

НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ІВАЩЕНКО Ірина Вікторівна

ВИДІЛЕННЯ СТІЙКИХ ФОРМ КАРТОПЛІ
ПРОТИ ГНИЛЕЙ БУЛЬБ

03.00.21 - Фітопатологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук

Київ - 1995

Дисертацією є рукопис
Робота виконана в Державній агроекологічній академії України
в 1991-1993рр.

Науковий керівник : доктор сільськогосподарських наук,
професор Положенець В.М.

Офіційні опоненти : доктор біологічних наук,
професор Гвоздяк Р.І.
кандидат біологічних наук
Марков І.Л.

Провідна установа: Інститут захисту рослин УААН

Захист дисертації відбудеться "12" ~~листопада~~ 1995 р. о 12 год.
на засіданні спеціалізованої ради Д 01.05.13 в Національному
аграрному університеті за адресою:

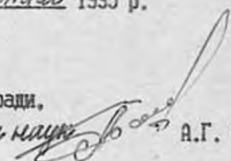
252041, Київ-41, вул.Героїв оборони,15, учбовий корпус 3
аудиторія 68

Просимо взяти участь в обговоренні дисертації при її захисті або
надіслати відгук на автореферат у 2-х примірниках, засвідчених
печатком, за адресою:

252041, Київ-41, вул.Героїв оборони,15,
сектор захисту дисертацій.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Національного
аграрного університету.

Автореферат відправлено "9" ~~листопада~~ 1995 р.

Вчений секретар спеціалізованої ради,
кандидат *сільськогосподарських наук*  А.Г. Бабич

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ. Велику шкоду картопларству наносять гнилі бульб бактеріального та грибового походження, втрати урожаю від яких в окремі роки досягають 30-50% (Дорожжєн и др., 1989). Одним з радикальних методів захисту культурних рослин від інфекційних хвороб є виведення стійких сортів (Вавілов, 1964; Осипчук, 1993).

Серед сортів вітчизняної та зарубіжної селекції виявлена незначна їх кількість з відносною стійкістю проти мокрої та сухої гнилей, які змогли б бути використані за вихідний матеріал в селекції картоплі (Вітенко та Іван., 1988; Коваль, 1983).

В Україні протягом тривалого часу в більшості наукових установ селекційна робота на стійкість проти збудників хвороб, що викликають гнилі бульб, майже не проводилась, а при районюванні сортів цю ознаку не завжди брали до уваги, що і привело до поширення в країні сортів, схильних до ураження гнилями (Положенець, 1994). У зв'язку з цим перед селекційними центрами України стоїть завдання проведення цілеспрямованої селекції картоплі на стійкість проти гнилей. Для цього необхідно здійснити широкий пошук по виділенню резистентних форм серед вихідного та селекційного матеріалу картоплі на основі застосування експрес-методів їх оцінки з врахуванням складних фізіолого-біохімічних взаємовідносин в системі рослина-господар-паразит, з використанням вірулентних штамів.

Одним з актуальних напрямків в селекції картоплі на стійкість проти інфекційних хвороб є впровадження методів біотехнології, а саме культури клітин і тканин. Застосування техніки тканинного та клітинного відборів в умовах *in vitro* при використанні патотоксинів і культуральних фільтратів збудників як селективних факторів дозволить цілеспрямованіше і ефективніше отримувати стійкі генотипи картоплі (Хромова и др., 1983; Маруненко, Кучко и др., 1988; Вейнк, 1979, 1980). Ця проблематика цілком підтверджує актуальність роботи.

МЕТА І ЗАВДАННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ. Метою даної роботи було виділення відносно стійких генотипів картоплі проти гнилей бульб на основі біотехнологічних методів і способів традиційної селекції та визначення біохімічних факторів, що обумовлюють стійкість сортів проти мокрої гнилі.

Програмою дисертаційної роботи передбачалось:

- виділення збудників мокрої бактеріальної та сухої фузаріозної гнилей. Їх ідентифікація;
- вивчення вмісту відновлюючих цукрів, поліфенолів, активності окисно-відновних ферментів (поліфенолоксидази, пероксидази) в здорових і заражених мокрою гниллю бульбах картоплі сортів різної стійкості;
- біотехнологічними методами на основі відбору резистентних калусних ліній в умовах *in vitro* отримати відносно стійкі лінії картоплі проти культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum*;
- виділити стійкі сіяні картоплі проти збудників мокрої бактеріальної та сухої фузаріозної гнилей з індукт-ліній від резистентних батьківських форм.

