

МІНІСТЕРСТВО СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА І ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНА АГРОЕКОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ УКРАЇНИ

На правах рукопису

ІВАЩЕНКО Ірина Вікторівна

УДК 631.527:635:632

ВИДІЛЕННЯ СТІЙКИХ ФОРМ КАРТОПЛІ ПРОТИ ГНИЛЕЙ
БУЛЬБ

03.00.21 – Фітопатологія

ДИСЕРТАЦІЯ

на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Науковий керівник:
доктор сільсько-
господарських наук
В.М.Положенець

Житомир – 1995

З М І С Т

Вступ.....	4
1. Огляд літератури.....	7
1.1. Мокра бактеріальна гниль картоплі.....	7
1.2. Природа стійкості сортів та гібридів картоплі до мокрої гнилі.....	11
1.3. Суха фузаріозна гниль картоплі.....	15
1.4. Селекція картоплі на стійкість до гнилей бульб....	19
2. Матеріали і методи досліджень.....	27
2.1. Методи виділення збудників мокрої бактеріальної гнилі картоплі.....	28
2.2. Виділення відносно стійких форм картоплі до куль- турального фільтрату <i>Fusarium oxysporum</i> на ос- нові методу культури тканин.....	29
2.3. Методичне виділення стійких сіянців картоплі до гнилей бульб на основі використання інбридингу....	30
2.4. Методи вивчення біохімічних факторів стійкості до мокрої гнилі.....	31
2.5. Методи виділення збудників сухої фузаріозної гнилі картоплі.....	32
3. Біологічні особливості збудників хвороб, які викли- кають гнилі бульб картоплі.....	32
3.1. Суха фузаріозна гниль.....	32
3.2. Мокра бактеріальна гниль.....	34
3.2.1. Біологія... <i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i> і <i>E. c.</i> subsp. <i>atroseptica</i>	36
3.2.2. Біологія <i>Pseudomonas fluorescens</i>	42
3.2.3. Біологія <i>Bacillus subtilis</i> (<i>mesentericus</i>).....	42

4. Біохімічні фактори стійності сортів картоплі до мокрої гнилі.....	47
4.1. Роль окисно-відновних ферментів в стійності сортів картоплі до мокрої гнилі.....	47
4.2. Вплив фенольних сполук на резистентність сортів картоплі до мокрої гнилі.....	55
4.3. Вміст відновлюючих цукрів в бульбах як фактор, що впливає на стійкість сортів до мокрої гнилі.....	68
5. Отримання резистентних до гнилей генотипів картоплі на основі біотехнології, методів традиційної селекції	74
5.1. Виділення стійких форм картоплі до культурального фільтрату гриба <i>Fusarium oxysporum</i>	74
5.2. Отримання сіянців картоплі, стійких проти гнилей, при використанні інбридингу.....	81
Обговорення результатів.....	
Висновки.....	98
Практичні рекомендації.....	100
Список літератури.....	101

В С Т У П

Картопля відноситься до числа основних продовольчих культур, яку називають в народі "другим хлібом". Її цінність визначається універсальністю використання в народному господарстві країни, здатністю накопичувати велику кількість поживних речовин на одиниці площі.

В Україні цю культуру вирощують на площі 1,5 млн га, проте урожай картоплі із року в рік нестабільний. Отримання високих урожаїв передусім залежить від впровадження нових сортів інтенсивного типу з комплексом господарсько-цінних ознак з одночасним позначенням високої відносної стійкості до шкідливих мікроорганізмів різного походження.

На картоплі виявлено 46 видів грибових, 13 вірусних, 6 бактеріальних і 5 нематодних захворювань.

М.І.Вавілов /1964/ відмічав, що важко знайти яку-небудь іншу рослину, яка б так сильно уражалась бактеріальними, грибовими хворобами. Велику шкоду наносять бульбові гнилі, втрати від яких в окремі роки досягають 30-50% /Дорожкин и др., 1988/.

Найбільш раціональний спосіб зниження втрат урожаю картоплі від гнилей – селекція по створенню нових сортів. В зв'язку з цим перед селекційними центрами країни стоїть завдання проведення цілеспрямованої селекції картоплі на стійкість до гнилей бульб. Для цього необхідно здійснити оцінку і виділення вихідного матеріалу з високою відотною стійкістю до хвороб при зберіганні картоплі.

Пошук нових джерел стійкості, оснований на використанні біотехнології, ефективних методів оцінки за біохімічними показниками, використанні сильновірулентних штамів шкідливих мікроорганізмів, які викликають гнилі, сприятиме успіху селек-

ції при виведенні стійких сортів картоплі. Вивчення причин стійкості генотипів дозволить розробити ефективні методи оцінки вихідного матеріалу на стійкість до захворювань. 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 передбачалося:

1. Виділення збудників мокрої бактеріальної і сухої фузаріозної гнилей, їх ідентифікація.

2. Вивчення в бульбах картоплі зв'язку між вмістом поліфенолів, відновлюючих цукрів, активністю ферментів поліфенолоксидази, пероксидази і ступенем стійкості сортів проти мокрої гнилі.

3. Біотехнологічними методами, на основі відбору резистентних калусних ліній в умовах *in vitro*, отримати відносно стійкі лінії картоплі проти культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum*.

4. Виділити стійкі сіянці картоплі проти збудника мокрої і сухої фузаріозної гнилей з індухт-ліній від резистентних форм.

Наукове 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/ Bergery, Harrison, Breed, Hammer and Hurtoon 1923, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* / van Hall 1902/ Dye 1969, *Pseudomonas*

fluorescens / Trevisan 1889 / Migula 1895, *Bacillus subtilis* / Brenberg / Coker 1872, *Fusarium oxysporum* Schlecht . emend Skud . et Hans, *Fusarium solani* / Mart . / App . et Wz . var *solani*, які передано в селекційний центр картоплі України для проведення цілеспрямованої селекції на стійкість проти гнилей.

Отримані нові експериментальні лінії про вплив фенольних сполук, відновлюючих цукрів, активності окисно-відновних ферментів /поліфенолоксидази, пероксидази/ в бульбах картоплі на ступінь стійкості сортів проти мокрої гнилі.

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

Шляхом інбридингу виділені стійкі 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 бактерій та грибів родів *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Fusarium*, які використовуються в наукових установах України для цілеспрямованої селекції картоплі на стійкість проти гнилей.

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

I.1. Мокра бактеріальна гниль картоплі.

Мокра бактеріальна гниль — одне із самих шкідливих захворювань при зберіганні картоплі, зустрічається повсюдно.

Захворювання проявляється у вигляді розпаду тканини бульби на окремі клітини, які пізніше перетворюються в слизову масу із слабким спиртовим запахом. Якщо підселюються сапрофітні мікроорганізми, процес поглиблюється, бульба повністю загниває. Оснаки проявлення хвороби залежать від видової належності збудника і сортових особливостей картоплі.

Бактерії проникають в тканину через міжклітинний простір, причому зосереджуються головним чином в провідних судинах флоєми і ксилеми. В клітини з активним утворенням суберину збудники здебільшого не проникають.

Основним ферментом бактерій роду *Erwinia* в процесі розпаду тканини і розвитку м'яких гнилей в умовах зберігання є пектинтрансцеліназа /Дорожкін й др., 1985; *Fridman, 1962*/, але інші ферменти також включаються в патогенезис /*Idé, 1971; Walton, Cappellini, 1962; Lovrekovich et al., 1968*/.

Здатність синтезувати пектинтрансцеліназу корелює із ступенем вірулентності штаміну *Erwinia carotovora v. atroseptica, E. c. v. carotovora* /*Fridman, Ceponis, 1964; Biehn et al., 1972*/.

В процесі мацерації відбувається деградація пектинових сполук оболонки клітин, зменшується їх густина. В сильно інфікованій тканині клітинні стінки нерівномірно потовщені, спостерігається укорочення в плазмолесмах /*Fox, 1972*/. При згибелі клітин в результаті осмотичного тиску цитоплазми мембрани лопаються /*Lewas, Lojkowska, 1982*/. Бактерії при цьо-

му потрапляють в порожнину. Відбуваються також зміни з ядром: через 40 годин після зараження воно зменшується в розмірі, а потім руйнується /Fox, 1972/.

Найбільш сприятливі умови для розвитку мокрої гнилі – підвищена температура і відносна вологість при зберіганні, нестача кисню, надлишок вмісту CO_2 , пошкодження /оскільки інфікування відбувається головним чином через травмовані ділянки тканини бульб /Nielsen, 1964; Morris et al., 1989/. На проявлення захворювання впливають погодні умови, стан ґрунту в період збирання урожаю, ступінь фізіологічного дозрівання бульб, використання пестицидів /De Boer, Helman, 1978; Lund, Nicholls, 1970; Nauman et al., 1976/. Патологічний процес залежить також від концентрації кальцію, вмісту аскорбінової кислоти, сухої речовини і калію в бульбах /Mc Guire, Helman, 1983; Lyon, 1989/.

Встановлено, що різні види мінеральних добрив, які вносяться в ґрунт, суттєво впливають на зміни кислотності ґрунтового середовища /Вронских, 1984; Carnegie, Colhoun, 1983/. Тому добрива, діючи опосередковано через рослину-господаря на збульників, можуть впливати на ріст і розвиток патогенів, їх агресивність, антагоністичні властивості ґрунтової мікрофлори, її склад і, накінець, на витривалість і стійкість рослин до хвороб /Буга, 1984; Воловик, Глез, 1983; Воловик и др., 1983; Воловик, Борисенко, 1984; Иржеволските, Симановичене, 1983; Wolfgang, 1979/. Збалансоване внесення добрив – важливий фактор, що сприяє зниженню патогенезу бактеріальних гнилей /Филипова и др., 1986/.

Дотримуючись оптимальних умов зберігання картоплі /температура 2-4°C, недопущення зниження O_2 до 10% і накопичення CO_2 , вилучення надлишку вологи/, можна значно знизити ступінь шкід-

ливості мокрої гнилі /Weber, 1988; Schiessen Doppler, 1985/.

Мокру гниль картоплі при зберіганні викликають *Erwinia carotovora* var. *carotovora* (Jones) Bergey et al., *E. chrysanthemi*, представники інших родів *Enterobacteriaceae*, зокрема *Aerobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, штами *Ps. fluorescens*, *Ps. marginalis*, *Ps. viridiflava*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus* *B. polymyxa*, *B. subtilis*, *Clostridium* /Лорожкін и др., 1989/. Основні збудники мокрої гнилі відносяться до роду *Erwinia* /Perombelon, 1973; Nielson, 1978/. Вивчення бактеріозів картоплі в умовах Полісся України показало, що головну роль в захворюванні відіграють штами *E. carotovora* *subsp. carotovora* /Моложенець, 1992/.

Бактерії *Erwinia carotovora* var. *carotovora* – грамнегативні, неспоросні короткі палички, подликові, або з'єднані в ланцюжок, рухливі, факультативні анаероби. Лягутики розташовані паритрихально. Розмір бактерій 1,1 1,9 – 2,8 мкм. На агарових середовищах колонії круглі, швидко ростуть. На картопляному агарі – сірувато-білі, на м'ясопептонному – жовтуваті. Бактерії зброджують глюкозу, цукрозу, галактозу, арабінозу і маніт з утворенням кислоти і газу. Газоутворення йде інтенсивно. Більшість штамів зброджує гліцерин з утворенням кислоти, газ не утворюється.

Желатину розріджують лікноподібно, нітрати редукують. Під їх дією зсідлається молоко. Не всі штами синтезують індол. Деякі ізоляти здатні гідролізувати крохмаль. Бактерії можуть викликати почорніння рослинної тканини, що пов'язано з присутністю ферменту тирозинази.

Бактерії *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* – основний збудник захворювання стебел картоплі чорною ніжною /Лорожкін и др., 1989/, здатний викликати ураження бульб мокрою гниллю. Розмір

бактерії 0,8-0,9 x 1,5 - 2,4 мкм. За культуральними і біохімічними властивостями схожі з *E.C. var. carotovora*. Основна відмінність - газотворення на мальтозі, відсутність росту при температурі 36°C, наявність метилглюкозидози, здатність утворювати редукуючі речовини із цукрози /Билей и др., 1988/.

Ряд сапрофітних і напівсапрофітних мікроорганізмів можуть викликати при наявності певних умов мацерацию тканин і виникнення мокрих гнилей. Одним із таких видів є *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mesentericus*.

Бактерії *Ps. fluorescens* - палички з закругленими кінцями розміром 1,1 x 2,1 - 3,1 мкм, поодинокі або парні. Грамнегативні, спор і капсул не утворюють. Рухливі, джгутики розташовані полярно, частіше з двох сторін, їх число варіює від 2 до 7. На КА колонії білі, круглі блискучі, на картоплі - жовто-брудні; на м'ясному бульоні виявляється сильне помутніння, на МПА виділяється зеленувато-жовтий флуоресцюючий пігмент. Молоко пептонізують з утворенням осадку. Желатину розріджують, нітрати не відновлюють, крохмаль гідролізують. На синтетичному середовищі Смелянського зброджують глюкозу, цукрозу, мальтозу, *D*-галактозу, лактозу, арабінозу, гліцерин і маніт без утворення газу. Індол не утворюють. Аероби.

Біологічні властивості штамів виду *Bac. mesentericus*, ізольованих із уражених бульб, слідує: палички з закругленими кінцями, розмір їх 1,5 - 2,7 x 1,0 мкм, поодинокі або парні, грампозитивні. Спори у фітопатогенних штамів часто відсутні. Вони рухливі, перитрихи, часто з одностороннім прикріпленням джгутиків, число їх від 6 до 10. На МІБ утворюють плівку, слабку муть; на КА колонії сірувато-білі, матові; на картоплі - жовтувато-білі, кремові. Желатину розріджують, молоко пептонізують. Крохмаль гідролізують, нітрати не редують.

кують, індол не утворюють. На синтетичному середовищі Смелянського зброжують глюкозу, цукрезу, *L* - галактозу, арабінозу.

1.2. Природа стійкості сортів та гібридів картоплі до мокрої гнилі.

М.І.Завілов /1984/ повідомляв, що самим радикальним методом захисту культурних рослин від інфекційних хвороб є виведення імунних сортів, ґрунтоване на використанні природного імунітету. Ученим був розроблений генеральний напрям застосування імунітету рослин в селекційній роботі шляхом схрещування культурного сприйнятливої виду з імунними родами і видами диких родичів.

Стійкість картоплі до мокрої гнилі визначається рядом факторів: вмістом відновлюючих цукрів /*Otazi, Sevor*, 1981/, поліфенолів /*Lyon*, 1981/, кальцію /*Mc Guire, Kelman*, 1981, 1984/, активністю окисно-відновних ферментів /*Fripathi*, 1977/, здатністю синтезувати фітоалексини /*Maher*, 1982/.

Окисно-відновні ферменти - пероксидаза, поліфенолоксидаза відіграють значну роль в захисних реакціях рослин при проникненні патогена в тканини /Горленко, 1975; Сухоруков, 1982; Ярошенко, 1980; Рубини и др., 1975/.

Пероксидази відносяться до класу оксидоредуктаз /окисно-відновних ферментів/, які каталізують перенесення атомів водню і електронів /процеси дихання, бродіння/ /Лебелев, 1982/. Під їх дією відбувається окислення різних поліфенолів, аліфатичних і ароматичних амінів, а також жирних кислот, цитохрому, глутатіону. Реакція окислення здійснюється за допомогою пероксиду водню / H_2O_2 /, з яким фермент утворює комплексну сполуку. При цьому пероксид активується і діє як акцептор водню:



Пероксидаза – двокомпонентний фермент, простатична група якого вміщує залізо, зв'язане із залишками чотирьох пірольних кілець у вигляді гемату. Пероксидази відіграють важливу роль в лихванні рослин, оскільки наряду з поліфенолоксидазами можуть каталізувати окислення фенолів в хінони.

Вивченням активності пероксидази рослин в зв'язку з їх стійкістю чи сприйнятливістю до патогенів займалися ряд дослідників /Akhtar, Sargaway, 1967; Fehrman, Dimond, 1967; Johnson and Lee, 1978; Macko et al., 1969; Maxwell and Batteman, 1967; Seeverz et al., 1971/.

Встановили пряму залежність між активністю пероксидази і стійкістю огірків до *Colletotrichum laghenarium* /Hammerschmidt, Kuc, 1982; Hammerschmidt et al., 1982/, томатів до *Verticillium dahliae* /Reuveni, Bothma, 1985/, лави до *Sphaerotheca fuliginea* /Reuveni, Bothma, 1985/ і *P. cubensis* /Reuveni, Karshi, 1987/, цибулі до шийкової гнилі – *Botrytis allii* /Magro et al., 1983/.

