палички розміром 0,6–1,4 x 0,4–0,6 мкм [7,10,11].

При взаємовідносинах рослини-господаря з патогеном бактерії від материнської бульби проникають в стебла і закупорюють провідну систему, після чого рослини в'януть і поступово гинуть. Із стебел через столони бактерії переходять у молоді бульби і спричиняють загнивання їх судинного кільця, а пізніше, – й паренхімної тканини [5, 8, 12].

Об'єкти і методика досліджень

При вивченні біологічних особливостей збудників бактріозів картоплі в умовах України ізолювання бактерій із ураженого матеріалу картоплі здійснювали методом фітопатологічної експертизи у вологих камерах з використанням мікробіологічного аналізу (Бельтюкова та ін., 1968). Хворі бульби і стебла розтирали в фарфоровій ступці до утворення однорідної маси, в яку додавали стерильну воду. Отриманий інокулят наносили петлею в чашки Петрі на картопляний агар. Крім того, в дослідках використовували метод накоплюючих культур (Беттхер, Науманн, 1987). Для отримання спороутворюючих бактерій частину ураженої тканини переносили в пробірки, заповнені 3 мл м'ясосептонного бульйону і витримували при температурі 80°C протягом 15 хвилин, а потім інкубували протягом однієї доби при 25°C.

Морфологічні і культуральні властивості бактерій та їх колоній вивчали під час росту на картопляному агарі, м'ясосептонному бульйоні, середовищах Омелянського, Кларка, 1987.

Забарвлення бактерій за Грамом проводили за методикою Клемента, де одночасно відмічали форму і величину клітини. Взаємне розміщення бактеріальних клітин та їх рухомість досліджували під світловим, а деякі –

електронним мікроскопом в однодобових культурах, вирощених на м'ясопептонному бульйоні.

Для виявлення у бактерій протеолітичних ферментів використовували білкові середовища, обезжирене молоко, м'ясопептонний бульйон. На желатині спостерігали його розрідження, а на молоці – зертання або пептонізацію, на м'ясопептонному бульйоні – здатність розкладання білка і пептону до летючих сполук – індолу, аміаку, сірководню.

Редукцію нітратів до нітритів виявляли за допомогою реактиву Грися, вирощуючи бактерії на м'ясопептонному бульйоні і вмістом 0,1% калійної селітри. Присутність амілази виявляли за окремими зонами просвітлення на картопляному агарі.

Протопектолітичну активність бактерій перевіряли в чашках Петрі нанесенням бактеріальної суспензії добової культури на шматочки тканини бульби схильного до ураження сорту Незабудка.

Оксидазну активність визначали нанесенням мазків бактерій культури на змочений 1%-вим розчином тетраметилпарафенілен-діамідегідрохлориду фільтрувальний папір. Утворення темно-пурпурового забарвлення бактеріальної маси протягом 10 сек. свідчило про позитивну реакцію даної ознаки.

Утворення редуруючих речовин із цукрози вивчали на рідкому середовищі (г/л) з пептону – 10, дріжджового екстракту – 5, цукрози – 40, в яке додавали 2 мл реактиву Бендикта і кип'ятили 10 хвилин на водяній бані. Поява оранжевого або червоного забарвлення середовища свідчило про утворення редуруючих речовин.

Результати досліджень

На першому етапі досліджень збудника *Corynebacterium sepedonicum* виділяли з хворих бульб партій картоплі, відібраних на базі обласних державних дослідних станцій державних сортовипробувальних станцій, та власників індивідуальних городніх ділянок в Житомирській, Рівненській, Волинській областях (таблиця 1).

Результати фітопатологічної експертизи свідчать, що найбільш поширеними збудниками хвороб на бульбах при зберіганні є *Corynebacterium sepedonicum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mesentericus*, *Fusarium solani*, *Phytophthora infestans*. Суттєвої різниці в проходженні патологічного процесу в залежності від місця відбору бульб картоплі в господарствах різних форм власності не спостерігалось.