НАУКОВА НОВИЗНА. Внаслідок вивчення біологічних особливостей збудників хвороб, що викликають мокру бактеріальну і суху фузаріозну гнилі бульб, виділені вірулентні штами *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones 1901) Bergey, Harrison, Breed, Hammer and Huntton 1923, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (van Hall 1902) Dye 1969, *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan 1889) Migula 1895, *Bacillus subtilis* (Erenberg) Cohn 1872, *Fusarium oxysporum*, Schlecht. emend. Snyd et Hans, *Fusarium solani* (Mart.) App. et Nr. var. *solani*, які передано в селекційний центр картоплі України для проведення цілеспрямованої селекції на стійкість проти гнилей.

Отримані нові експериментальні дані про вплив фенольних сполук, відновлюючих цукрів, окисно-відновних ферментів (поліфенолоксидази, пероксидази) на стійкість бульб картоплі проти мокрої бактеріальної гнилі.

Вперше в Україні на основі біотехнологічних методів розроблена селективна система в умовах *in vitro* для виділення генотипів картоплі, резистентних проти збудника *Fusarium oxysporum*, отримані відносно стійкі лінії картоплі сорту Зареве.

Шляхом інбридингу виділені сіяні картоплі з індукт-популяцій від резистентних батьківських форм з відносною стійкістю проти мокрої бактеріальної та сухої фузаріозної гнилей.

ПРАКТИЧНА ЦІННІСТЬ РОБОТИ. В результаті проведених досліджень створено колекцію вірулентних штамів родів *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Fusarium*, які використовуються в наукових установах України для цілеспрямованої селекції картоплі на стійкість проти гнилей бульб.

Отримані вихідні форми картоплі з відносною стійкістю проти мокрої і сухої гнилей бульб і передані в Інститут картоплярства УРАН для гібридизації при цілеспрямованій селекції на цю ознаку.

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ. Матеріали дисертації заслухувалися на: Вчених радах Житомирського сільськогосподарського Інституту 1991-1993 рр., Науково-практичному семінарі спеціалістів елітних господарств з первинного насінництва та біотехнології картоплі України 1993 р. (м. Житомир).

ПУБЛІКАЦІЇ. З теми дисертації опубліковано 4 наукові роботи.

ОБ'ЄМ І СТРУКТУРА ДИСЕРТАЦІЇ.

Дисертація викладена на 122 сторінках машинописного тексту, складається із вступу, огляду літератури, трьох розділів експериментальної частини, обговорення, висновків, практичних рекомендацій; вище 23 таблиці, 18 малюнків.

Список використаної літератури включає 244 назви, в тому числі 141 іноземною мовою.

На захист дисертації винесені такі основні питання:

- виділення збудників мокрої бактеріальної та сухої фузаріозної гнилей бульб картоплі;
- біохімічні фактори стійкості картоплі проти збудників мокрої гнилі;
- отримання біотехнологічними методами відносно стійких ліній картоплі проти культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum*;
- виділення стійких сіяців картоплі проти збудників мокрої бактеріальної і сухої фузаріозної гнилей з індукт-ліній від резистентних батьківських форм.

ОСОБИСТА УЧАСТЬ АВТОРА В ОДЕРЖАННІ НАУКОВИХ РЕЗУЛЬТАТІВ. Участь автора полягала в постановці завдань експериментів і визначенні шляхів їх вирішення, особистій участі в проведенні досліджень, аналізі отриманих результатів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ. Дослідження проводили протягом 1991-1993 років на кафедрі селекції та насінництва польових культур Державної агрокологічної академії України, в лабораторії біохімії і біотехнології Інституту зрощуваного садівництва.

Матеріалом для виділення вірулентних штабів мікроорганізмів правили зразки бульб картоплі, уражені змішаними гнилями, відібрані в зоні Полісся України. Виділено 798 ізолятів бактерій, з яких для детального вивчення відібрано 22 вірулентних штаби. Для порівняльного вивчення використовували колекційні штаби родів *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Bacillus*, отримані у відділі фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології та вірусології НАН України.

Біохімічні фактори стійкості визначали в здорових і заражених морков гниль бульб картоплі сортів з різним ступенем стійкості проти захворювання: Незабудка, Каскад Поліський - нестійкі; Луговська, Зов - середньостійкі; Світанок київський, Гатчинська - відносно стійкі.

Відносно стійкі проти сухої фузаріозної гнилі генотипи отримували на основі селекції калусної культури, ініційованої з пробіркових рослин картоплі сорту Зарево, вирощених *in vitro*. В роботі використані штучні поживні середовища для калусогенезу, регенерації, вирощування рослин картоплі *in vitro*, розроблені Інститутом картоплярства УААН (Марченко, Кучко, Олейник, 1991). Збудник *Fusarium oxysporum* культивували на рідкому середовищі Чапена при оптимальних умовах (Теплер и др., 1987).