Проводились дослідження пероксидазної активності на картоплі /Рагозина, 1972; De Kock et al., 1979; Fehrman and Dimond, 1967; Marcite, 1973/, але її роль в стійкості картоплі до мокрої гнилі мало вивчена.

Поліфенолоксидаза також відноситься до класу оксидоредуктаз. Фунція ферменту полягає в окисленні фенолів. Існує думка, що він відіграє певну роль в лихванні рослин /Кретович, 1986/, суберинізації тканини картоплі, що стимулюється ортодигідрофенолами, які є субстратом для ферменту /Рубин, Арциховская, Ансимова, 1975/. При цьому утворюються хімічно активні речовини – хінони, які, полімеризуючись до темнозабарвлених емалоподібних речовин, утворюють бар'єр на шляху проникнення паразитичних мікроорганізмів. Хінони легко реагують з функціональними угрупованнями білків і амінокислот NH_2 , OH^- , SH і т.д./, а

результаті чого білки можуть стати неслетупними для паразита. Вони здатні інактивувати ферменти, викликаючи їх денатурацію і осадження, обмежувати процеси окислення і фосфорилування.

Поліфенолоксидаза приймає активну участь в стійкості рослин до хвороб /*Bollard, Matthews, 1966; Tomiyama, Staßmann, 1964; Farkas et al., 1965*/. Фермент відіграє певну роль в резистентності картоплі до фітофторозу /*Асталяева, 1976*/, микої гнилі /*Tripathi, Verma, 1975; Lovrekovich et al., 1988*/>.

Роль окисно-відновних ферментів в активних захисних реакціях рослин по відношенню до патогенів полягає в наступному:

- зниження активності гідролітичних ферментів паразита, який пошкоджує тканини рослин;
- окислення токсинів до нейтральних речовин;
- участь в процесах синтезу речовин, які відновлюють пошкодження, нанесені паразитом, і сприяють утворенню механічних перешкод;
- безпосередня фунгіцидна і бактерицидна дія хітонів, які утворюються в тканинах рослин-господарів при активізації процесів окислення.

Поліфеноли - одні із токсичних для шкідливих мікроорганізмів речовин, які присутні в рослинній клітині /*Барабас, 1976*/. Токсичність фенолів залежить від їх хімічної будови, а саме від характеру приєднання груп до бензольного ядра, їх взаємного розташування, а також від рН середовища /*Lyon, 1969*/. В ряді робіт встановлена кореляційна залежність між стійкістю живих тканин рослин і вмістом в них фенольних сполук /*Дмитриєв, Аветунов, 1968; Смелянец, Король, 1986; Friend, 1985;*

Cook et al., 1981; Sindhan, Jaglan, 1987; Arinze, Smith, 1982; Johnson, Schaal, 1987; Nemes, 1976; Werder, Kern, 1985; Hammerzschmidt, Kuc, 1981; Purushothaman, 1975; Treutler, Feucht, 1980; Thompson, 1979/. Незвідомлялось про роль цих

сполук в несприйнятливості картоплі до фомозу /*Zann*, 1978/, фітофторозу /*Kat*, 1972/, фузаріозу /*Wailes* .., 1978/, мокрої гнилі /*Lyon*, 1989/.

Вивченням вмісту поліфенолів в картоплі займалися ряд дослідників /Рубин, Аксенова, 1957; Сасколова, 1962; *Wulf, Nagel*, 1976; *Court*, 1977; *Rees and Theaker*, 1977; *Walter et al.*., 1979; *Wilson*, 1981; *Robertson et al.*., 1988/. За літературними даними бульби картоплі містять їх широкий спекто: флавоноли - кверцетин, кемпферол, мірецетин /Карбон, 1963/, катехіни /Аксенова и др., 1971; Метлицкий и др., 1972; Сзерецковская, Метлицкий, 1966/, оксикоричні кислоти /Сасколова, 1962/. Про антиміотичні їх властивості відомості суперечливі.

Функція поліфенолів у несприйнятливості картоплі до мокрої гнилі полягає в безпосередньому інгібуванні росту бактерій /*Lyon*, 1989/, інактивації ферментів патогена /*Farkas, Kiraly*, 1962/, а також в утворенні захисного механічного бар'єра /суберинізація, лігніфікація/ /*Ride*, 1982/. Так, *Maher і Kelman* /1983/ показали, що феноли, діючи на пектолітичні ферменти *Erwinia*, обмежують процес гниття картоплі. Аналогічно *Mullen і Bateman* /1975/ відмітили інгібування ферментів *Fusarium roseum*, які руйнують клітинні стінки в тканинах картоплі.

Відновлювачі цукри відіграють важливу роль в процесі промислової переробки картоплі. Виявлено негативний вплив на якість готових виробів підвищеного їх вмісту /0,4 - 0,5%/. Встановлено, що сорти картоплі з мінімальною кількістю моноцукрів найбільш придатні для зберігання і переробки, а збільшена концентрація активізує взаємодію їх з амінокислотами, що призводить до потемніння тканин, погіршення запаху і смакових якостей картоплі *Ашвів, Brown*, 1957/.

Основні відновлюючі цукри /моноцукри/ - глюкоза і фруктоза. Дані про їх процентне співвідношення в бульбах картоплі суперечливі. *Talburt* та ін. /1975/ стверджують, що глюкоза і фруктоза присутні в бульбах майже в рівних кількостях. Згідно досліджень *Isherwood, Burton* /1975/, глюкози значно більше, ніж фруктози. В свіже зібраній картоплі, при середній концентрації 0,7% цукрів, більше половини /65%/ припадає на глюкозу і 30% - на цукрозу.

Сорти картоплі відрізняються за вмістом моноцукрів, але умови зберігання, з саме температура, можуть значно їх підвищувати. Низькі температури приводять до накопичення цих сполук *Britani and Weler*, 1977; *Tishel and Mazelis*, 1966/, тому практикують прогрівання картоплі. Відомості про динаміку моноцукрів в різні періоди зберігання суперечливі *Britani et al.*, 1974/.

Вміст відновлюючих цукрів в бульбах картоплі на 20% залежить від погодних умов, на 10-20% - від строку збирання урожаю *Putz*, 1987/, від умов вирощування /Костюшин, Вирюкин, 1972/. Їх рівень неоднаковий в різних частинах бульби: моноцукрів більше в базальній частині, незалежно від умов вирощування, строку збирання і тривалості зберігання *Britani et al.*, 1973/.

Сповідомлення про негативний вплив відновлюючих цукрів на стійкість картоплі до мокрої гнилі *Olazu, Secor*, 1981/, пшениці до церкоспорельозу *Evans, Rawlinson*, 1977/, яблук до *Botryosphaera dothidea* *Kohn, Hendrix*, 1980/, гороху до фузаріозної гнилі *Kraft*, 1977/.

1.5. Суха фузаріозна гниль картоплі.

Збудники захворювання - недосконалі гриби роду *Fusarium*.

Воши з факультативними паразитами /Попкова, 1983/ і можуть викликати гниль плодів, пасіння, коренів, коренеплодів та інших органів рослини. Фузаріози вивчалися багатьма дослідниками різних країн світу /Білей, 1975; Лорожкин и др., 1978; Коваль, Двел, 1978; Holmberg, Pettersson, 1986; Gindrat, Pilloud, 1988; Thanassoulouropoulos, Kitsos, 1985/. Особливо захворювання небезпечне при зберіганні картоплі /Суркова, 1978; Munzert, Hannius, 1980/. В залежності від пошкоджень ураження сухою гниллю може сягати 4-60% /Jerränen, 1983/. По шкідливості вона займає друге місце після фітофтори /Білей и др., 1988/. Посадка бульб, уражених гниллю, призводить до значного зниження схожості, погіршення росту і розвитку рослини, зменшення крохмалю /Адамян, 1984/.

Проявляється хвороба в основному в період зберігання бульб і, найчастіше, через 3-4 місяці після збирання урожаю. На поверхні бульб виникають сірувато-білі зважені плями, під якими тканина буріє, зморщується, утворюючи внутрішні порожлини, вистелені ніцелієм гриба. На ураженні поверхні з'являються невеликі сірувато-білі, рідше жовтуваті або рожеві, подушечки. В сухому сховищі бульби можуть повністю муміфікуватися.

Гриби поширюються конідіями і грибноцею. на бульби потрапляють з ґрунтом в переняку через механічні пошкодження шкірки. В період зберігання хвороба практично не розповсюджується при зіткненні здорових і хворих бульб. Первинне зараження проходить в полі, під час збирання урожаю. В уражених бульбах утворюються подушечки з конідіальним спорозшенням у вигляді коротких конідіоносців з серповидними конідіями. В залежності від виду збудника конідії можуть мати різноманітну зігнутість, колір і кількість перетинок.

F. solani var. *coeruleum* і *F. sulphureum* розповсюджуються

в рослинні міжклітинно, потрапляючи через пролиха, вічка і пересуваючись головним чином в паренхімній тканині /Дорожкин и др., 1989/. При цьому вони руйнують оболонку клітини та цитоплазму, незруйнованими лишаються крохмальні зерна. Після відмирання тканини гриб проростає і розростається в середині клітин, а живлення відбувається за рахунок відмерлих клітин, що характерно для сапрофітів. Для такого типу живлення обов'язковою умовою є здатність мікроорганізмів синтезувати високотоксичні речовини і екстрацелюлярні ферменти для деструкції клітинних структур господаря /Васильєва и др., 1984; Гладких, Васильєва, 1984; Рубин, 1969/.

Найбільш важливими ферментами є пектинтрансгеліміназа і амілаза, утворення яких встановлено для багатьох видів роду *Fusarium*.

Оптимальні умови для розвитку збулників сухої гнилі: температура повітря 17-25°C, відносна вологість 70%, вільний доступ кисню до місця ураження /Михальчик, 1970/. Запущування ґрунту, внесення сульфату цинку, калійних добрив знизують чутливість бульб до зараження /Кордкова, 1988/. Перед закладанням на зберігання бульби необхідно добре протерувати, прогрівати /Langerfeld, 1978/. Велике значення має обеззараження картплесховиц, з оптимальною температурою 1-3°C і вентиляванням, вологістю /85-90% /Лементьева, 1977; Пересипкин и др., 1985; Пилопличко, 1978; Кохряков и др., 1984/.

Суху фузаріозну гниль викликають види грибів *Fusarium*: *F. sulphuratum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. coenocyticum*, *F. avenaceum* /Дорожкин и др., 1989/. Вилговий склад фузарієв-збулників гнилі досить різноманітний і не стабільний за роками, географічними зонами. В Україні головними збулниками фузарієзу є: *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. avenaceum*

/Витукевич, 1958/.

Заразний початок збудника *F. solani* /Mart/ - макроконілії веретеноподібно-серпоподібної форми, еліптично зігнуті, іноді прямі, з короткою звуженою і тупою верхівкою. Клітини мають 3-5 перетинок. Конілії з трьома перетинками розміром 30-45x4,5-5,5 мкм. На хворих бульбах повітряний міцелій кремово-жовтого, синьо-зеленого або коричнево-білого забарвлення.

У *F. sambucinum* Fekl макроконілії утворюються в повітряному міцелії в спородохіях. Конілії веретеноподібно-серпоподібної форми, еліптично зігнуті, розміром 25-60x3,5-6 мкм, мають 5, а іноді 8 перетинки. В основі конілії чітко виражена ніжка. На ураженій тканині повітряний міцелій білий, рожевий, сильно пухнастий.

Макроконілії *F. avenaceum* /Fr /Sacc. також в спородохіях, піонотах чи в повітряному міцелії, ниткоподібні, прямі, до основи і верхівки звужені, в основному з 5-7 перетинками. Конілії з 5 перетинками розміром 32-80x3-4,5 мкм, верхня клітина ниткоподібно - видовжена, з добре вираженою ніжкою біля основи, в масі оранжеві, неглибоко-червоні. Строма жовта, цегляно-червона чи коричнево-червона. Кламідоспори відсутні.

У збудника *F. oxysporum* Schlecht .emend. Snyder et Hans макроконілії утворюються в повітряному міцелії, рідше в спородохіях чи піонотах, веретеноподібно-серпоподібно, еліптично зігнуті або зовсім прямі з рівним діаметром по всій довжині, з тонкою оболонкою, з ясно вираженою ніжкою чи сосочком, 3-5 перетинками. Конілії з 5 перетинками, 20-65x3-5 мкм. Мікроконілії багато. Кламідоспори проміжні і верхівкові, утворюються багато. Повітряний міцелій плівчато-паутинистий, як і строма, в різні відтінки рожевого кольору, рідше світло-жовтий чи білий.

Гриби роду *Fusarium* можуть використовувати як джерело

живлення і енергії різноманітні органічні сполуки – вуглеводи, білки, жири, деякі леткі сполуки і багато інших органічних сполук. Вони здатні синтезувати різної хімічної природи метаболіти з високою біологічною активністю. В їх числі: фузарієва кислота, лікомерезмін *Hideyoshi Toyoda et al.*, 1964/, нівеїн, яваніцин, гібберелін, фузаріотоксини – пілін, спорофузаріогенін, поефузаріогенін, диацетоксисцирленол, сцирпентриол, утеротоксин та ін. /Білей, 1977/.

Фузарієва кислота є природним похідним нікотинової кислоти /5Н – бутилпіридин – 2 карбонова кислота – $C_{10}H_{13}O_2$ / /Білей та ін., 1975/. Ця сполука в низьких концентраціях інгібує лихання, ріст, цитохромоксилазу, поліфенолоксидазу, окислювальне фосфорилування в протопластах. Фузарієва кислота продукується різними видами *Fusarium* /Davis, 1960; Prasad, Chaudhary, 1974/. Вперше ізолювана з *F. moniliform*, потім – з *F. oxysporum*. Визначення здатності до токсинотворення у найбільш типових для Білорусії грибів роду *Fusarium* /*F. sambucinum*, *F. solani*, *F. culmorum*/ показало, що фільтрати всіх досліджуваних культур мають фітотоксичну активність по відношенню до паростків картоплі /Горожкін и др., 1988/.

Фузарії утворюють значну кількість ферментів: пектинази, целюлази, ксиланази. Ферментативний апарат у різних видів найбільший і залежить від умов середовища.

1.4. Селекція картоплі на стійкість до гнилей бульб.

В селекції картоплі на стійкість до гнилей використовують гібридизацію з наступним відбором резистентних генотипів. Можливі пошуки стійких зразків серед місцевих популяцій і диких форм.

порядку із способами традиційної селекції впроваджуються

біотехнологічні методи /Рассадина, 1987; *Guignonnet*, 1982/.

Гібридизація в поєднанні з відбором дозволяє створювати нові стійкі сорти і оригінальні форми рослин. З відкриттям зчеплення генів, кросінговера, складанням перших карт хромосом і пізнанням закономірностей успадкування кількісних ознак вона стала методом цілеспрямованого формування нових генотипів. При всій різноманітності питань, які вирішує гібридизація, виділяють два основних: комбінаційне і трансгресивне схрещування.

Мета комбінаційного схрещування – одержання таких генотипів, які б об'єднували бажані ознаки і властивості батьківських форм і забезпечували отримання високопродуктивних сортів. Трансгресивною селекцією називають напрямок, який базується на планомерному схрещуванні з метою одержання позитивних трансгресій за урожайністю або іншими окремими ознаками. Комбінаційне і трансгресивне схрещування використовують в селекції картоплі на стійкість до хвороб. Так, в результаті залучення в селекційний процес відносно стійких батьківських форм був виведений середньостиглий сорт картоплі Віхола, який характеризується відносною стійкістю до монрої бактеріальної гнилі /Положенець, Осипчук, 1988а/.

Селекційна робота по створенню стійких сортів шляхом гібридизації включає наступні етапи /Горленко, 1973/:

- оцінка вихідного матеріалу;
- підбір на основі цієї оцінки батьківських пар для схрещування;
- схрещування;
- підбір стійких рослин серед гібридів для подальшого вивчення і розмноження.