При вивченні видового складу бактерій, виділених із уражених бульб картоплі кільцевою гниллю, весною, після зимового зберігання, нами виділені збудники: *Corynebacterium sepedonicum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mesentericus* (таблиця 2). У результаті проведення їх ідентифікацій на основі морфологічних і біохімічних тестів збудника *Corynebacterium sepedonicum* було виділено п'ять штамів із яких два мали високу вірулентність, або 40% від загальної кількості.

Таблиця 1. Збудники хвороб виділені з партій картоплі в різних пунктах відбору зони Полісся України (2000 – 2001рр)

Область	Пункт відбору бульб картоплі з ознаками кільцевої гнилі	Основні збудники хвороб, що виділені із бульб з ознаками кільцевої гнилі
Житомирська	Поліська дослідна станція ім. Засухіна (Малинський район)	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Bacillus mesentericus</i> , <i>Fusarium solani</i>
	індивідуальні присадибні городи	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Phytophthora infestans</i>
	дачні ділянки	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>
	Черняхівська держсорт-випробувальна станція	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus mesentericus</i>
	індивідуальні присадибні городи	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Bacillus mesentericus</i> , <i>Fusarium solani</i>
Рівненська	Рівненська обласна державна дослідна станція	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
	індивідуальні присадибні городи	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Bacillus mesentericus</i>
	дачні ділянки	<i>Cor. Sepedonicum</i>
	Сарненська державна сортовипробувальна станція	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Fusarium solani</i>
	індивідуальні присадибні городи	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Bacillus mesentericus</i> , <i>Fusarium solani</i>
	дачні ділянки	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Phytoftora infestans</i> , <i>Bacillus mesentericus</i>
Волинська	Волинська державна сортовипробувальна станція	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Bacillus mesentericus</i> , <i>Phytophthora infestans</i>
	індивідуальні присадибні городи	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Fusarium solani</i>
	дачні ділянки	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Bacillus mesentericus</i>
	Олицька державна сортовипробувальна станція	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Bacillus mesentericus</i> , <i>Fusarium solani</i>
	індивідуальні присадибні городи	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Fusarium solani</i>
	дачні ділянки	<i>Cor. sepedonicum</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Fusarium solani</i>

У збудника *Pseudomonas fluorescens* лише один штам мав сильну патогенність, а решта три – відповідно середню і слабку. У збудника

Bacillus mesentericus до групи слабкої, середньої і сильної патогенності було віднесено по одному штаму.

Дослідження щодо вивчення біологічних особливостей збудника *Corynebacterium sepedonicum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mesentericus*, виділених із уражених бульб картоплі після зимового зберігання на основі морфологічних, біохімічних і патогенних тестів здійснювали спільно з Інститутом мікробіології і вірусології ім. Заболотного.

Для виділення патогенів бактерій збудників спочатку відбирали хворі бульби, а в подальшому з них виділяли за методом Бельтюкової (1968) як бактерії *Corynebacterium sepedonicum*, так і *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mesentericus*.

В результаті проведення досліджень нами виділені штами, які ідентифіковані як збудники *Corynebacterium sepedonicum* 12лП, 38лП, 42л, 55, 68. Але не всі штами протягом трьох років досліджень зберегли свою патогенність. Зокрема 12лП, 42л з часом її втратили. Патогенними лишились штами 38лП, 55, 68. Саме з ними ми проводили свої подальші дослідження. Ці штами рекомендовані науково-дослідним установам для проведення цілеспрямованої селекційної роботи на стійкість до збудника кільцевої гнилі.

Таблиця 2. Видовий склад бактерій, виділених із уражених бульб картоплі кільцевою гниллю (1999–2001 рр.)