Виділення резистентних форм картоплі проти мокрої бактеріальної та сухої фузаріозної гнилей бульб проводили серед потомства міжвидових гібридів 77583/16, 938С/70 та сорту Березина на основі методу інбридингу. Оцінку потомства від кожного генотипу на стійкість до висезаних патогенів здійснювали за методиками Інституту картоплярства УААН (Положенець, Оситчук, 1988; Коваль, 1983), використовуючи виділені нами патогенні штами.

Патогенні, морфологічні, культуральні, фізіологічні властивості бактерій вивчали загальноприйнятими в фітопатології методами (Бельтикова и др., 1968; Кучеренко, 1969; Kovacs, 1956; Fuch, 1956; Ceska, 1971 та інші.). Ідентифікації бактерій проводили шляхом порівняння встановлених нами властивостей виділених ізолятів та колекційних з описаними в оригінальних роботах та визначнику Bergey's Man (1984, 1986).

Збудників сухої фузаріозної гнилі виділяли за методикою Білай В.І. (1977).

Активність ферменту поліфенолоксидази в бульбах картоплі визначали титрометричним методом, пероксидази - фотоколориметриєм (Починок, 1965), вміст відновлюючих цукрів - по Бертрану (Ермаков, 1972). Дослідження якісного складу сполук фенольної природи проводили двоімірною паперовою хроматографією згідно методики Зейкеля М.К. (1968), кількісний вміст фенольних сполук - спектрофотометричним методом, описаним Бленда В.П. (1985). Штучне зараження бульб здійснювали виділеними нами сильнопатогенними штамами бактерій *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* і *E.c.subsp. atroseptica* за методикою Інституту картоплярства УААН (Положенець, Оситчук, 1988).

Виділення стійких форм картоплі проти *Fusarium oxysporum* проводили на основі селекції калусної культури листкового походження, яку культивували протя-

гом 5-ти місяців за методикою Інституту картоплярства УААН (Маруненко, 1991). Інфекційний фон створювали шляхом введення в поживне середовище фільтрату культуральної рідини гриба *Fusarium oxysporum* в сублетальній концентрації.

Для виділення стійких калусних експлантатів застосовували переривний метод відбору (Chawla, Mense, 1987). Тестування регенерантів на стійкість проти культурального фільтрату проводили згідно з роботою Benk M. (1980).

Математичну обробку отриманих даних лабораторних досліджень здійснювали методом дисперсійного аналізу (Доспехов, 1985):

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

1. Біологічні особливості збудників хвороб, які викликають мокру бактеріальну та суху фузаріозну гнилі бульб картоплі.

На основі вивчення патогенних, культуральних, морфологічних, біохімічних властивостей бактерій, що викликають мокру гниль картоплі в зоні Полісся України, ідентифіковано такі збудники: *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* (*mesentericus*) (табл. 1).

Окремі штами роду *Erwinia* сильноагресивні, зберігають цю властивість до теперішнього часу (більше двох років): ЗлII, ЗблII, Іо, 92л, 63л, ЗблIIа. При штучному зараженні ними пластирів картоплі через 24 години спостерігалась чітка мацерация тканини.

Ряд сапрофітних і напіксапрофітних мікроорганізмів родів *Pseudomonas* і *Bacillus* можуть також викликати при певних умовах мацерацию тканин і виникнення мокрих гнилей.

Нами ідентифіковано 9 штамів *Ps. fluorescens*, які викликають в більшості випадків тверді гнилі бульб, але вірулентні ізоляти мають протопектинази, що мацерують рослинні тканини.

Збудники *Ps. fluorescens* і *Bac. subtilis* (*mesentericus*) - слабопатогенні, проте виділений нами сильнопатогенний штам *Ps. fluorescens* - 25лII не втратив агресивності протягом двох років. Біохімічні властивості виділених штамів узгоджуються з визначником Bergey's Man.

Табл. 1. Біохімічні властивості вірулентних штамів, виділених з бульб картоплі, уражених макром гниллю

Диференційні тести	: <i>Erwinia carotovora</i> subsp.: <i>Pseudomonas</i> : _____ : <i>fluorescens</i> : <i>carotovora</i> : <i>atroseptica</i> : (9 шт) : (8 шт) : (5 шт) :			
	1	2	3	4
Засвоєння як джерело вуглець:				
глікози аеробно	+		+	+
глікози анаеробно	+		+	-
лактози	+		+	+
сахарози	+		+	X
трегалози	+		+	
маніту	X		X	+
дурьциту	X		X	X
адоніту	X		-	X
сорбіту	X		X	+
мальтози	+		+	+
інозиту	X		X	+
Розріднення желатину	X		X	
Молока:				
пептонізація	-		-	+
зсідання	+		+	-
Утворення:				
сірководню	X		X	-
індолу	-		-	-
оксидази	-		-	+
левану				-
Редуція нітратів	+		+	-
Утворення флуоресцируючого дифунду- ючого пігмента на МПБ, КА				
	-		-	+
Забарвлення за Грамом				
	-		-	-
Колір колоній				
	c		c	c
Рухливість				
	+		+	+

Продовження табл.1

1	:	2	:	3	:	4
Вірулентність на картоплі		+		+		+
Ріст при 36°C		+		-		
Ріст при 42°C						-

ПРИМІТКИ : " + " - наявність або " - " - відсутність властивості;
 " x " - варіабельність властивості; " с " - сірий колір;
 " " - дані відсутні.