Отримання резистентних форм з генетично закріпленим імун-

нітетом може бути досягнуто на основі багаторазового індивідуального відбору на інфекційному фоні /Вердеровский, 1968/ в також при використанні індухта /Інбридинга/ /Вавілов, 1964/. Схрещуючи між собою різні батьківські пари, одержані на основі інбридинга, можна створити більш стійкі форми, ніж вихідний сорт, по відношенню до вузькоспеціалізованих паразитів. Для успішного використання гібридизації з метою отримання резистентних форм на першому етапі селекційного процесу необхідна всебічна фітопатологічна оцінка вихідного матеріалу. Фітопатологічна експертиза – це порівняльне випробування сортів і селекційного матеріалу в умовах природного зараження в звичайних селекційних посівах та в умовах штучного зараження на інфекційному фоні, у вегетаційних будиночках, теплицях і кліматичних камерах, а також в лабораторних умовах з використанням морфологічних, цитологічних, фізіологічних, біохімічних, біофізичних і інших методів /Гешеле, 1978/.

Оцінка картоплі на стійкість до бульбових бактеріальних гнилей проводиться різними способами: методом штучного зараження пластирів бульб, вакуумної інфільтрації, експрес-методом з використанням поліетиленових пакетів, оцінки по бульбах та їх частинам з послідувчим витримуванням у вологій камері, методом індукції фітоалексинів /Дорожкин и др., 1989; Положенець, Осипчук, 1988; *Beszner et al.*, 1979/. Чітві результати отримують при використанні лабораторних методів, оскільки випробування здійснюється в умовах однакових температури, вологості і не залежить від впливу зовнішнього середовища.

Найбільш ефективний спосіб – зараження цілих бульб бактеріальною суспензією, приготовленою із вірулентних штамів *Erwinia*, а наступним обліком їх ураженості за 9-бальною шка-

люю. Він дозволяє дати об'єктивну імунологічну оцінку селекційним зразкам картоплі і може бути використаний для виділення вихідного і селекційного матеріалу культури на стійкість до патогенів. Попередню оцінку сіянців картоплі на перших етапах селекційного процесу проводять методом зараження пластирів із цілих бульб /Положенець, Осипчук, 1988а/.

Стійкі до фузаріозу форми виділяють також шляхом штучного зараження бульб суспензією найбільш розповсюдженого ізлятту із роду *Fusarium* з наступним обліком ступеня їх ураженості /Коваль, 1983; Хомяков, Адамьян, 1982/. Використовують також метод індукції фітоалексинів /Клыкков, 1982; Лорожкин и др., 1976/, гістологічний, люмінесцентний /O'Brien, Simeon, 1980/ методи. Розробка способів штучного зараження сприятиме успіху селекції картоплі на стійкість до сухої гнилі.

Серед сортів вітчизняної та зарубіжної селекції виявлено незначна кількість відносно стійких проти мокрої гнилі: Кореспонді, Гюноза, Вулкан, Хассія, Лельфін, Зікінген, Нова, Сірос, Флава, Сафір, Кестор, Саксія, Лерхе, Лурелія /Вітенко та інш., 1988/; в умовах Білорусії – Олев, Волжанін, Вертифолія, Нова Урсула, Сюзана, Атланта, Зікінген. В Україні відносною стійкістю до захворювання характеризуються сорти: Бородянська, Житомирська, Луговська, Світанок київський, Віхсла /Положенець, Осипчук, 1988а/. Ці сорти доцільно використовувати як вихідний матеріал в селекції картоплі на резистентність проти мокрої гнилі.

Відбір стійких до сухої гнилі зразків ускладнюється наявністю багатьох видів роду *Fusarium*, різним температурним оптимумом їх розвитку. Крім того, резистентність сортів варіює по відношенню до різних видів фузаріума.

Відносну стійкість проти захворювання мають сорти: Комсомолец, Скороспілка I, Салко, Павлінка, Старт, Адретта, Ессе-

ко, Аккерзеген, Лоблер, Форман, Превалент, Евергуд, Яра, Гера, Киршковська селянська, Мейзе, Іскра, Чайка, Аквила, Красава, Гретт скот, Епікур, Сатурна, Бем, Флора, Форге, Мурманська, Екс, Антіго, Харківська рання, Епрон /Вітенко та інш., 1988/, Провіта, Стіна /*Serranen*, 1983/. Вони можуть бути використані в селекції на стійкість проти сухої фузаріозної гнилі. Але, як вказують багато дослідників /Коваль, 1983; Михальчик, 1977/, в світовому сортименті картоплі немає сортів з абсолютною чи високою стійкістю до збудників фузаріозної гнилі /з балами 8,9 за класифікатором СЕІ/1984/. За думкою деяких авторів, основною причиною сильної ураженості виведених сортів картоплі гниллю є відсутність джерел стійкості із збалансованим геномом ефективних генів, що контролюють ознаку /Полгзаецкий, Коваль, 1990/, а також відсутність ефективних методів оцінки /Михальчик, 1977/.

В Українському науково-дослідному інституті картопляного господарства /УНЛІМ/ ведуться дослідження по виявленню у різних видів картоплі стійких до сухої гнилі форм, і на їх основі створюються гібриди. Як вихідний матеріал використовують первинні складні гібриди між *Solanum bulbocastanum*, *S. demissum*, *S. ascaule*, *S. phureja*, *S. andigenum* /Полгзаецкий, Коваль, 1990/.

Одним із актуальних напрямлень в селекції кормових культур на стійкість проти хвороб з використання методу культури тканин. Процес культивування клітин і тканин на штучних поживних середовищах може супроводжуватися різними аномаліями мітозу, що приводить до виникнення значної генетичної варіабельності в популяціях калусних тканин /Buvat, 1944; Naylor et al., 1954; Mitra et al., 1960; Murashige, Nakano, 1966; Shamina, 1966/. Проходження клітинами сталі неорга-

нізованого росту *in vitro* сприяз виикнення нових форми рослин – сомеклональних варіантів, які відрізняються від вихідних рослин як за фенотипічними, так і генитичними ознаками.

Результати генетичних досліджень на пшениці /*Larkin, Seaver*, 1983/, томатах /*Evans et al.*, 1984/, рисі /*Osano*, 1981/ показали, що більша частина сомеклональних варіацій обумовлена стабільними генетичними змінами, тобто мутаціями. Запропоновано декілька механізмів, що розкривають природу сомеклональної мінливості: грубі кариологічні зміни, криптичні, непомітні при цитологічному аналізі хромосомні перебудови; пересування мобільних генетичних елементів; ампліфікація і редукція генів; соматичний кросингвер і обмін сестринських хроматид; /*Larkin, Seaver*, 1981/, перебудова мітохондріона /*Hemble et al.*, 1982/. Аналіз мейозу регенерантів показав такі інтенсивні перебудови хромосом, як транслокації, інверсії, субхроматидні обміни, часткову втрату хромосом /*Orton*, 1980; /*Ogihara*, 1981; /*McCoy et al.*, 1982/. Сомеклональну мінливість преслідують на молекулярному рівні, оцінюючи такі перебудови ядерної ДНК /*Landsman, Uhrig*, 1985; /*Brettell et al.*, 1986/.

Крім сомеклональної варіабельності, пов'язаної з спадковою перебудовою геному, є фенотипічні зміни, що позначаються як "епігенетичні". Вони можуть стабільно передаватись дочірнім клітинам, але не проявляться в регенерованих рослинах або їх статевому потомстві /*Binns, Meins*, 1973/. Поява епігенетичних змін пов'язана із змінами метилювання ДНК у клітин, культивованих *in vitro* /*Lörz, Brown*, 1986/.

Роботи по виявленню соматичної мінливості у найважливіших сільськогосподарських культур широко ведуться у всьому світі, в тому числі і в нашій країні /*Кучко*, 1983; /*Леонова* и

др., 1991; Сидоров и др., 1985а, 1985б/. Серед рослин-регенерантів знайдені варіанти з відхиленням від батьківських форм як за морфологічними, так і за іншими інтегрованими ознаками - біохімічними параметрами /Jacobs, 1984/, стійкості до патогенів /Brettel et al., 1980; Hartman et al., 1984; Matern et al., 1978; Rines, Luke, 1985; Shepard et al., 1980; Thantong et al., 1983/ і стресів /Nabors, 1983/, а також строкам стиглості, урожаю /Scowcroft et al., 1983/.

Пошук позитивних відхилень генотипу можна зробити більш ефективним і направленим, якщо популяцію клітин або калусну тканину культивувати в селективних умовах, додаючи в поживне середовище фактори стресу: токсини, культуральні фільтрати збудників хвороб.

При цьому більша частина клітин гине, а виживають лише стійкі до стресу. Такі клітини дають початок лініям, які після перевірки на генетичну стабільність можуть бути використані для отримання рослин-регенерантів.

Повідомлялось про селекцію клітин і калусних культур з використанням пептотоксинів і культуральних фільтратів гриба, як селективних факторів: напусти до *Leptosphaeria maculans* /Zacristan, Hoffmann, 1979/; тютюну до *Pseudomonas syringae*, *Alternaria alternata* /Thantong et al., 1983/; вівса до пептотоксину *victorin* /Rines and Luke, 1985/, кукурудзи до *Helminthosporium maydis* /Zengenbach, Green, 1975; Zengenbach et al., 1977/, рису до *Helminthosporium oryzae* /Ling et al., 1985/. Опубліковані результати досліджень по селекції томату /Shahin, Spivey, 1986/, ячменю /Chawla, Wenzel, 1987/, люцерни /Mc Coy, 1988/ до культурального фільтрату гриба *Fusarium oxysporum*, або очищеного пептотоксину - фузарієвої кислоти.

Техніку тканевого і клітинного відборів застосовували для створення стійких форм картоплі до фузаріозу / *Behrke*, 1980/, фітофтори / *Behrke*, 1979; 1980/, кільцевої гнилі / Хромова и др., 1983; Маруненко, Лучко и др., 1988/; збудників чорної ніжки / Маруненко и др., 1988/.

На захист винесені такі основні питання дисертації:

1. Виділення збудників мокрої гнилі картоплі, їх ідентифікація.
2. Біохімічні фактори стійкості картоплі проти мокрої гнилі.
3. Отримання біотехнологічними методами відносно стійких ліній картоплі проти культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum*.
4. Виділення стійких сіянців картоплі проти збудників мокрої і сухої фузаріозної гнилей з індухт-ліній від резистентних батьківських форм.

2. МЕТОДИ І УМОВИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Методи досліджень.

Дослідження проводили в Житомирському сільськогосподарському інституті протягом 1991-1993рр. Біологічні особливості збудників хвороб, що викликають мокру бактеріальну гниль картоплі, вивчали у відділі фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. П. К. Заболотного АН України. Роботу по встановленню ролі поліфенольних сполук в стійкості картоплі до мокрої гнилі виконано в Інституті зрошуваного сівництва УААН /лабораторія біохімії та біотехнології/.

Матеріалом для виділення патогенних штамів мікроорганізмів правили зразки бульб, уречені змішаними гнилями, які відбиралась в господарствах районів Житомирської області з різним рівнем радіоактивного забруднення: Лугинському, Олевському, Коростенському, Черняхівському. Згідно з даними радіологічної інспекції обласного управління сільського господарства і продовольства за 1991 рік густина радіоактивного забруднення ґрунтів Лугинського району /радгосп "Україна"/ складала: цезієм - 1-15 ки/км², стронцієм - 0,02-3 ки/км², свинцем - менше 20 мг/кг; Олевського району /радгосп "Комуніст"/: цезієм - 0,06-4,14 ки/км², стронцієм - 0,01-0,08 ки/км²; Коростенського району /колгосп "Перемога"/: цезієм - 0,39-18,3 ки/км². Гамма-випромінювання на полях учгоспу "Україна" /Черняхівський район/ знаходилось в межах норми.

В результаті весняного обстеження бульб картоплі при зберіганні в картоплекховищах, кегетях відібрано 270 зразків з ознаками мокрої бактеріальної гнилі. При цьому виділено 798 ізолятів бактерій і перевірено патогенні властивості в лабораторних умовах. Біохімічні, культуральні особливості вивчали у

22 вірулентних штамів.

2.1.1. Методи виділення збудників микробної бактеріальної гнилі картоплі.

Виділення збудників бактеріальних хвороб із зараженого матеріалу в чисту культуру проводили згідно з методами К.І. Нельтскової та інш./1968/. Фітопатогенність ізолятів перевіряли за методикою ВІЗР /1989/. Морфологічні та культуральні особливості колоній бактерій відмічали при вирощуванні їх на картопляному агарі /КА/.

Для визначення здатності бактерій розщеплювати вуглеводи за допомогою цукролітичних ферментів як мінеральну основу використовували середовище Омелінського з водним індикатором бромтимол-блау /Кучеренко, 1969/ і різні джерела вуглецю: глюкозу, цукрозу, мальтозу, лактозу, трегалозу; спирти: адоніт, маніт, інозит, дульцит, сорбіт. Редукцію нітратів до нітритів виявляли за допомогою реактива Грися при вирощуванні бактерій на м'ясо-пептонному бульоні /МПБ/ з 0,1% калійної селітри. Окислювальну активність досліджували за методом *K. Kovacs/1966/*.

Наявність протспектинази перевіряли шляхом нанесення бактеріальної маси лебової культури на пластир картоплі в стерильних умовах вологої камери. По м'якцю картоплі судили про активність пектолітичних ферментів.

Для виявлення у бактерій протеолітичних ферментів використовували желатину, обезжирене молоко, МПБ. При посіві на МПБ відмічали їх здатність розщеплювати білок і пептон до продуктів глибокого розпаду - індолу і сірководню. Наявність індолу визначали за методом Моралі, сірководню - за допомогою індикаторів, насичених розчином оцтовокислого свинцю. На желатині, молоці, МПБ спостерігали флуоресценцію.

Фарбування культур проводили видозміненим способом Грама по Синьову, відмічаючи форму і величину клітин /Лабинская, 1978/, при 36°C, 42°C вивчали їх ріст.

Здатність синтезувати леванцуказу досліджували при вирощуванні бактерій на МПА з 5% цукрози /Fuchs, 1956; Ceska, 1971/. Про синтез левану судили по створенню на цьому середовищі мукоїдних колоній, ослизаних, круглих, припіднятих у вигляді крелі.

В роботі були використані методи світлової мікроскопії.

При створенні колекції шкідливих мікроорганізмів, які викликають гнилі бульб, вірулентні властивості отриманих бактерій визначали шляхом зараження бульб сприйнятливою до захворювання сорту Незабудка. Високовірулентні штами випробували на сортах, занесених до державного реєстру України: Незабудка, Ласнад поліський, Зов, Луговська, Світанов київський, Гатчинська, Боролянська рожева, Зарево, Либіль, Герт, Ромешка, Пролісок.

2.1.2. Виділення відносно стійких форм картоплі до культурального фільтрату *Fusarium oxysporum* на основі методу культури тканин.

Виділення стійких регенерантів картоплі до *Fusarium oxysporum* проводили на основі калусної культури, ініційованої з пробіркових рослин картоплі сорту Зарево, вирощених *in vitro*. В роботі використані штучні поживні середовища для калусогенезу, регенерації, вирощування картоплі, розроблені УНДІ КТ /Маруненко и др., 1991/. Інфекційний фон створювали шляхом введення в поживне середовище фільтрату культуральної рідини гриба *Fusarium oxysporum* /Тепнер и др., 1987/.

Випробували дію різних концентрацій токсичного фільтрату на калус для встановлення оптимальної, при якій гине 90% тканини. Детальну концентрацію використовували в селекції

калусу, застосовуючи переривний метод відбору *Shawla, Wenda*, 1987/ /табл.1/.

Таблиця 1. Селекція калусної культури картоплі на стійкість до культурального фільтрату *Fusarium oxysporum*.

номер пасажу	наявність селективного фактора	мета пасажу	Примітки
1	+	Відбір стійких калусних ліній	Стійкість може бути обумовлена як генетичними, так і адапційними причинами
2	+		
3	-	Вирощування стійких калусів	
4	+	Перевірка генетичної стабільності ознаки резистентності до культурального фільтрату	Стійкість обумовлена тільки генетичними причинами.
5	-	Культивування калусних ліній з	
6	-	генетично стабільною ознакою резистентності	

і т.д.

2.1.3. Методика виділення стійких сіяців картоплі до гнилей бульб на основі використання інбридингу.

Пошуки по виділенню резистентних форм картоплі до мокрої бактеріальної та сухої фузаріозної гнилей бульб проводили серед потомства популяції, отриманої від самоzapилення міжвидових гібридів 77 583/16, 938 С/70 та сорту Берегиня. Дослід включав

збір і отримання насіння картоплі згідно рекомендації І.Я.Логінова /1985/, вирощування сіянців в зимовій теплиці розсадним способом /Костиня и др., 1984/ при загальноприйнятій агротехніці сіянців із розсади /Склярова и др., 1981/, оцінку потомства від кожного генотипу на стійкість до мокрої бактеріальної та сухої фузаріозної гнилей /Положенець, Осипчук, 1988б; Коваль, 1983/. Потомство відносно стійких генотипів репродукували протягом двох років для перевірки на стійкість до вищезаних патогенів.