Збудники хвороб	Всього штамів	Ступінь патогенності					
		слабкий		середній		сильний	
		шт	%	шт	%	шт	%
<i>Cor. sepedonicum</i>	5	2	40	1	20	2	40
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4	1	25	2	50	1	25
<i>Bacillus mesentericus</i>	3	1	33,3	1	33,3	1	33,3

Відсутність війок і джгутиків свідчить про її нерухомість, тому передаватись вона може разом з субстратом, на якому знаходиться. За даними Положенця В. М. (Кучко А. А., Предко М. Н., Кононученко А. А. и др., 1989), бактерії кільцевої гнилі можуть передаватись через воду або ніж. Такий шлях передачі збудника кільцевої гнилі необхідно враховувати при закладці бульб картоплі на зберігання. Для цього бульби слід ретельно перебрати і видаляти пошкоджені, так як при їхньому контакті з хворими картоплинами відбувається перезараження, яке може досягти катастрофічних масштабів. Досліджуючи біологічні особливості відібраних штамів 38лП, 55, 68 було встановлено, що кожен з них навіть при незначному контакті зі здоровими бульбами викликає їх ураження, яке з часом

проявляється як кільцева гниль. Тому не слід допускати контактного способу передачі хвороби, особливо під час закладання бульб на зберігання.

Особливість біології збудника *Cor. sepedonicum* полягає в тому, що він забарвлюється за Граммом (грампозитивний), у той час як більшість бактерій інших видів – грамнегативні. На агаровому середовищі бактерії кільцевої гнилі об'єднуються в колонії округлої або видовженої форми. Колонії на поживному середовищі ростуть повільно і мають сірий колір.



Рис. 1. Бульби із симптомами кільцевої гнилі

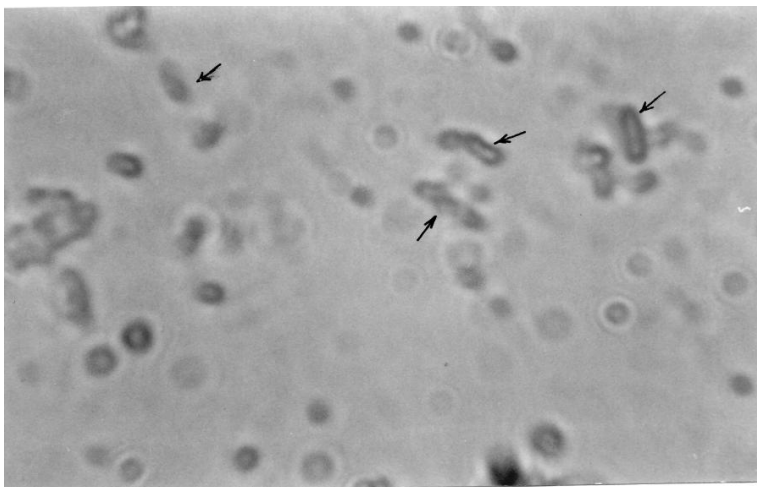


Рис. 2. Морфологічні та біохімічні ознаки бактерій *Cor. sepedonicum*

Таблиця 3. Морфологічні і біохімічні властивості патогенних штамів *Corynebacterium sepedonicum*, виділених із уражених бульб картоплі (1999–2001 рр.)

Властивості	<i>Corynebacterium sepedonicum</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Bacillus mesentericus</i>
Форма бактерій	паличковидна	паличковидна	паличковидна
Забарвлення за Грамом	+	-	-
Рухливість	-	+	4-
Колір колоній бактерій	молочний	сірий	сірий
Засвоєння: глюкози	+	-	-
-сорбіту	X	+	X
-мальтози	X	-	-
-інозиту	-	+	-
Розрідження желатину	X	-	+
Пептонізація молока	-	-	-
Зсідання молока	+	+	+
Утворення: сірководню	-	+	+
індолу	-	-	-
оксидази	-	-	+
Патогенність	-	-	+
флуоресціюючого, дикунду- ючого пігменту на МЛА, КА	-	+	-
Редукція нітратів	+	+	+
Ріст при 25 °С	+	+	+
Ріст при 30 °С	X	X	X