Найвищу пектолitiчну активність виявили такі штами: 3лII, 36лII, 10, 92л, 63л, 36лIIa, 25лII. Вони викликали через 24 год 80-100% мацерації пластирів бульб картоплі сортів Незабудка, Каскад поліський, Зов, Луго夫ська, Гатчинська, Світанок київський, Пролісок, Зарев, Гарт, Ромашка, Символ, Питомирська, Бородянська рожева.

При аналізі зразків бульб картоплі з ознаками захворювання сухою гниллю нами також виділені та ідентифіковані патогенні штами *Fusarium oxysporum* (25л, 4к, 12ч) і *Fusarium solani* (32о, 17н, 22о). Вони викликають типові симптоми сухої фузаріозної гнилі при штучному зараженні бульб картоплі. Визначення їх здатності до токсинотворення показало, що фільтрати усіх досліджуваних культур мають фітотоксичну активність по відношенню до рослин картоплі, вирощених *in vitro*. Культуральні фільтрати цих патогенів викликають мацерацію тканин здорових бульб, що свідчить про наявність активних пектиназ. Патогенні штами *F.oxysporum* і *F.solani* використовували для виділення стійких форм картоплі методами біотехнології та інбридингу.

2. Біохімічні фактори стійкості сортозразків картоплі проти мокрої гнилі

При дослідженні сполук фенольної природи бульб картоплі сортів різної стійкості проти мокрої гнилі ідентифіковано серед флавонолів - кверцетин-3-рамнозид, серед катехінів - (+)-катехін, з оксикоричних кислот - 5-о-кофеїлхіну кислоту. Локалізуються вони переважно в перидермі, де їх було в 33 рази більше, ніж у паренхімі: 1262 мг% (на масу сирої речовини) і 38 мг% відповідно.

Вміст фенольних сполук в перидермі і паренхімі залежить від сорту картоплі і пов'язаний із ступенем його стійкості проти гнилі. Так, у нестійких сортів: Незабудка, Каскад поліський сума фенольних сполук перидерми становить 1100 і 1042 мг%, у відносно стійких: Світанок київський, Гатчинська-1452 і 1400 мг%, середньостійких: Луговська, Зов-1330 і 1250 мг% відповідно. Така ж закономірність спостерігається з індивідуальними сполуками: флавонолами, оксиморичіновими кислотами, катехінами. Аналогічна залежність виявлена і в паренхімі.

У процесі зберігання картоплі концентрація фенольних сполук (в першу чергу катехінів) зростає: у відносно резистентних сортів - на 3-6%, у чутливих до захворювання - на 56-58%. Зв'язок між стійкістю бульб проти мокрої гнилі і вмістом в них фенольних сполук спостерігається в період спокою (жовтень): у відносно стійких сортів цих сполук більше на 22,8%, ніж у чутливих до гнилі (Мал. 1)

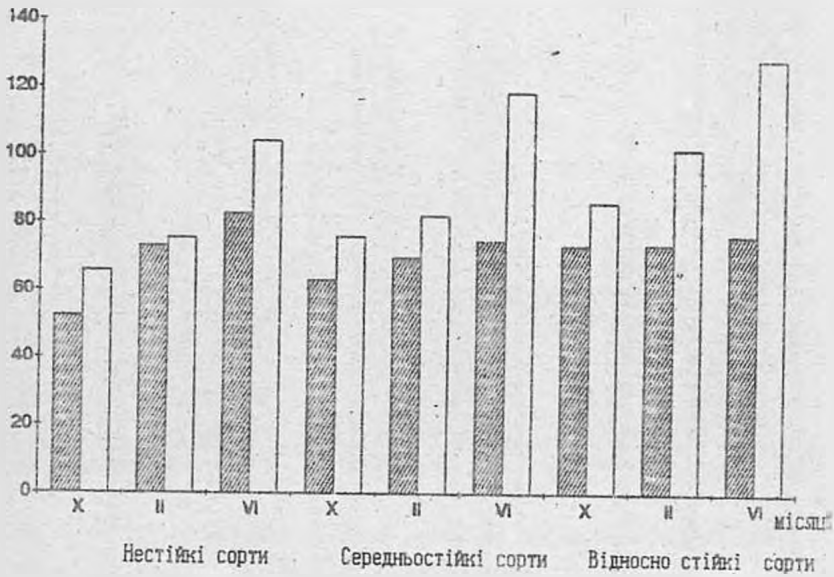
В заражених мокрою гниллю бульбах відбувається підвищення вмісту фенольних сполук, але неоднаково у сортів різного ступеня стійкості: у відносно резистентних - на 43%, у нестійких - на 18%. В заражених бульбах відносно стійких сортів в осінній, зимовий і весняно-літній періоди зберігання картоплі фенольних сполук більше, ніж у середньостійких і нестійких сортів (Мал. 1).