2.1.4. Методи вивчення біохімічних факторів стійкості до мокрої гнилі.

Вивчення біохімічних факторів стійкості /вмісту поліфенолів, відновлюючих цукрів, активності поліфенолоксидази, пероксидази/ провели на здорових і заражених мокрою гниллю бульбах картоплі сортів різного ступеня сприйнятливості до захворювання: Незабудка, Каскал поліський – нестійкі; Луговська, Зов – середньостійкі; Світанок київський, Гетчинська – відносно стійкі.

Активність ферменту поліфенолоксидази визначали титриметричним методом /Починок, 1965/, пероксидази – фотокелсриметрією /Починок, 1965/, вміст відновлюючих цукрів – методом Бертрана /Ерменков, 1972/. Дослідження якісного складу сполуки фенольної природи проводили двоїрною паперовою хроматографією згідно методики М.К.Зейделя /1968/, кількісний вміст фенольних сполук вивчали в перидермі та запасній перенхімі бульб спектрофотометричним методом /Бленда, 1985/.

Заражали бульби мокрою гниллю за методикою УМІКГ /Положенець, Осипчук, 1988б/.

Математичну обробку результатів проводили дисперсійним аналізом /Лоспехов, 1985/.

2.1.5. Методи виділення збудників сухої фузаріозної гнилі картоплі.

Для ідентифікації збудників сухої фузаріозної гнилі картоплі використовували методи, описані В.І.Білай /1977/. Характер розвитку культуральних і морфологічних ознак фузаріїв вивчали при культивуванні їх на кислому і звичайному суловому агарях, середовищі, описаному В.І.Білай /1977/, рілному середовищі Чапек /Теплер и др., 1987/. Фітотоксичні властивості збудників визначали на рослинах картоплі, вирощених *in vitro*. Вірулентність штамів досліджували на бульбах картоплі сортів Незабудка, Зарево, Гатчинська /Коваль, 1988/. В роботі використані методи світлової мікроскопії.

3. Біологічні особливості збудників хвороб, які викликають гнилі бульб картоплі.

3.1. Сухо фузаріозна гниль.

Із зразків картоплі з ознаками захворювання гнилями бульб, відібраних в зоні Полісся України, на основі морфологічних і культуральних ознак, виділені і ідентифіковані патогенні штами *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder et Hans /25H, 4K, 124/ і *Fusarium solani* /Mart. / App. et Wg. var *solani* /270, 17H, 220/. При штучному зараженні бульб картоплі вони викликали типові симптоми сухої фузаріозної гнилі у вигляді бурих вдавнених плям. Уражена тканина зморщувалась, утворюючи внутрішні порожнини, вистелені міцелієм гриба. На поверхні бульб з'являлись рожеві, кремово-жовті подушечки. Визначення здатності до токсиноутворення у виділених штамів показало, що фільтрати усіх досліджуваних культур мали фітотоксичну активність по відношенню до рослин картоплі, вирощених *in vitro*. Культуральні фільтрати цих патогенів викликали м'якшення тканини здорових бульб картоплі, що свідчить про наявність активних пектиназ.

У збудника *F. oxysporum* макроконідії утворюються в повітряному міцелії, а також в спородохіях або піонотах, серпоподібні, з тонкою оболонкою, з ясно вираженою ніжкою, з 3-5 перетинками. Верхня клітина макроконідії поступово і рівномірно звужується. Розміри конідій з 5 перетинками - 20-65 x 3-5 мкм. Мікроконідій багато. Хламідоспори верхівкові і проміжні. На хворих бульбах повітряний міцелій світло-рожевого кольору, півчато-павутинний.

Макроконідії *F. solani* серпоподібною форми, еліптично зігнуті, з короткою звуженою і тупою верхівкою, з ніжкою чи сосочком у основі. Клітини мають 3-5 перетинок. Розміри конідій з трьома перетинками - 30-45 x 4,5-5,5 мкм. Утворюються вони в повітряному міцелії, спородохіях і піонотах. На ураженій тканині міцелій має кремово-жовте забарвлення.

Патогенні штами *F. oxysporum* і *F. solani* були використані для виділення стійких генотипів картоплі методами біотехнології та інбридингу.

3.2. Мокра бактеріальна гниль картоплі.

В результаті проведених досліджень по вивченню біологічних особливостей збудників хвороб, що викликають мокру гниль картоплі, в районах Житомирської області з різним рівнем концентрації радіонуклідів встановлено, що основну роль в розвитку захворювання відіграють штами *Bacillus carotovora* subsp. *atroseptica*, *Bacillus carotovora* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mesentericus* /табл. 2, 3/, що узгоджується з даними Дорожкіна та інш. /1988/.

Таблиця 2. Виділення збудників хвороб з бульб картоплі з ознаками ураження гнилями в Житомирській області, 1991 р.

Пункт обстеження	Захворювання	Збудник	
Радгосп "Україна" Лугинського району	Змішана гниль	1. <i>Erwinia carotovora</i>	
	Мокре гниль	<i>subsp. carotovora</i>	
	Суха фузаріозна гниль	2. <i>Е.с. subsp. atroseptica</i> 3. <i>Fusarium oxysporum</i> 4. <i>Pseudomonas fluorescens</i> 5. <i>Bacillus subtilis</i> (<i>mesentericus</i>)	
Радгосп "Комуніст" Олевського району	Мокре гниль, змішана гниль	1. <i>Е.с. subsp. carotovora</i> 2. <i>P. fluorescens</i> 3. <i>F. solani</i>	
	Колгосп "Перемога" Хростенського району	Мокре гниль	1. <i>Е.с. subsp. carotovora</i> 2. <i>B. subtilis</i>
		Учгосп "Україна" Черняхівського району	Змішана гниль, суха фузаріозна гниль

Таблиця 3. Вилловий склад збулників хвороб, виділених з бульб картоплі, уражених гнилями

№ № п.п.	Збульник хвороби	Виділено штамів									
		сильновіру- лентних		середньові- рулентних		слабовіру- лентних		всього		втратили па- тогенність	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>	5	100	-	-	-	-	5	22,7	-	-
2.	<i>E. c.</i> subsp. <i>carotovo- ra</i>	1	16,7	1	16,7	1	16,7	6	27,3	3	22,2
3.	<i>Pseudomonas fluo- rescens</i>	1	11,1	1	11,1	5	55,0	9	40,9	2	22,2
4.	<i>Bacillus mesenteri- cus</i>	-	-	1	50,1	1	50,0	2	9,1	-	-
5.	<i>Erwinia carotovora</i>	5	100	-	-	-	-	5	22,7	-	-
6.	<i>Erwinia carotovora</i>	1	16,7	1	16,7	1	16,7	6	27,3	3	22,2

Перевірявши патогенність шляхом зараження пластирів картоплі сприйнятливого сорту Незабудка, встановили, що всі виділені ізоляти відносились до числа вірулентних і авірулентних штамів. Необхідно відмітити, що справжні патогени в чистій культурі виділялись в початковій стадії захворювання, а на пізній, коли вся бульба охоплена гниллю, - сепрофітні види.

Патогенними для культури картоплі були 47 ізолятів, з них - 19 сильнопатогенних, 11 - середньпатогенних і 15 - слабопатогенних. Біохімічні властивості вивчали у 22 вірулентних штамів, частина з яких втратила патогенність при зберіганні культури /табл.3/.

Отже, із хворих бульб в основному виділялись бактерії родів *Erwinia* і *Pseudomonas*. Результати вивчення морфологічних, культуральних, біохімічних і вірулентних ознак штамів роду *Erwinia* дозволяють ідентифікувати їх як *E. c. subsp. carotovora* і *E. c. subsp. atroseptica* /табл.2/.

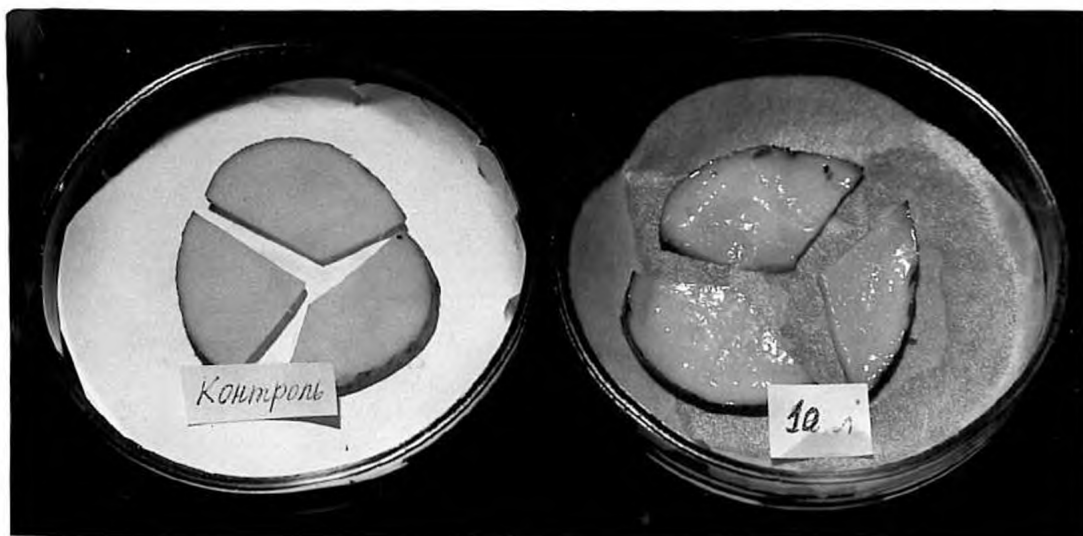
Всі ізоляти з різним ступенем вірулентності викликали на бульбах картоплі один тип ураження - м'яку гниль, яке обумовлене здатністю збудників мацерувати рослинну тканину /мал.1/. При штучному зараженні пластирів цими штамми розвивалась гниль темно-коричневого і білуватого-кремового забарвлення /мал.2/.

3.1. Біологія *Erwinia carotovora subsp. carotovora* і *E. c. subsp. atroseptica*.

Клітини ізолятів *E. c. subsp. carotovora*, виділені з уражених бульб картоплі, це грамнегативні, рухливі, короткі /до коновидних/ палички з закругленими кінцями. Розмір клітин, вирощених на протязі доби на картопляному агарі /КА/, складає від 0,5-1 x 0,7-2,5 мкм. Розташовуються вони в маску поодинокі, парами або ланцюжками /мал.3/. На КА утворюють сірватог-



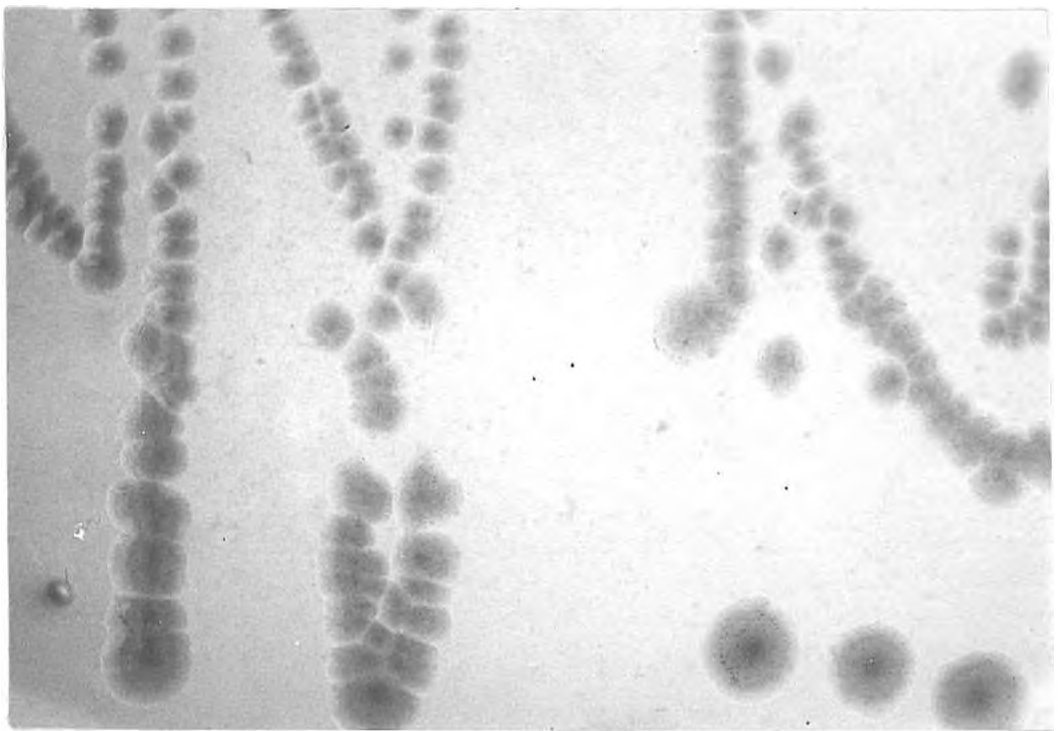
Мал.1. Результат штучного зараження бульб картоплі *E. c. subsp. carotovoraga* шт.10. Сорт Незабудка, облік на 5-ту добу.



Мал.2. Мацерація пластирів картоплі під дією бактерій *E. c. subsp. carotovoraga*, облік через 24 години після зараження.



Мал.3. Морфологія клітин *E. c. subsp. carotovora*
шт.10 x1000



Мал.4. Колонії *E. c. subsp. carotovora* шт.10
на КА на 4-у добу.

білі, вицуплі, напівпрозорі в прохідному світлі колонії, з конусовидним центром і рівним краєм. З віком край колонії стає горбчатим і може бути відділений від центральної частини поглибленням. Іноді спостерігається дисоціація культур: утворюються одночасно як колонії з рівним краєм, так і з нерівним, горбчатим. На КА колонії мають перламутровий блиск /табл.4/. На м'ясо-пептонному агарі /МПА/ вони гомогенні, більш прозорі, ніж на КА, гладенькі, з рівними краями. На МПА утворюють рівномірну калемуть, кільце, осад. Індол не утворюють, нітрати редукують. Під їх дією зсідвається молоко.

E. c. subsp. carotovora використовують галактузу з утворенням кислоти, в'язлі і газу, а також такі речовини /досліджено в аеробних умовах/: лактозу, цукрозу, трегалозу, маніт, мальтозу. Відмічена штамова неоднорідність *E. c. subsp. carotovora* по відношенню здатності розріджувати желатину і використовувати сорбіт як джерело вуглецевого живлення /табл.4/, що відповідає деяким літературним даним /Dye, 1968; Кабашня, Гвоздяк, 1982/. У визначнику Bergey /1984/ ці тести позитивні.

Більшість штамів не ферментувало дульцит з утворенням кислоти, не спостерігалось утворення сірководню /табл.4/. Штами *E. c. subsp. carotovora* мають активні протопептинази /табл.5/, в них відсутня оксидозна активність.

E. c. subsp. carotovora - збудник гнилі багатьох рослин, нерідко викликає також судинні і паренхіметозні захворювання /Королева, Силоренко, 1981/.

Штами *E. c. subsp. atroseptica* за культуральними і біохімічними властивостями схожі з *E. c. subsp. carotovora*. Основна відмінність - відсутність росту при 36°C, газоутворення на мальтозі.

Таблиця 4. Біохімічні властивості *Erwinia carotovora*
subsp. carotovora.

Диференціальні тести	Ізляти, виділені нами	По Bergey's 1984
1	2	3
Газ із глюкози	-	-
Восприйма як джерело вуглецю:		
глюкози /аеробно, анаеробно/	+	+
лактози, цукрози, трегалози, маніту	x	+
дульциту	x	-
адоніту	x	-
сорбіту	x	+
мальтози	+	-
інозиту	x	x
Розрідження желатину	x	+
Молока:		
пептонізація	-	
зсівання	+	
Утворення:		
сірководню	x	+
інлолу	-	-
оксидази	-	-
Редукція нітратів	+	+
Утворення дифундуючого пігменту на МІБ, КА	-	-
Забарвлення по Граму	-	-
Колір колоній	c	c
Рухливість	+	+
Вірулентність на картоплі	+	+
Ріст при 36°C	+	

Примітки: "+" - наявність ознаки; "-" - відсутність ознаки;
"x" - варіабельність ознаки; "c" - сірий колір;
пусті місця - дані відсутні.