Примітка : „+” – наявність властивостей, „-” відсутність властивостей, „x” – слабкість ознаки, „m” – молочний колір

Висновки

1. Виділено високовірулентні штами бактерій збудника *Corynebacterium sepedonicum*, зокрема 12 лП, 38 лП, 42лП, 55лП, 68лП. Вони передані в наукові установи для використання в селекції картоплі на стійкість проти бактеріозу. Три штами роду *Corynebacterium* (107, 92 л, 63 лП) можуть служити за стандарти високого ступеня вірулентності.

2. При взаємодії рослин картоплі із збудниками бактеріальних хвороб відбуваються складні фізіолого-біохімічні процеси, які у нестійких до бактеріозів сортів знижують продуктивність, якість і смак бульб та інші їх цінні ознаки.

Перспективи досліджень. З метою створення вихідного матеріалу з відносною стійкістю до кільцевої гнилі для цілеспрямованої селекції картоплі на цю ознаку доцільно в подальшому формувати банк вірулентних штамів збудника *Corynebacterium sepedonicum*.

Література

1. *Белова О. Д.* Кольцевая гниль, чёрная ножка и меры борьбы с ними. – М.: Колос, 1964. – 116 с.
 2. *Воловик А. С., Капустин М. Н., Плетнева В. А.* Методы выявления скрытой инфекции кольцевой гнили с помощью стимуляторов //Сб. тр. НИИКХ МСХ РСФСР. – 1974. – Вып. 18. – С. 101–104.
 3. *Дунин М. С.* Кольцевая гниль картофеля: патогенез, диагностика, защитные мероприятия//Изв. ТСХА. – 1961. – Вып. 5. – С. 20–34.
 4. *Кукин В. Ф.* Пути инфекционного цикла развития кольцевой гнили и обоснования мер борьбы: автореф. дис....канд. биол. наук. – М., 1999. – 18с.
 5. *Кучко А. А., Предко М. Н., Кононученко А. А.* Изменчивость признака устойчивости исходного материала картофеля, полученного методами клеточной инженерии к мокрой гнили// Селекционно-генетические, физиолого-биохимические и технологические аспекты интенсификации производства картофеля: Тез. докл. науч. произв. совещ. – Уфа, 1989. – С. 24–25.
 6. *Мусаев Ш. М.* Изучение биологии возбудителя кольцевой гнили картофеля (*Colonybacterium sepedonicum*): Автореф. дис....канд. биол. наук. – М., 1964. – 17 с.
 7. *Положенец В. М.* Передача бактериальной инфекции кольцевой гнили и черной ножки в процессе резки картофеля// Науч. тр. НИИКХ – М., 1976. – Вып. 25. – С. 120–123.
 8. *Положенец В. М.* Изучение возможности передачи инфекционного начала кольцевой гнили картофеля через генеративне органы// Тез. докл. Всесоюз. Конф. по бактериальным болезням. – Львов, 1990. – Ч. 2. – С. 68–69.
 9. *Рожалин Л. В.* Влияние питания и сорта картофеля на устойчивость к кольцевой гнили// Сб. тр. науч.-исслед. ин-та картофельного хозяйства. – 1935. – Вып. 4. – С. 51-61.
 10. *Типограф Д. Я.* Этиология и диагностика кольцевой гнили картофеля: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. – М., 1951. – 17 с.
 11. *Янович В. И.* Особенности биологии возбудителей кольцевой гнили картофеля (сog. *sepedonicum*) и меры борьбы с ней в условиях Белоруссии: Автореф. дис... канд. биол. наук. – Минск, 1971. – 15 с.
 12. *Carpllini B.* The effect of antibacterial products on bacterial soft rot of potatoes.// Potato res., 1962, Vol. 24, No. 3. – P. 315–329.
-
-