Активність ферменту поліфенолоксидази, пов'язаної з окисненням фенольних сполук, також значно нижча в бульбах нестійкого сорту (Каскад поліський - 28,35 од.), ніж у середньостійких (Зов - 77,32 од., Луговська - 52,86 од.) і відносно резистентних (Світанок київський - 70,52 од., Гатчинська - 82,67 од.). Така закономірність спостерігається в різні періоди зберігання бульб (Мал. 2), але найбільш чітка різниця між сортами за рівнем активності ферменту відмічена восени.

Певної залежності між активністю пероксидази в здорових бульбах картоплі та резистентністю сортів встановити не вдалось. В заражених мокрою гниллю бульбах відбувається підвищення активності пероксидази тільки у відносно стійких і середньостійких сортів. Такі ж зміни спостерігаються в активності поліфенолоксидази у весняно-літній період.

Дослідження вмісту відновлених цукрів в бульбах картоплі сортів різних за стійкістю проти мокрої гнилі показали, що існує зв'язок між концентрацією цих сполук і ступенем резистентності сортів. Так, за період зберігання картоплі моноцукрів значно менше в бульбах відносно стійких сортів (Гатчинська - 0,18%; Світанок київський - 0,21%), ніж у середньостійких (Зов - 0,29%; Луговська - 0,28%), і особливо нестійкого сорту (Каскад поліський - 0,6%). Така закономірність спостерігається в осінній, зимовий і весняно-літній періоди зберігання картоплі (Мал. 3).

Кількість фенольних
сполук (мг %)

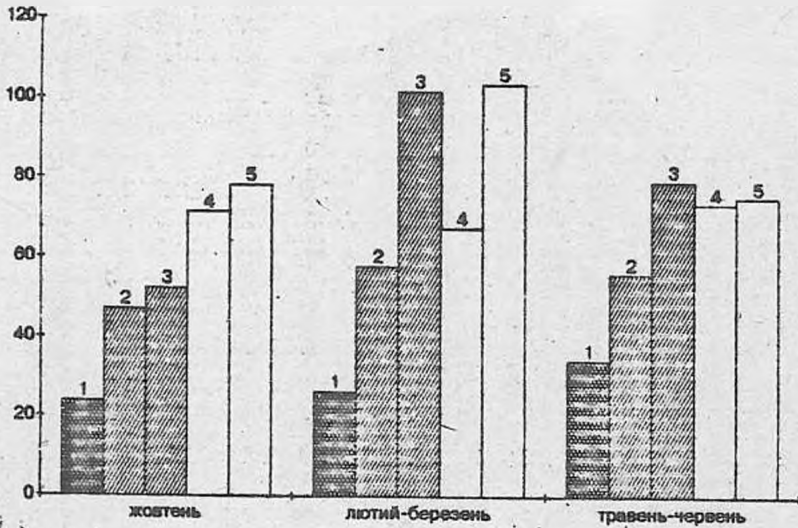


Мал.1. Динаміка вмісту фенольних сполук в здорових та заражених мокрою гниллю бульбах картоплі сортів різного ступеня стійкості за період зберігання (1991-1993 рр.).

[//////] Здорові

[] Заражені мокрою гниллю

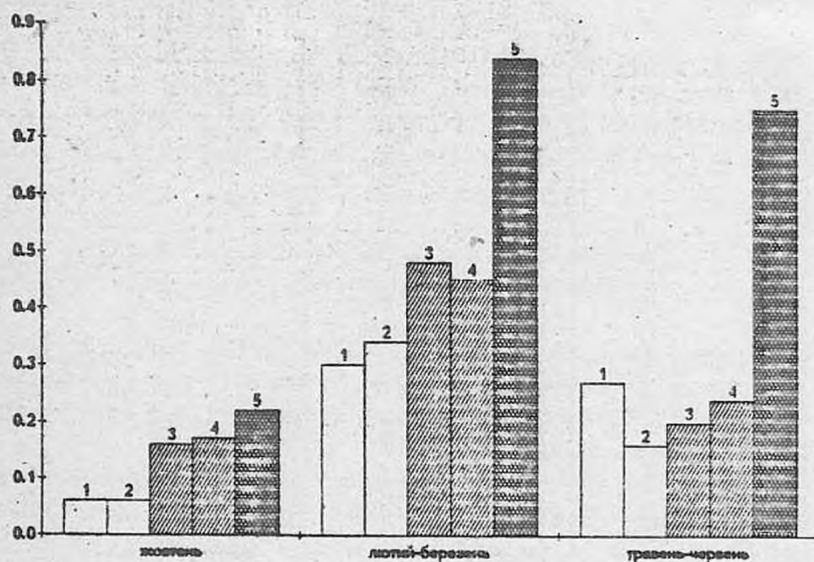
Активність
поліфенолоксидази
(од.)