Серед ізолятів роду *Erwinia* окремі штами агресивні, спроможні зберігати цю властивість на протязі тривалого часу /2 роки/: 3лп, 36лп, Іо, 92л, 63л, 36лпв. Вони викликали 100% згнивання пластирів картоплі через 24 години після їх штучного зараження /мал.2/. Ці штами /за виключенням Іо/ виділено із зразків, відібраних в Лугинському районі, які склали 37% від загальної кількості досліджуваних, а загальне число сильнопатогенних штамів, що не втратили агресивності через 2 роки зберігання культури, 85%. Не виключено, що високий вміст радіонуклідів в ґрунті активізує пектолітичні ферменти бактерій.



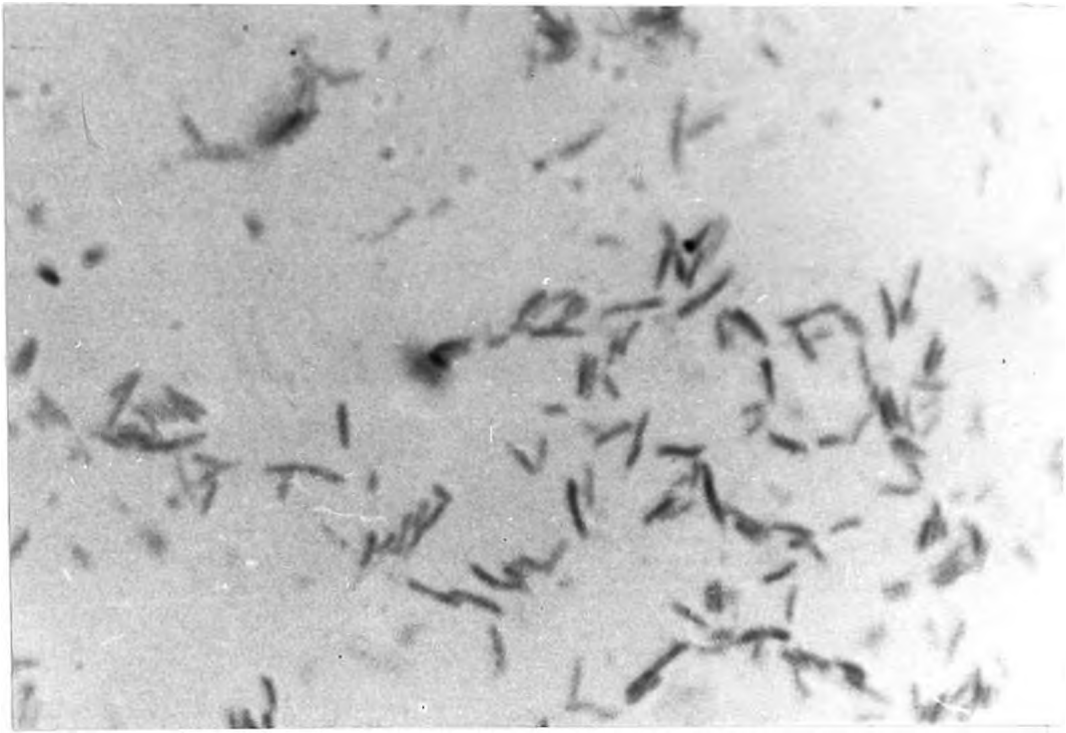
Мал.5. Результат штучного зараження пластирів картоплі *E. c. subsp. atrosepatica* шт.92 л. Сорт Зерено, облік через 24 години після зараження.

3.2. Біологія *Pseudomonas fluorescens*.

В захворюванні бульб мокрою гниллю вирішальну роль відіграють бактерії роду *Erwinia*; штами родів *Pseudomonas*, *Bacillus* здатні також викликати симптоми захворювання. Серед досліджуваних ізолятів ідентифіковано 9 представників виду *Pseudomonas fluorescens* /табл.5/. Це поліморфні палички з закругленими кінцями розміром 0,8-1х1,5 - 3 мкм, розташовані поодинокі, парами, ланцюжками /мал.6/. Вони утворюють на КА колонії сірувато-білого кольору, випуклі, напівпрозорі в прохідному світлі з підвищеним ущільненим центром і нерівним краєм. Бактерії флуоресцують в бульоні, желатині, молоці, не утворюють левець, не ростуть при 42° /табл.5/. Вони споживають глюкозу в аеробних умовах і не використовують її анаеробно /табл.5/. Бактерії роду *Pseudomonas* викликають в більшості випадків тверді гнилі бульб, але вірулентні штами мають протеїнази, що розщеплюють рослинні тканини /мал.7/. *P. fluorescens* менш агресивні збудники гнилі ніж *E. carotovora*. Деякі ізоляти з моменту виділення були сильновірулентними /23л, 19л/, та після двох років зберігання культури проявили лише слабкопатогенні властивості. Штам 25л11 не втратив агресивності на протязі двох років.

3.3. Біологія *Bacillus mesentericus*.

Клітини бактерій являють собою короткі, диспоровані, малорухомі палички, що розташовуються в субстраті поодинокі, парами або ланцюжками /мал.8/. Колонії їх на КА гладенькі, блискучі, непрозорі, світло-жовтого кольору, слизуваті, з рівними краями.



Мал.6. Морфологія *P. fluorescens* шт.25 діл x 1800.



Мал.7. Розм'якшення пластирів кертоплі під дією *P. fluorescens* шт.25 діл. Облік через 24 години після зараження.

Таблиця 5. Біологічні властивості *Pseudomonas fluorescens*

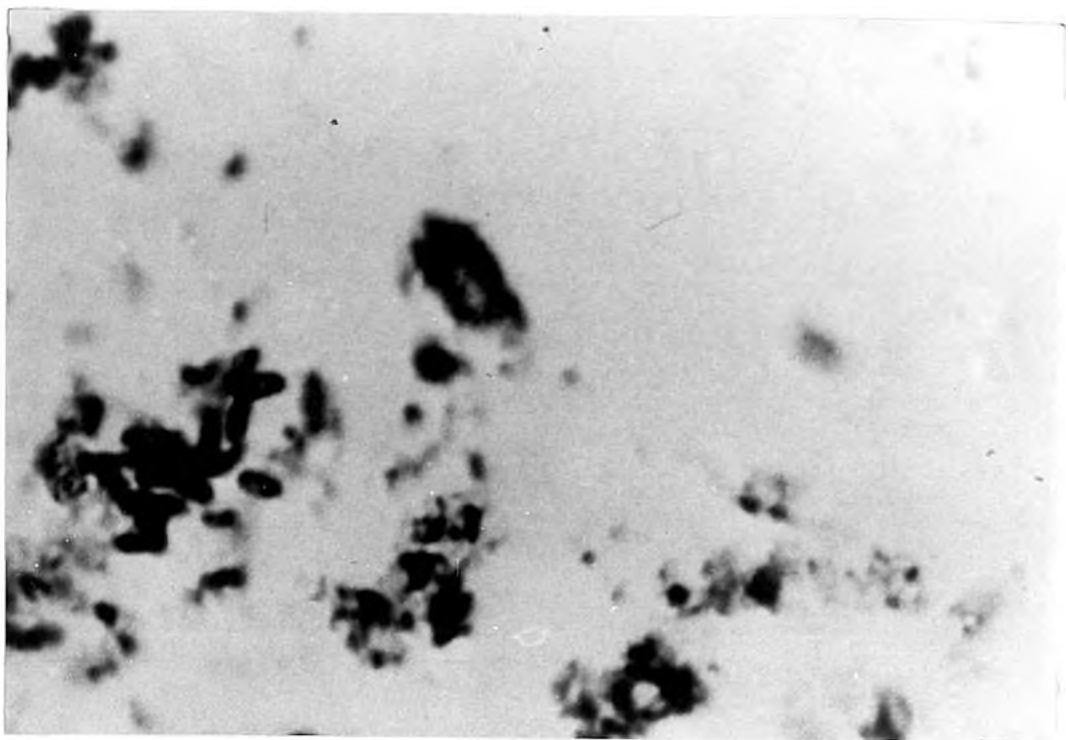
Лиференційні тести	Ізоляти, виділені нами	По Bergey's, 1984				
		рр. I	рр. II	рр. III	рр. IV	рр. V
1	2	3	4	5	6	7
Засвоєння як джерело вуглецю:						
глюкози аеробно	+	+	+	+	+	+
ГЛЮКОЗИ анаеробно	-	-	-	-	-	-
лактози	+	-	-	-	-	-
мальтози	+	-	-	-	-	-
цукрози	x	+	+	-	+	x
маніту	+	+	+	x	+	x
дульциту	x					
сорбіту	+	+	+	x	+	x
елоніту	x	+	-	x	-	x
інозиту	+	x	+	x	+	x
Молске:						
пептонізація	+					
зсідання	-					
Утворення сірководню						
ундолю	-	-	-	-	-	-
оксидази	+	+	+	+	+	+
левану	-	+	+	-	+	-
Редуція нітратів	-	x	x	x	x	x
Утворення флуорескуючого дифундуючого пігменту в МІБ						
картопляному агарі	+	+	+	+	+	+
картопляному агарі	-	-	-	-	-	-
Забарвлення по Граму						
Колір колоній	c	c	c	c	c	c
Рухливість	+	+	+	+	+	+
Вірулентність на картоплі						
Ріст при 42°C	x					
	-					

Бактерії добре розмножуються на МД з додаванням 5% цукрози. Зокрема, на середовищі Вларка набувають зеленувато-жовтого забарвлення. Для вуглецевого живлення бактерії *Bac. mesentericus* використовують лише арабінозу, ксилозу, галактозу, глюкозу, манозу, фруктозу, цукрозу, лактозу /табл.6/.

Таблиця 6. Біохімічні властивості *Bacillus mesentericus*

Властивості	: <i>Bacillus mesentericus</i>
	2
Засвоєння як джерело вуглецю:	
ксилози, галактози	+
арабінози	+
глюкози та манози	+
фруктози	+
лактози	+
цукрози	+
мальтози	-
сорбіту, маніту, дульциту і соліцину	-
Утворення:	
індолу, сірководню	-
аміаку	+
оксидази і ліцитинази	+
ергініндігідролези	-
Редукція нітратів	-
Пептонізація молока	+
Аспарагін	+
Крохмаль	+
Забарвлення по Граму	+
Мацерція тканини бульб картплі	+

Таким чином, при вивченні в Автоширській області захворювання типу шлункової тифу виділені бактерії, ідентифіковані нами на основі їх біологічних властивостей як *E. c. subsp. carotovora*, *E. c. subsp. atroseptica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mesentericus*. В результаті визначення вірулентності отриманих штамів найвищу пектолitiчну активність проявили ізоляти: 3лп, 36лп, 10, 92л, 63л, 36лпа, 25лп. Вони викликали за добу 100%-80% мадеррацію пластирів бумажного картону сортів, занесених до державного реєстру України: Незабудка, Каскад поліський, Бов, Луговська, Гатчинська, Світлана Київський, Пролісок, Зарво, Гарт, Ромашка, Сімвол, Уитомирська, Бородинська рожева. Виділені штами доцільно використовувати в селекційних установах при цілеспрямованій селекції картону на стійкість до мокрої гнилі.



Мал. 5. Морфологія клітин *Bacillus mesentericus*
вт. 50а x 1400.

РОЗДІЛ 4. БІОХІМІЧНІ ФАКТОРИ СТІЙКОСТІ СОРТОВИДІВ КАРТОПЛІ ДО МОКРОЇ ГНИЛІ

4.1. Роль окисно-відновних ферментів в стійкості сортів картоплі до мокрої гнилі.

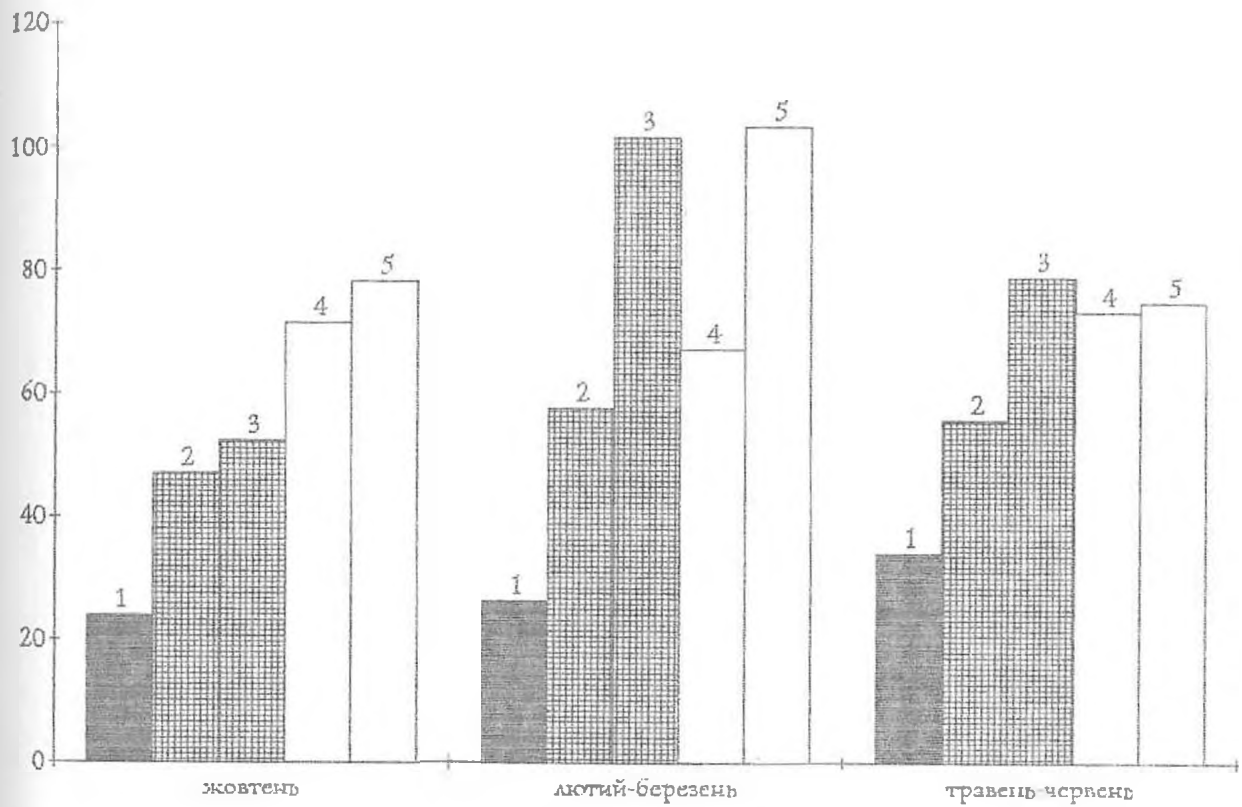
Результати досліджень показали, що активність поліфенол-оксидази в бульбах картоплі нестійкого сорту /Каскал поліський - 28,35 од./ була значно нижчою, ніж у середньостійких /Луговська - 52,86 од.; Зов - 77,32 од./ і відносно стійких /Гатчинська - 82,67 од.; Світанок київський - 70,52 од./табл.7/. Така закономірність спостерігалась в різні періоди зберігання картоплі /мел.9/. Пряма залежність між активністю ферменту і ступенем резистентності сортів картоплі до мокрої гнилі відмічена восени /стан органічного спокою бульб/ /мел.9/.

Таблиця 7. Активність поліфенолоксидази в бульбах картоплі, у відносних одиницях/ І г речовини.

Сорт	: Група стиглості	Ступінь стійкості до мокрої гнилі	1991-1992 р.р.	1992-1993 р.р.	Середнє
Каскал поліський	ранньо-стиглий	нестійкий	18,12	38,59	28,35
Луговська	середньо-стиглий	середньо-стійкий	42,42	63,28	52,86
Зов	ранньо-стиглий	-"-	53,47	101,19	77,32
Світанок київський	середньо-ранній	відносно стійкий	46,25	94,79	70,52
Гатчинська	середньо-стиглий	-"-	59,87	105,47	82,67
$S \bar{x} \%$			2,80	3,20	
$MP_{0.5}$			2,52	3,31	

Примітка: Відносні одиниці - мікромоль аскорбінової кислоти, окисленої на протязі 1 хвилини ферментом, який міститься в 1 г досліджуваної речовини.

Активність
поліфенолоксидази
(од.)



Мал.9. Динаміка активності поліфенолоксидази в бульбах картоплі сортів різного ступеня стійкості проти мокрої гнилі за період зберігання (1991-1993 рр.)