Мал.2. Динаміка активності поліфенолоксидази в бульбах картоплі сортів різного ступеня стійкості проти мокрої гнилі за період зберігання (1991-1993 рр.)

- | | | |
|---------|------------------------|--|
| [хорош] | Нестійкий сорт : | 1. Каскад поліський |
| [////] | Середньостійкі сорти: | 2. Луговська
3. Зов |
| [] | Відносно стійкі сорти: | 4. Світанок київський
5. Гатчинська |

Кількість
відновливчих цукрів (%)



Мал.3. Динаміка вмісту відновливчих цукрів в бульбах
картоплі при зберіганні (1991-1993 рр.)

- | | | |
|---------|------------------------|-----------------------|
| [] | Відносно стійкі сорти: | 1. Світанок київський |
| | | 2. Гатчинська |
| [/////] | Середньостійкі сорти: | 3. Луговська |
| | | 4. Зов |
| [xxxxx] | Нестійкий сорт : | 5. Каскад поліський |

Таким чином, у відносно стійких проти мокрої гнилі сортів картоплі в порівнянні з нестійкими виявлені вища в 2,7 рази активність поліфенолоксидази, менший в 3 рази вміст відновлюючих цукрів, в осінній період більша на 28.8% концентрація фенольних сполук.

В заражених мокрою гниллю бульбах відносно стійких сортів (в період зберігання), на відміну від нестійких відбувається зростання активності пероксидази, поліфенолоксидази (у весняний період), значне підвищення синтезу фенольних сполук.

Вивчення причин стійкості генотипів дозволить розробити ефективні методи оцінки вихідного та селекційного матеріалу картоплі на стійкість проти захворювання.

3. Виділення стійких форм картоплі проти культурального фільтрату гриба *Fusarium oxysporum*

В результаті відбору резистентних калусних ліній в умовах *in vitro*, скомбінованого з соматональною мінливістю, отримали дві лінії картоплі сорту Зареве з вищим ступенем стійкості проти культурального фільтрату *Fusarium oxysporum*, ніж вихідна форма.

Введення селективного фактора в середовище дозволило зробити пошук позитивних відхилень генотипу більш цілеспрямованим. Ефективність селекції калусної культури в значній мірі залежала від вибраної сублетальної концентрації фільтрату гриба - 30-35 мг/л. Цей діапазон концентрацій слугує "селективним ситом" для відбору з вихідної популяції тих ліній, які за рахунок соматональної мінливості набули вищого ступеня стійкості проти стресового фактора. В першому циклі при культивуванні в присутності токсинів гриба з 1800 калусів життєздатними залишились 23 (1,3%), частина з яких загинула при повторних пасажі на селективних середовищах в II і IV циклах (табл. 2).

Після проведення повної тканинної селекції виділено 9 стійких калусних ліній сорту Зареве, серед яких здатних до регенерації було лише дві. Тестування отриманих регенерантів на стійкість проти культурального фільтрату *Fusarium oxysporum* показало, що вони мали вищий ступінь стійкості, ніж контрольні рослини. Проте абсолютно імунних форм не виявлено. Стійкість регенованих рослин в основному корелювала з резистентністю калусу, але не у всіх випадках. Це пояснюється тим, що крім соматональної варіабельності, пов'язаної із спадковою перебудовою геному, є фенотипічні зміни, що позначаються як "епігенетичні", які можуть стабільно передаватись дочірнім клітинам, але не проявлятися в регенованих рослинах або їх статевому потомстві (Binns, Meins, 1973).

Отримані нами відносно стійкі регенеранти не загубили ознаки стійкості і після повторної їх дезінтеграції на калусні агрегати з послідовною регенерацією на рівень рослин, що свідчить про генетичний характер отриманої соматодональної мінливості.

Введення в селективну систему калусних культур інших сортів картоплі (Гатчинська, Незабудка) показало, що для кожної з них необхідно індивідуально підбирати сублетальну концентрацію фільтрату. Так, для сорту Гатчинська ця доза становила 40–45 мг/л, для сорту Незабудка вона була значно меншою – 20 мг/л.