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

Біологічна суть стриманої закономірності пояснюється функцією ферменту: окислення поліфенолів. Продукти окислення останніх здатні інактивувати легітроденази, целюлази, пектинази, пектогенів /основний фермент бактерій роду *Erwinia* – збудників мокрої гнилі – пектинтрансцеліміназа/, інгібувати ріст грибів, розділяти процеси окислення і фосфорилування, приймати участь у створенні механічних бар'єрів, процесах лихання /Ride, 1983; Farkas, Kiraly, 1982/.

Утворення механічних бар'єрів – важлива захисна реакція рослини проти розповсюдження інфекції, основне значення в якій має синтез виключно стійких до дії мікроорганізмів речовин – суберину і лігніну, що стимулюється орто-дигідрофенолами, які є субстратом дії поліфенолоксидази /Рубин и др., 1975/. При цьому утворюються хімічно-активні речовини – кінони, які, полімеризуючись, насичують тканини і створюють механічну перешкоду на шляху проникнення бактерій.

Крім того, кінони здатні інактивувати ферменти пектогенів, викликаючи їх денатурацію і осадження /Lyon, 1989/, реагувати з функціональними групуваннями амінокислот / NH_2^- , OH^- , H^- і т.д./, білків, в результаті чого останні можуть стати недоступними для паразита.

Поліфенолоксидаза відіграє певну роль в процесах лихання /Кретович, 1986/, яким належить важливе функція в захисних реакціях рослин проти шкідливих мікроорганізмів: утворення і запасання енергії окислення, необхідної для синтезу різних антибіотичних сполук, постачання проміжних сполук-вихідного матеріалу для біосинтетичних процесів, включаючи утворення різних захисних речовин.

Активність ферменту в бульбах картоплі урожаю 1992 року була значно вища у порівнянні з 1991 роком /табл.7/. Згідно з

літературними даними, опосередковано активність поліфенолоксидази на 50% залежить від погодних умов /Кастальєва, 1976/.

Аналіз заражених мокрою гниллю бульб картоплі не дав однозначної відповіді. Підвищення активності поліфенолоксидази в групі стійких і середньостійких сортів і зниження її у нестійкого сорту спостерігалось лише в літній період /табл.8, мал.9/.

Таблиця 8. Активність поліфенолоксидази в заражених мокрою гниллю бульбах картоплі, відносні одиниці /1 г речовини /1991-1993 рр/.

Сорт	Ступінь стійкості до мокрої гнилі	Жовтень	лютий-березень	травень-червень	середнє
Каскад поліський	нестійкий	52,50	27,15	19,00	32,88
Луговська	середньостійкий	61,00	51,88	68,00	60,29
Зов	"	67,50	90,50	100,00	86,00
Світанок київський	відносно стійкий	64,37	70,63	76,00	70,33
Гатчинська	"	84,06	70,00	98,00	84,02
\bar{S}		2,50	3,20	2,80	
МРС		3,60	4,45	3,78	

Можливо, саме на останніх етапах зберігання картоплі вступає в дію цей захисний механізм - підвищення активності поліфенолоксидази. Згідно з літературними даними, тварини різних рослин, інфіковані вірусами, бактеріями або грибами, характеризуються підвищенням поліфенолоксидазної активності /Bollard, Matthews, 1966; Farkas, Kiraly, 1962/. Є відомості про підвищення активності ферменту у стійких сортів

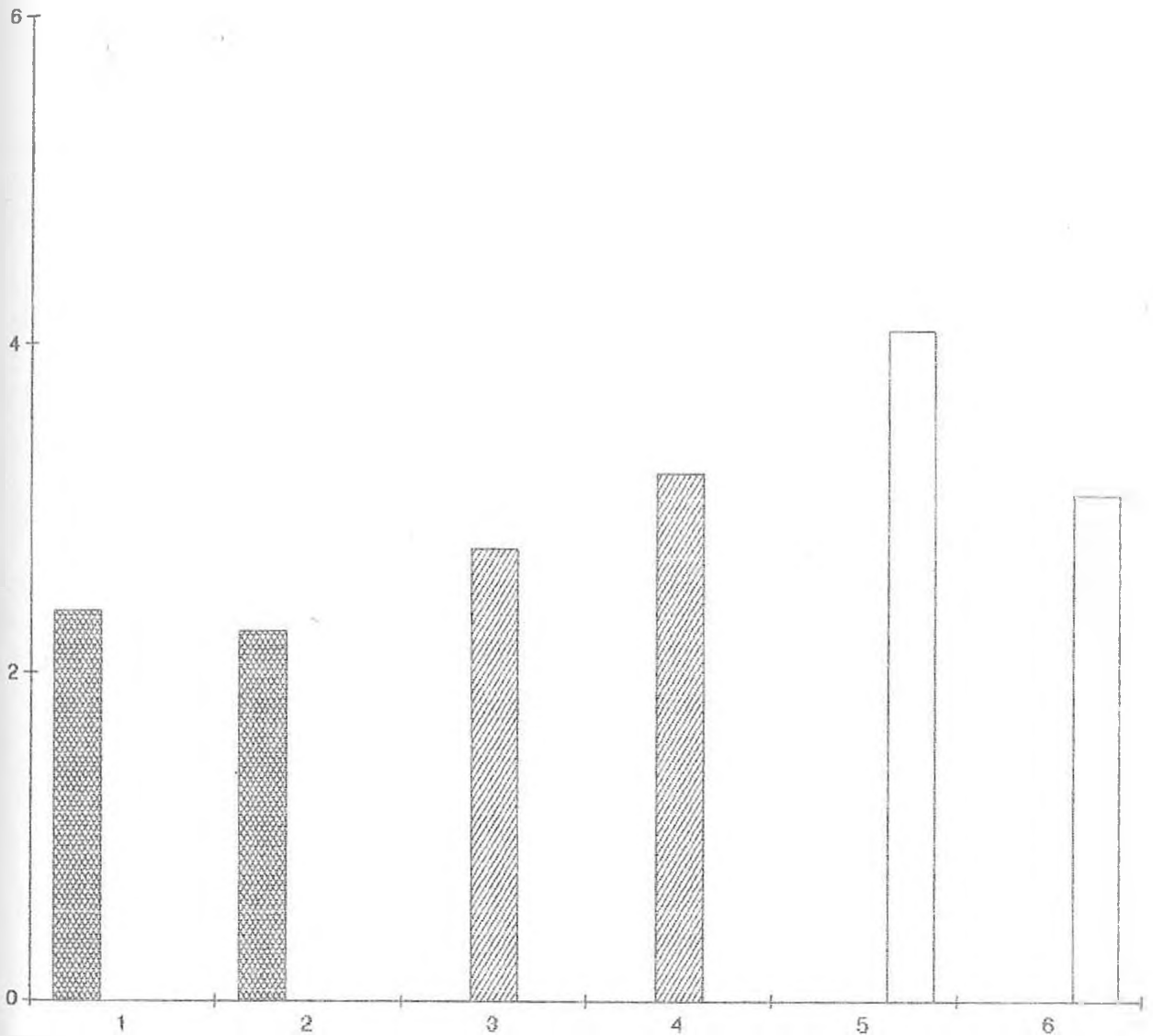
картоплі при зараженні фітофторою /Рубини и др., 1975/. Осмун-
вання некрозу в тканинах стійких до стеблосвої іржі пшениці
супроводжувалось також підвищенням активності поліфенолокси-
дази /Митриева, 1971/.

Взаємозв'язку між активністю пероксидази в здорових буль-
бах картоплі і ступенем стійкості сортів до мокрої гнилі вста-
новити не вдалось /табл.9/, але в заражених бульбах така за-
кономірність спостерігалась /мал.10/. Крім того, у резистент-
них до захворювання сортів, на відміну від сприйнятливих, при
зараженні відбувалось значне підвищення активності ферменту
/Світанок київський - від 2,05 од. до 3,00 од.; Гатчинська -
від 2,23 од. до 3,30 од./ /мал.10, табл.9/, що, очевидно, по-
в'язано з його синтезом *de novo* /Аксенова, Кожанова, 1971/ і
є свідченням значної ролі в процесах стійкості до захворюван-
ня.

Таблиця 9. Активність пероксидази в бульбах картоплі,
у відносних одиницях /1 г речовини
/1991-1993 рр./.

Сорт	Група стиглос-ті	Ступінь стійкості до мокрої гнилі	1991-1992 рр.	1992-1993 рр.	Серед-нє
Каспел поліський	ранньо-стиглий	сприйнятливий	3,95	1,19	2,57
Не забулка		"	4,15	0,91	2,57
Луговська	середньо-стиглий	середньостійкий	4,48	1,02	2,75
Зов	ранньо-стиглий	"	4,28	1,04	2,66
Гатчинська	середньо-стиглий	відносно стійкий	3,53	0,92	2,23
Світанок київський	середньо-ранній	"	3,15	0,95	2,05
$\Sigma \bar{x}$			3,2	2,8	
$MP_{0,5}$			0,41	0,21	

Активність
пероксидази (од.)



Мал.10. Активність пероксидази в заражених мокрою гниллю бульбах картоплі сортів різного ступеня стійкості за період зберігання (1991-1993 рр.).

[xxxx]	Нестійкі сорти :	1. Каскад поліський 2. Незабудка
[////]	Середньостійкі сорти:	3. Луговська 4. Зов
[]	Відносно стійкі:	5. Гатчинська 6. Світанок київський

Примітка: Відносні одиниці – мікромоль гваякола, окисленого на протязі 1 хвилини ферментом, який міститься в 1 г досліджуваної речовини.

Різниця між імунними сортами картоплі та нестійкими – в захисній реакції на патоген, в даному випадку активуванні пероксидази.

Один із механізмів приведення в дію імунної системи зводиться до створення бар'єрів на шляху проникнення патогенів, і пероксидаза приймає опосередковано в цьому участь, окислюючи поліфеноли до хімічно-активних речовин – кінонів, які, полімеризуючись до темно забарвлених смолополібних речовин, утворюють непронику для бактерій перешколу.

Крім того, пероксидаза через кінони інактивує ферменти патогена, викликаючи їх денатурацію і осадження і, таким чином, в певній мірі визначає швидкість його розповсюдження в заражених тканинах.

Посилення активності фермента призводить також до активування процесів дихання /Артевич, 1986/, які є захисною реакцією рослини на проникнення шкідливих організмів, що обумовлено різноманітними функціями цього процесу в живій клітині: утворення і запасання енергії окислення, необхідної для синтезу різних антибіотичних сполук, постачання проміжних сполук – вихідного матеріалу для біосинтетичних процесів, включаючи утворення захисних речовин. Уражені тканини дихають значно інтенсивніше здорових, причому рівень активування вищий у стійких рослин /Рубини и др., 1975/. Посилення дихання у випадку зараження стійких сортів пов'язане із здатністю перебувати окисну систему, це результат фізіолого-біохімічних змін в клітинах рослини – господаря, викликаних інфекцією.

Аналогічну закономірність – підвищення активності пероксидази при зараженні бульб картоплі іншими шкідливими організмами відмічали ряд дослідників /De Kock et al., 1979; Fehrman and Dimond, 1967; Marañón, 1973/, на інших культурах /Reuveni, Karchi, 1990; Hammerschmidt, Kuc, 1982; Akhtar, Garraway, 1987/. Таким чином, активування окисно-відновних процесів – це універсальний захисний механізм рослин у відповідь на проникнення патогенів і з одним із факторів, які визначають полігенну або польову стійкість.

Активність ферменту не була стабільною на протязі зберігання картоплі – спостерігалась тенденція до її зниження /табл.10/.

Таблиця 10. Динаміка активності пероксидази в бульбах картоплі на протязі зберігання, у відносних одиницях /1 г речовини /1991–1993 рр/.

Сорт	Ступінь стійкості до мокрої гнилі	жовтень	лютий-березень	травень-червень
Каскал поліський	сприйнятливий	4,30	2,20	1,29
Незабудка	—	4,17	1,97	1,62
Дуговська	середньостійкий	4,6	2,27	1,4
Зов	—	4,67	1,77	1,6
Гетчинська	відносно стійкий	3,35	2,16	1,2
Світлокиївський	—	2,87	2,01	1,3
S \bar{x}		2,8	2,2	1,1
HP _{0,5}		0,33	0,21	0,25

Імунність сортів картоплі нестійна, вона змінюється під час зберігання і не визначається лише наявністю тих чи інших сполук, а залежить від фізіологічного стану самих бульб /Кораблева и др., 1969/.

Активність ферменту значно відрізнялась по роках і була вищою в бульбах уржаю 1991 р./табл.9/, що обумовлено погодними умовами. Поряд з генетичними факторами на резистентність картоплі впливають і фактори навколишнього середовища - добові температури, вологість ґрунту в період вегетації /Горленко, 1973/. Літо 1992 року було посушливим, з малою кількістю опадів, в той час як умови вегетаційного періоду 1991 року характеризувались підвищеною вологістю і сприяли розвитку мокрої гнилі.

Активність пероксидази залежить від рН ґрунту /De Kock *et al.*, 1979/. Можливо, цей показник також обумовив значну варіабельність результатів в досліджувані роки.

4.2. Вплив фенольних сполук на резистентність сортів картоплі до мокрої гнилі.

На основі визначення величини рухомості на хроматограмах в різних розчинниках при двохірній хроматографії, з допомогою УФ спектроскопічного аналізу та оброблення хроматограм специфічними для фенольних сполук барвниками встановили ідентичність фенольних речовин бульб картоплі з аутентичними кверцитрином, хлорогеновою кислотою, катехіном /табл.11/.

В анатомо-морфологічному аспекті бульби являють собою видозмінене стебло і відповідну тканинну структуру. Нашу увагу з досліджуваних питань привернули покривні та запасючі тканини.

Одна з головних функцій покривних тканин - захист від

Таблиця II. Ідентифікація солов'ячих сполук в бульбах картоплі.

Показники	Сливоволи		Оксикоричні кислоти		Катехіни	
	Пляма № 1	Аутич-тичний кверці-трин	Пляма № 2	Аутич-тичне хлоро-генова кислота	Пляма № 3	Аутич-тичний кате-хін
Значення <i>Rf</i> в системах: н-БОВ	0,60	0,81	0,82	0,80	0,70	0,91
Р ₂ сіткова кислота	0,81	0,82	0,59	0,60	0,82	0,81
Флуоресценція в УС світлі	ж	ж	г	г	-	-
Тем + пари аміака	ж	ж-з	з	з	-	-
Барвники: ванілі-новий реактив	-	-	-	-	ч	ч
п-тслюоксультро-кислота	-	-	-	-	к	к
$FeCl_3 + K_3Fe(CN)_6$	-	-	-	-	с	с
УС-спектр поглинання макс, нмк: розчин в абсолютному етанолі	261	260	325	374	280	280

Примітка: Забарвлення: ж-жовте, ж-з - жовто-зелене, г-голубе, ч-червоне, к-коричнєве, с-сіне.

несприятливих зовнішніх факторів, в тому числі патогенів, що викликають мору тварин.

Епідерміс молодих бульб з часом змінюється вторинною багатоваровою тканиною - перидермою, що складається з корки, цело-зову, епідерми. Стінки клітин корки насичені суберинем, який є добрим захистом від фізичних уражень, мікроорганізмів, хімічних речовин. До його складу входять поліестери жирних кислот і фенольні сполуки.

В перидермі бульб переважають оксикоричні кислоти /565 мг./, катехіни /558 мг./, які в значній мірі обумовлюють її властивості.

Порівнюючи вміст фенольних сполук перидерми та основної запасної паренхіми, слід відмітити, що в першій - сума їх у 33 рази була більшою, оксикоричних кислот - у 42 рази, катехінів - у 29 разів і флавонолів - у 20 разів /табл.12,13/.

Такі контрасти обумовлені роллю фенольних сполук в творенні захисних якостей тварини. Присутність їх в паренхімі пов'язана з провідними тканинами, де вони можуть приймати участь у формуванні їх механічних властивостей /Бленде, 1979/.

Таблиця 12. Вміст сполук фенольної природи в перидермі /шкірці/ бульб картоплі, мг% на сиру масу /1991-1992 рр./.

Сорт	Ступінь резистентності до мокрої гнилі	Флавоноли	Оксикоричні к-ти	Катехіни	Сума
Незабудка	нестійкий	120	450	630	1100
Каскад польський	"	122	440	480	1042
Лугоська	середньостійкий	130	600	580	1330
Зов	"	140	540	570	1250
Світлокиївський	відносно стійкий	132	680	620	1432
Г'ятчинська	"	130	580	570	1400
Середнє по сортах		133	565	558	1262
$S_{\bar{x}}$		3,8	4,1	4,5	4,2
$MP_{0,5}$		15,4	43,2	37,5	72,4

Антимікробний механізм дії фенольних сполук багатосторонній: це створення хінонових та поліфенольних бар'єрів на шляху розповсюдження патогена /*Kide*, 1983/, інгібування росту бактерій /*Lyon*, 1989/, інактивація ферментів патогена /*Farkas, Kiraly*, 1982/.

Згідно теорії П.М.Бизнуеля /1968/, при взаємодії радикалів /фенолів/ з центрами ферментів та зміні спорідненості коферменту до фермента відбувається зниження їх активності. Фенольні сполуки, що володіють екстрагенною активністю, інгібують НАДН₂ оксидазу, НАДН₂ цитохром С - редуктазу, цитохром-оксидазу. При дії в радикальній формі вони гальмують біосинтез білків і нуклеїнових кислот.

Вміст фенольних сполук в перидермі і паренхімі залежить від сорту картоплі і пов'язаний із ступенем його стійкості до гнилі. Так, у сприйнятливих сортів: Незабудка, Каскад поліський сума фенольних сполук становила 1100 і 1042 мг%, а у відносно стійких: Світанок київський, Гатчинська - 1452 і 1400 мг%; середньостійких: Луговська, Зов - 1330 і 1250 мг%, відповідно. Така ж закономірність спостерігалась з індивідуальними сполуками: флавонолами, оксикоричними кислотами, катехінами /табл.12/.

Аналогічна залежність виявлена і в паренхімі. В Незабудці, Каскаді поліському сума фенольних сполук складала 29 і 27 мг%, тоді як у Світанка київського, Гатчинської - 49 і 48 мг%, відповідно. Такий же взаємозв'язок встановлено між стійкістю сортів і вмістом катехінів, оксикоричних кислот, флавонолів /табл.13/.

Бульби картоплі, відлілені від материнських рослин, являють собою генетично індивідуальний організм, здатний відтворити собі подібних. Але від осені до весни йому потрібно пройти

Таблиця Із. Вміст сполук фенольної природи в паренхімі бульб картоплі, в мг% на сиру масу /1991-1993 рр./.

Сорт	Ступінь резистентності до мокрої гнилі	Флавоноли	Оксикоричні кислоти	Катехини	Сума
Незбудна	нестійкий	4	10	15	29
Каскад польський	—	4	9	14	27
Луговська	середньостійкий	5	14	19	38
Зов	—	4	13	20	37
Світанок Київський	відносно стійкий	8	17	24	49
Гатчинська	—	7	16	23	46
Середня по сортах	—	5,3	13,5	19,2	38,0
$\Sigma \bar{x}$	—	4,1	3,7	3,9	4,2
$\Pi P_{0,5}$	—	1,5	2,5	2,7	6,5

ряд етапів фізіолого-біохімічних перетворень, що призведуть до зматності вегетативно розмножуватись. Це здійснюється в процесі зберігання, коли бульби проходять стан органічного і вимушеного спокою, які змінюються активним ростом. Проте протягом цього часу потрібно захищатися, вистояти в боротьбі з патогенами.

Стійкість визначається фізіологічним станом бульб і не однакою в часі. Відповідно змінюються фактори, що її обумовлюють, в тому числі і вміст фенольних сполук.

В наших дослідженнях при зберіганні бульб вміст флавонолів і оксикоричних кислот залишався без суттєвих змін: так, в жовтні місяці /органічний спокій/ в середньому на сортозразок їх було 8,4 і 25,8 мг%, відповідно; в червні /активний ріст

кафеолів з вічок/ - 7,9 і 26,7 мг/ /табл.14/. В період вимушеного спокою /лютий місяць/ вони залишались на тому ж рівні; кількість катехінів збільшувалась: 28,9 мг% - в жовтні; 36,9 мг% - в лютому; 43,5 мг% - в червні. Сума сполук фенольної природи зросла від 63,2 до 78,1 мг% на сортозразок /табл.14/.

Такий характер змін пов'язаний з фізіолого-біохімічними процесами, що відбуваються в бульбах. Для періоду спокою властива знижена інтенсивність життєвого рівня, механізм якої іде через полімеризацію органічних структур, де фенольні сполуки, зокрема катехіни, можуть відігравати інкрустаційну роль в утворенні перидерми і не екстрагуються етанолом, який застосовувався в методиці.

Вихід із стану спокою супроводжується деполімеризацією, вивільненням сполук в перидермі, що й призводить до збільшення показників. Подібне явище спостерігалось з дерев'янистими культурами /Бленда, 1978/.

При активному рості інтенсифікуються окисно-відновні процеси в основному обміні. Одночасно проходить накопичення фенольних сполук у вторинному обміні і, в першу чергу, катехінів в перидермі, як кінцевих метаболітів /Шаргна, 1977/. Це з загальний механізм, пов'язаний зі спокоєм та переходом до активного росту.

Постійний рівень флавонолів і оксиноричних кислот, зв'язаною думкою, обумовлений генетично, а надлишки, що утворюються при біосинтезі, метаболізують в інші речовини, можливо і в катехіни. Ряд дослідників робили спроби використати згадані сполуки у таксономії рослин /Bate-Smith, 1966/.

В сортовому розрізі дивергенція сполук фенольної природи має свої особливості.

Так, в бульбах відносно стійких сортів картоплі: Світлочок

Таблиця 14. Динаміка вмісту сполук фенольної природи в бульбах картоплі під час зберігання, мг на сиру масу /1991-1993 рр./.

Сорт	:Ступінь стій- :кості до мок- :рої гнилі	Листопад-листопад				Листопад-березень				Травень-червень			
		флаво- ноли	окси- кори- чні к-ти	като- хіни	сума	флаво- ноли	окси- кори- чні к-ти	като- хіни	сума	флаво- ноли	окси- кори- чні к-ти	като- хіни	сума
Незабудка	нестійкий	6,1	23,1	24,1	53,3	6,3	28,6	37,3	72,2	7,2	24,8	52,1	84,1
Касвал поліський	"	6,2	22,1	23,3	51,6	5,6	26,1	42,4	74,1	6,4	22,4	53,2	82,0
Луговська	середньо- стійкий	8,3	25,9	28,6	62,8	7,3	28,5	33,7	69,5	8,7	22,5	38,7	76,9
Зов	"	8,5	26,2	29,1	63,9	8,4	26,4	35,8	70,6	7,9	27,1	38,1	73,1
Світанок київський	відносно стійкий	11,1	29,2	34,1	74,4	9,5	27,1	39,1	75,7	8,1	24,8	40,8	73,7
Гатчинська	"	10,2	28,3	34,5	73,0	10,1	29,2	33,2	72,5	9,3	25,6	40,1	75,0
В середньому по сорто- зразку		8,4	26,0	28,9	63,2	7,9	27,6	36,9	72,4	7,9	26,7	43,5	78,1
Σ ж% по флавонолах - 3,5; по оксикоричних кислотах - 4,2; по катехінах - 3,9; по сумі - 3,6;													
НР _{0,5} по флавонолах - 1,4; по оксикоричних кислотах - 2,4; по катехінах - 3,2; по сумі - 6,8.													

київський, Гетчинська їх сума складала в період спокою 74,4 і 73 мг%, відповідно; при виході із нього - 75,7 і 72,5 мг%; під час активного росту - 78,7 і 75 мг%. Спостерігались незначні зміни вмісту фенольних сполук протягом періоду зберігання: на 6-3%.

Флавоноли, оксикоричні кислоти дещо зменшились, а катехіни збільшились від 34,1-34,5 до 40,8-40,1 мг% /на 20-16,7/.

У сприйнятливих сортів: Незбудка, Каскад поліський при активному рості сума фенольних сполук варіювала від 53,3-51,6 до 84,1-82 мг% /на 56-58,7/. Флавоноли і оксикоричні кислоти залишилися без змін; катехіни збільшились від 24,1-23,3 до 52,1-53,2 мг% /більше, ніж у 2 рази/ /табл.14/.

У середньостійких: Луговська, Зов в період активного росту їх сума зросла на 22%. Флавоноли, оксикоричні кислоти суттєво не змінилися, катехіни збільшились від 28,6-29,1 мг% до 38,7-38,1 мг%, або на 35-31% /табл.14/.

Виходячи із результатів досліджень, можна констатувати, що зв'язок між стійкістю бульб картоплі до мокрої гнилі і сполуками фенольної природи відбувається в характері динаміки останніх, в першу чергу катехінів. У резистентних сортів, в порівнянні із сприйнятливими, зміни вмісту фенольних сполук в бульбах при зберіганні незначні, середньостійкі сорти займали проміжне положення.

В період спокою у сортів, сприйнятливих до гнилі, фенольних сполук було менше, ніж у відносно стійких: у Незбудки, Каскаду поліського флавоноли складала 6,1 і 6,2 мг%, оксикоричні кислоти - 23,1, 22,1 мг%; катехіни - 24,1, 23,3 мг%, відповідно; у Світланку київського, Гетчинської флавоноли - 11,1 і 10,2 мг%, оксикоричні кислоти - 29,2 і 28,3 мг%, катехіни - 34,1, 34,5 мг%, відповідно. Сума їх у резистентних

сортів була більшою на 21,2 мг% /табл.14/. При визначенні середнього вмісту фенольних сполук за період зберігання в одному сортозразку виявлено, що між сортами різниця незначна /табл.15/. Так, їх сума коливалась від 69,2 мг% у Каскаду поліського до 75,3 мг% у Світанку київського.

Таблиця 15. Вміст сполук фенольної природи в бульбах картоплі за період зберігання на сортозразок, мг% на сиру масу /1991-1993 рр./.

Сорт	: Ступінь стій- : кості до мок- : рої гнилі :	: Флаво- : ноли :	: Оксико- : ричні : кислоти :	: Кете- : хіни :	: Сума
Незабулка	нестійкий	6,5	25,5	37,8	69,9
Вескал по- ліський	"	6,0	23,4	32,6	69,2
Луговська	середньо- стійкий	8,1	27,9	33,6	69,7
Зов	"	8,3	26,6	36,0	70,9
Світанок київський	відносно стійкий	9,4	27,3	38,6	75,3
Гатчинська	"	9,9	27,7	34,9	72,5
В середньому по сортозразку	-	8,0	26,4	36,7	71,3
\bar{Sx}	-	3,9	4,2	3,9	3,6
$HP_{0,5}$	-	1,4	2,4	3,2	6,8

Лений факт схиляє до думки про однакові потенційні, генетично обумовлені видом, можливості синтезу фенольних сполук. Проте сортові особливості вносять свої корективи в часі реалізації запрограмованого.

Таким чином, в бульбах картоплі ідентифіковано сполуки фенольної природи: кверцитрин, хлорогенову кислоту, катехін. Серед них переважали катехіни, оксикоричні кислоти.

Локалізуються досліджувані речовини в основному в перидермі, де, в порівнянні з паренхімою, містилось більше: флавонолів у 26 разів, оксикоричних кислот у 42, катехинів у 29, а їх суми у 38 рази. Сприйнятливі сорти містили їх менше, ніж відносно стійкі як у перидермі, так і в паренхімі.

Динаміка фенольних сполук в процесі зберігання характеризувалось їх збільшенням, в основному за рахунок катехинів, особливо в сприйнятливих сортів, де вони в період активного росту подвоїлись, тоді як у відносно стійких збільшились на 16-20%.

Зв'язок між стійкістю бульб до мокрої гнилі і вмістом в них фенольних сполук спостерігався лише в період спокою.

За період зберігання різниця між сортами по кількості фенольних сполук в одному сортозразку була незначною.

В заражених мокрою гниллю бульбах картоплі відбувалось збільшення фенольних сполук /мол.11, табл.14, 16/: флавонолів - на 25%, оксикоричних кислот - на 29,5%, катехинів - на 33,5%, а їх суми - на 31,2%.

Проникнення збудника мокрої гнилі в тканини картоплі призводить до підвищення інтенсивності фізіолого-біохімічних процесів в первинному і вторинному метаболізмі, збільшення сполук фенольної природи, здатних знешкоджувати дію патогена.

Спостерігалась суттєва різниця між сортами різного ступеня стійкості до гнилі за вмістом досліджуваних сполук. Вищі показники відмічено у відносно стійких: Світанск київський /107 мг%/, Гетчинська /105 мг%/ у порівнянні з нестійкими: Незабудка - 83 мг%, Каскад поліський - 81 мг% /табл.16/. У середньостійких сортів ці показники були проміжними: Луговська - 92 мг%, Зов - 93 мг%. Така закономірність спостерігалась в різні періоди зберігання картоплі /табл.17/.

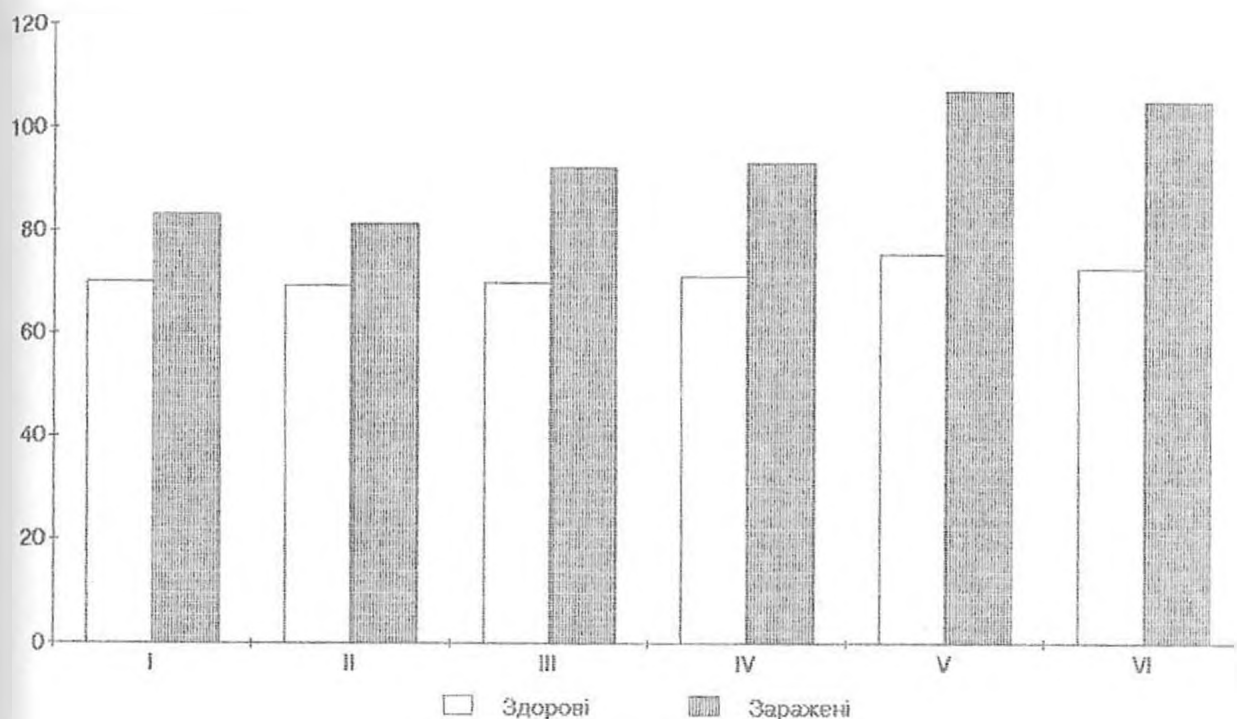
Таблиця 16. Вміст фенольних сполук в заражених мокрою гниллю бульбах картоплі, в мг, на сиру масу /1991-1993 рр./.

Сорт	Резистентність до гнилі	Флавоноли	Оксигоричні кислоти	Катехіни	Сума
Незабука	нестійкий	8	33	42	83
Каскал поліський	—	9	31	41	81
Луговська	середньої стійкості	10	33	49	92
Зов	—	10	33	50	93
Світенок київський	відносно стійкий	12	38	57	107
Готчинська	—	11	39	55	105
В середньому по сортозразку	-	10	34,2	49	93,5
$S_{\bar{x}}$		3,2	2,9	3,1	3,5
$MP_{0,5}$		1,2	2,3	4,1	7,0

Таким чином, вміст фенольних сполук в заражених мокрою гниллю бульбах картоплі є посередкованим показником резистентності сортів картоплі до захворювання.

В заражених мокрою гниллю бульбах картоплі фенольні сполуки збільшувались неоднаково у різних за стійкістю сортів. Максимальне зростання їх концентрації відмічено в групі відносно стійких сортів, мінімальне - у нестійких. Середньостійкі займали проміжне місце. Така закономірність спостерігалась в зимовий та весняно-літній періоди./мал.12/. Восени різниця між сортами була незначною. Так, в лютому-березні в групі відносно резистентних сортів концентрація фенольних сполук збільшилась від 72 мг./зорові бульби/ до 102 мг./заражені/.