Табл. 2. Відбір калусних ліній картоплі, стійких проти культурального фільтрату *Fusarium oxysporum* (сорт Зареві)

Проаналізовано калусів	: Номер пасажу	: Концентрація селективного фактора, мг/л	: Число стійких ліній
1	2	3	4
1800	1	30	23
	2	35	18
	3	0	18
	4	35	9

Таким чином, розроблена на основі біотехнологічних методів селективна система для калусної культури картоплі при застосуванні як селективного фактора культурального фільтрату 10–14 денної культури гриба *Fusarium oxysporum*, вищого на рідкому середовищі Чапена при оптимальних умовах, в сублетальній концентрації (від 20 до 45 мг/л і вище) може бути використана для отримання відносно стійких форм картоплі проти цього збудника.

4. Отримання сіянців картоплі, стійких проти гнилей, при використанні інбридингу

Результати досліджень по виділенні стійких форм на основі інбридингу свідчать про різноманітність генеративного потомства за стійкістю проти мокрої і сухої фузаріозної гнилей (табл.3,4): у алогамних видів кожен генотип гетерозиготний і просте самозапилення призводить до розщеплення його потомства.

Табл. 3. Стійкість сіянців картоплі проти мокрої гнилі, отриманих від індухт-популяцій (1991-1992 рр.)

№ п/п:	Вихідна форма	Походження	Стійкість : вихідної форми, бал	Кількість : сіянців, шт.	Середній : оцінених, бал	Коливан- : ня стій- : кості по- : томства	Форм з : балом : стійкості	7-8	шт. : %
1.	938 С/70	мішвидовий гібрид	6-7	150	5,2±0,19	8-1	32	21,8	
2.	77583/16	мішвидовий гібрид	6-7	130	5,6±0,18	8-1	38	29,2	
3.	Берегиня		3-4	140	3,7±0,11	7-1	15	10,7	

Табл. 4. Стійкість сіянців картоплі проти сухої фузаріозної гнилі, отриманих від індухт-популяцій (1991-1992 рр.)

№ п/п:	Вихідна форма	Походження	Стійкість : вихідної форми, бал	Кількість : сіянців, шт.	Середній : оцінених, бал	Коливан- : ня стій- : кості по- : томства	Форм з : балом : стійкості	7-8	шт. : %
1.	938 С/70	мішвидовий гібрид	7-8	150	6,3±0,20	8-2	43	28,6	
2.	77583/16	мішвидовий гібрид	6-7	130	4,5±0,16	8-1	32	24,6	
3.	Берегиня		6-5	140	4,2±0,15	7-1	12	8,5	

Найбільше число резистентних форм як проти мокрої, так і сухої гнилей отримано від індукт-ліній міжвидових гібридів 938 С/70, 77583/16, які характеризуються підвищеною стійкістю проти вказаних патогенів, значно менше - від сорту Берегinya, сприйнятливою до гнилей.

Найбільша вірегідність отримання стійких генотипів може бути при використанні індукт-ліній батьківських форм, резистентних проти захворювання. Виділені генотипи мають вищий ступінь стійкості (7-8 балів), ніж вихідні (5-6 балів).

Тільки дві форми, отримані з індукт-ліній гібридів 938 С/70 і 77583/16 були відносно стійкими як проти мокрої, так і сухої гнилей. Виділені форми доцільно використовувати як вихідний матеріал в селекції картоплі на стійкість проти гнилей. Ці сіянці, крім високої стійкості до збудників гнилей, характеризуються комплексом інших господарсько-цінних ознак.

В И С Н О В К И

1. В результаті вивчення біологічних особливостей бактерій та грибів, які викликають гнилі бульб картоплі в зоні Полісся України, ідентифіковані такі збудники: *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*.

2. Виділені сильнопатогенні штами *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* - 3лII, 36лII, 63л, 36лIIa, 92л; *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* - 1о; *Pseudomonas fluorescens* - 25лII, *Fusarium oxysporum* - 25а, 4а, 12а; *Fusarium solani* - 32о, 17а, 22о.

3. В період зберігання бульб у відносно стійких проти мокрої гнилі сортів картоплі Світанок київський, Гатчинська, в порівнянні з нестійкими - Незабудка, Каскад поліський, виявлені вище в 2,7 рази активність поліфенолоксидази, меншій в 3 рази вміст відновлюючих цукрів, більша на 28,8% концентрація фенольних сполук (в осінній період). Ці біохімічні показники можуть бути опосередкованим критерієм оцінки вихідного та селекційного матеріалу картоплі на стійкість проти мокрої гнилі.

4. При зберіганні бульб у відносно стійких проти мокрої гнилі сортів Світанок київський і Гатчинська вміст фенольних сполук зростає незначно - на 3-6% а у сприйнятливих до захворювання - Незабудка, Каскад поліський - на 56%-58%.

Динаміка цих сполук може бути одним з показників стійкості сортів картоплі проти мокрої гнилі.

5. При штучному зараженні мокрою гниллю бульб картоплі (в період їх зберігання) у відносно стійких сортів, на відміну від нестійких, відбувається підвищення активності пероксидази, поліфенолоксидази (у весняний період), значне збільшення вмісту фенольних сполук (на 43%).

6. На основі біотехнологічних методів розроблена селективна система для отримання відносно стійких генотипів картоплі проти збудника *Fusarium oxysporum*, яка включає поетапну селекцію калусної культури на поживному середовищі з фактором стресу: культуральним фільтратом 10-14-денної культури гриба *Fusarium oxysporum*, вирошеного на рідкому середовищі Чапена при оптимальних умовах, в сублетальній концентрації (від 20 до 45 мг/л і вище), яка встановлюється індивідуально для кожного генотипа.

7. При розробці біотехнології отримання стійких форм картоплі проти сухої гнилі отримано дві лінії картоплі сорту Зареве з відносною стійкістю проти культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum*.

8. Встановлено, що використання методу інбридингу дозволяє отримати відносно стійкі проти гнилей бульб генотипи картоплі з комплексом господарсько-цінних ознак.

9. Методом інбридингу виділено два відносно стійких сіянці картоплі проти мокрої та сухої фузаріозної гнилей бульб з індукт-ліній від резистентних батьківських форм.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В науково-дослідних установах з селекції картоплі використовувати сильнопатогенні штами *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (3л11, 3б111, 63л, 3б11а, 92л), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (1о), *Pseudomonas fluorescens* (25л11), *Fusarium oxysporum* (25н, 4н, 124); *Fusarium solani* (32о, 17н, 22о) для виявлення стійкого проти гнилей селекційного матеріалу. Виділені штами передані в селекційний центр картоплі України.

2. Отримані генотипи картоплі в результаті інбридингу та на основі біотехнологічної селекції з відносною стійкістю проти гнилей бульб доцільно використовувати як вихідний матеріал в науково-дослідних установах з селекції картоплі. Виділені генотипи передані в Інститут картоплярства УАН.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ З ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Положенец В.М., Іващенко І.В. Содержание редуцирующих сахаров у сортов картофеля, в разной степени устойчивых к мокрой гнили // Селекция и семеноводство.-1993.-№4.-С.29.

2. Іващенко І.В. Вивчення збудників хвороб, які викликають гнилі бульб картоплі //Картоплярство.-1994.-Вип.25.-С.96-98.

3. Бленда В.П., Осипчук А.А., Положенец В.М., Іващенко І.В. Вивчення ролі поліфенольних сполук у стійкості картоплі проти мокрої гнилі //Картоплярство.-1995.-Вип.26.-С.101-102.

4. Бленда В.П., Положенец В.М., Іващенко І.В. Пероксидаза та її роль у стійкості картоплі проти мокрої гнилі //Картоплярство.-1995.-Вип.26.-С.102-105.

А Н Н О Т А Ц И Я

Іващенко І.В. "Выделение устойчивых форм картофеля к гнилям клубней", рукопись, специальность 03.00.21 - фитопатология.

Государственная агроэкологическая академия Украины.

Имеет четыре опубликованные работы. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Выделены и идентифицированы сильнопатогенные штаммы: *Erwinia carotovora* subs. *carotovora*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, вызывающие мацерацию тканей клубней, и предложены для использования их в научных учреждениях по селекции на устойчивость к гнилям картофеля. Впервые установлена зависимость между содержанием фенольных соединений, редуцирующих сахаров, активностью полифенолоксидазы в клубнях районированных сортов картофеля и устойчивостью их к мокрой гнили. На основе методов биотехнологии и инбридинга получены резистентные формы картофеля к мокрой бактериальной и сухой фузариозной гнилям, которые используются для гибридизации в целенаправленной селекции на эти признаки.

Ключові слова: картопля, мокра бактеріальна гниль, суха фузаріозна гниль, штам, біотехнологія, калус, культуральний фільтрат гриба, фермент, відновлювачі цукри, поліфеноли, індукт-лінії.

SUMMARY

Ivashchenko I.V. "Obtaining Tuber Rot Resistant Forms of Potatoes," typescript, specialization 03.00.21-Phytopatology.

State Academy of Agriculture and Ecology of Ukraine.

The author has 4 publications. Thesis for the Degree of Candidate of Biological Sciences.

High-pathogenic stock cultures *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Pseudomonas fluorescens* *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, causing tuber tissue maceration have been obtained and identified for using in research institutions working on the selection of rot resistant potatoes. The relationship between the content of phenolic compounds, reducing sugars, activity of polyphenoloxidase in the tubers of recognized potato cultivars and their resistance to soft rot have for the first time been established. Based on the methods of biotechnology and inbreeding potato forms resistant to bacterial soft and winter rot which are being used for hybridization in the trait-directed selection have been obtained.