Кількість
фенольних сполук
(мг %)



Мал. 11. Вміст фенольних сполук в тканинах здорових та заражених мокрою гниллю бульб картоплі сортів різного ступеня стійкості за період зберігання (1991-1993 рр.)

[xxxx]	Нестійкі сорти :	I. Незабудка
		II. Каскад поліський
[/////]	Середньостійкі сорти:	III . Луговська
		IV. Зов
[]	Відносно стійкі:	V. Світанок київський
		VI. Гатчинська

Таблиця 17. Динаміка вмісту фенольних сполук в заражених морсю гниллю бульбах картоплі при зберіганні, в мг% на сиру масу /1991-1993 рр./.

Сорт	Ступінь стій- кості до мок- рої гнилі	Жовтень			Лютий-березень			Гравень-червень					
		флаво- ноли	окси- корич. к-ти	кате- хіни	Сума	флаво- ноли	окси- корич. к-ти	кате- хіни	Сума	флаво- ноли	окси- корич. к-ти	кате- хіни	Сума
Незабудка	нестійкий	8	26	31	65	9	29	39	77	9	33	65	107
Ласкав по- ліський	"	7	28	32	67	8	28	38	74	10	31	61	102
Луговська	середньо- стійкий	8	32	35	75	9	35	39	83	11	39	68	118
Зов	"	9	30	38	77	10	33	39	82	11	41	68	120
Світанок нівський	відносно стійкий	9	35	44	88	11	38	56	105	12	45	71	128
Гатчинська	"	10	34	41	85	11	37	52	100	12	48	70	130
В середньо- му по сорте- зразку	-	8,5	30,8	36,8	76,2	9,7	33,4	42,8	87,0	10,8	39,5	67,1	117,5
<p>Σ мг по флавонолах - 3,2; по оксикоричних кислотях - 3,7; катехінах - 3,5; сумі - 3,8; $\text{HPO}_{0,5}$ по флавонолах - 1,3; оксикоричних кислотях - 3,6; катехінах - 4,2; сумі - 7,0.</p>													

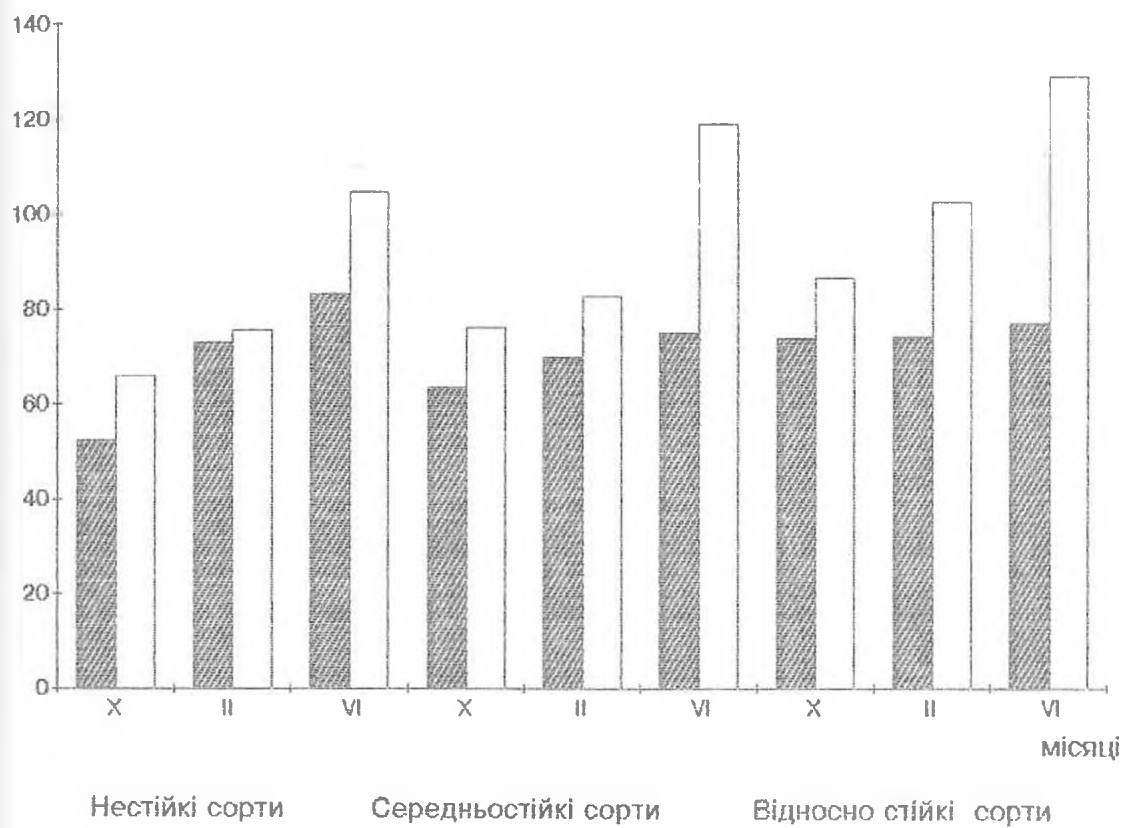


Мал.13. Утворення захисного бар'єра із фенольних сполук в заражених мокрою гниллю тканинах картоплі. Боролянська розета – відносно стійкий сорт; Каскад поліський – нестійкий.

в травні-червні – від 76 мг% до 125 мг% /мал.12/. У середньостійких і, особливо, сприйнятливих сортів зміни були значно меншими.

Максимальне збільшення фенольних сполук відмічено в травні-червні в усіх досліджуваних груп сортів /мал.12/. В цей же період у відносно стійких і середньостійких сортів при зараженні відбувалось підвищення активності поліфеноксидази, яка окислює сполуки фенольної природи.

Кількість фенольних
сполук (мг %)



Мал.12. 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

Фенольні сполуки, що синтезуються у відповідь на проникнення патогена, та продукти їхнього окислення приймають участь у створенні механічного захисного бар'єра у вигляді темного смолоподібного кільця /мал.13/, який обмежує процес гниття картоплі. Така захисна реакція спостерігалась тільки у відносно стійких сортів /мал.13/.

Проведені дослідження свідчать, що фенольні сполуки відіграють певну захисну роль в тканинах бульб картоплі при проникненні збудників мокрої гнилі. Крім того, як в здорових, так і заражених бульбах відмічена істотно різниця між сортами різного ступеня стійкості по їх вмісту.

4.3. Вміст відновлюючих цукрів в бульбах як фактор, що впливає на стійкість сортів картоплі до мокрої гнилі.

Результати досліджень показали, що існує пряма залежність між вмістом відновлюючих цукрів в бульбах і сприйнятливістю сортів картоплі до мокрої гнилі: у резистентних сортів /Світанок київський, Гетчинська/ він склав 0,21%, 0,18%, відповідно, в той час як у нестійкого /Каскал поліський/ - 0,61%, що в 3 рази більше; у середньостійких /Зов, Луговська/ - 0,29%, 0,28% /табл.18/.

Сорти одного ступеня стійкості незначно відрізнялись за вмістом моноцукрів, що відмічено в різні роки /табл.18/ і періоди зберігання бульб /мал.14/.

Концентрація їх в бульбах варіювала в досліджувані роки в силу різних погодних умов: 1982 рік був теплим та сухим, а

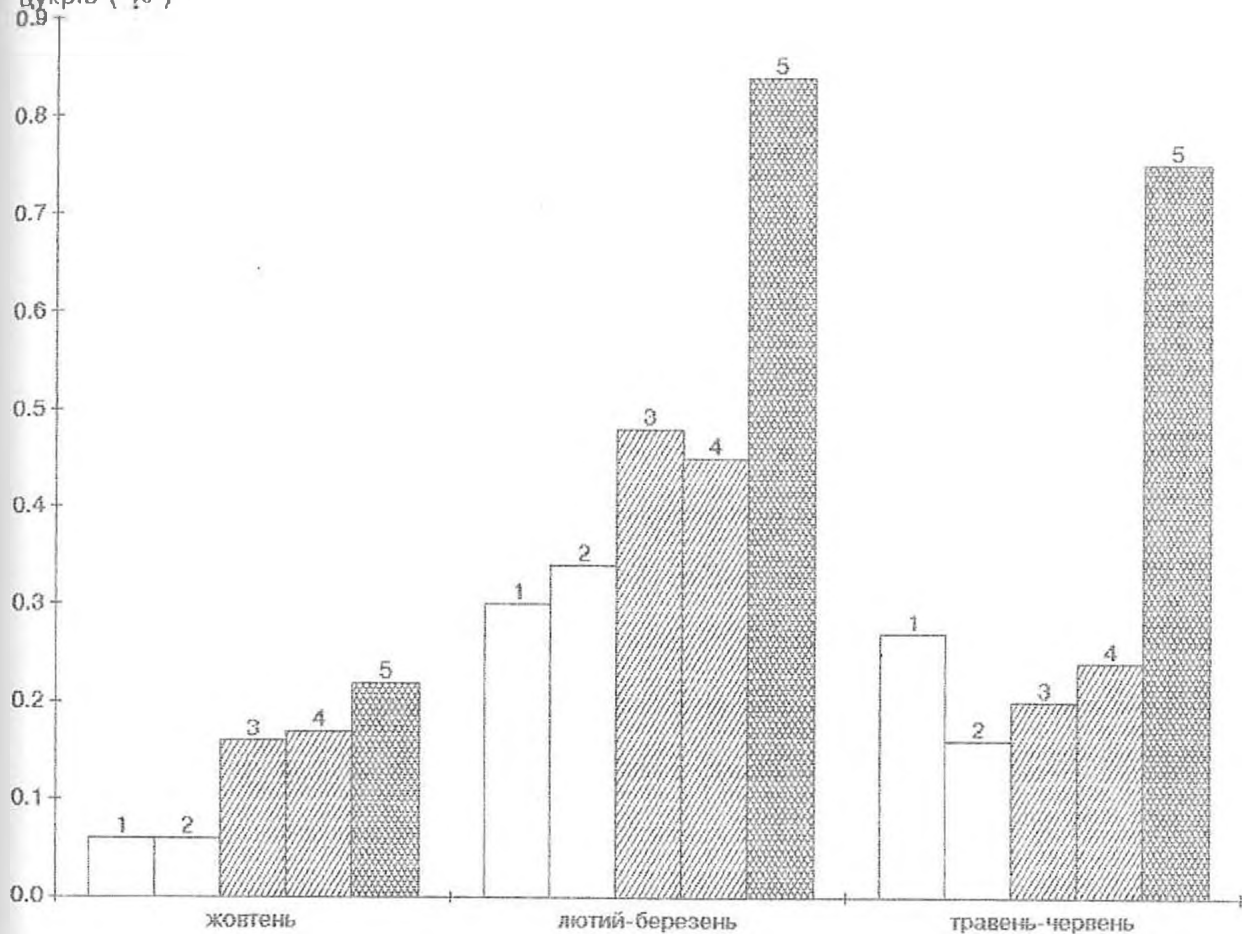
Таблиця 18. Вміст відновлюючих цукрів в бульбах картоплі, % на сиру масу.

Сорт	Група стиглості	Ступінь стійкості до мокрої гнилі	1991-1992 роки	1992-1993 роки	Середня
Каскад поліський	ранньо-стиглий	нестійкий	0,83	0,37	0,60
Луговська	середньо-стиглий	середньо-стійкий	0,33	0,23	0,28
З о в	ранньо-стиглий	—	0,39	0,18	0,29
Світанок київський	середньо-ранній	відносно стійкий	0,19	0,23	0,21
Гетчинська	середньо-стиглий	—	0,18	0,18	0,18
\bar{x}			3,20	2,80	
$MP_{0,5}$			0,10	0,04	

умови вегетаційного періоду 1991 року сприяли розвитку мокрої гнилі, і саме в цей рік відмічені максимальні показники. Але, незважаючи на вплив зовнішніх факторів, у відносно стійких сортів вміст досліджуваних сполук фактично лишився на одному рівні в різні роки /Світанок київський - 0,19%; 0,23%; Гетчинська - 0,18%; 0,18% /табл.18/, в той час як у середньостійких і особливо нестійкого сорту відмічене значне варіабельність результатів /Луговська - 0,23%; 0,33%; Зов - 0,18%; 0,39%; Каскад поліський - 0,37%; 0,83% /табл.18/.

Різні за резистентністю сорти мали неоднакову здатність до акумуляції моноцукрів: максимальна концентрація у Каскаду поліського складала 0,83%, у середньостійких - 0,39% /Зов/, стійких - 0,23% /Світанок київський/. Це є свідченням наявності певної генетично обумовленої межі в накопиченні цих сполук

Кількість
відновлюючих
цукрів (%)



Мал.14. Динаміка вмісту відновлюючих цукрів в бульбах картоплі при зберіганні (1991-1993 рр.).

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

для кожної із досліджуваних груп, незважаючи на значний вплив умов зберігання.

Заслуговує уваги динаміка вмісту відновлюючих цукрів при зберіганні бульб. В усіх сортів мінімальну концентрацію відмічено в осінній період /жовтень/ /мел.14/, що пояснюється впливом температури і фізіологічним станом бульб: в період спокою відбувалось накопичення запасних складних форм вуглеводів і зменшення моноз. Рівном авторів в осінній період також відмічено найнижчі показники концентрації цих сполук /Шинкерев, 1981; Otazu, Secor, 1978; Asherwood, Burton, 1975/, але є і протилежні результати /Britani et al., 1973/, що свідчать про значний вплив умов зберігання.

В період виходу бульб із стану спокою /лютий-березень/ рівень моноцукрів був самим високим на протязі зберігання, що пов'язано з гідролізом складних форм вуглеводів і накопиченням простих цукрів. В травні-червні концентрація цукрів зменшилась. В період активного росту пагонів з вічок частини глюкози і фруктози використовувалась бульбою на ростові процеси.

Наші результати узгоджуються з даними Otazu, Secor, /1978/.

Як відомо, моноцукри, а саме глюкоза, зброджується бактеріями роду *Erwinia*, які є основними збудниками мокрої гнилі /Lyon, 1985/. Під дією продуктів бактеріального росту відбувається екзоосмос цукрів з клітини в міжклітинний простір, і вони стають легкодоступними джерелами вуглецю для мікроорганізмів. В згнившій картоплі моноцукри відсутні /Otazu, Secor, 1978/. Очевидно, підвищений вміст відновлюючих цукрів у нестійких сортів може привести до більш швидкого розвитку захворювання. Але це не єдиний фактор, який впливає на сприйнятливість бульб до мокрої гнилі.

РОЗДІЛ 5. ОТРИМАННЯ РЕЗИСТЕНТНИХ ДО ГРИБИЦЬ ГЕНОТИПІВ
КАРТОПЛІ НА ОСНОВІ БІОТЕХНОЛОГІЇ, МЕТОДІВ
ТРАДИЦІЙНОЇ СЕЛЕКЦІЇ

5.1. Виділення стійких форм картоплі до культурального
фільтрату гриба *Fusarium oxysporum*.

При отриманні резистентних форм картоплі на основі біо-
технології, а саме методу тианевого відбору, першим етапом ро-
боти був пошук робочого діапазону концентрацій культурального
фільтрату *Fusarium oxysporum*, в межах якого виявлялась різ-
на життєздатність калусних тканин. Для встановлення сублего-
льних доз культуральної рідини проводили порівняння лії ряду
концентрацій від 5 до 40 мг/л на ріст калусу картоплі сорту
Зарево /табл.19, мал.15,16/.

Таблиця 19. Вплив концентрації культурального фільтрату
збудника *Fusarium oxysporum* на життєздат-
ність калусної тканини картоплі сорту Зарево.

Концентрація, мг/л	% життєздатних калусів	Примітка
5	100	
10	100	
20	100	Значно уповільнений ріст
25	60	
30	12	
35	4	
40	-	

Дані таблиці 19 свідчать, що концентрація фільтрату збуд-
ника в межах від 5 до 15 мг/л не мала значного токсичного
впливу на життєздатність калусної культури і, починаючи з
величини 20 мг/л, спостерігалось уповільнення росту калусів
/мал.16в/. Повне пригнічення розвитку калусної культури вик-
ликала концентрація токсичного фільтрату *Fusarium oxysporum*

40 мг/л і більше /мал.156/.

Отже, нами підбрано сублетальну концентрацію фільтрату патогена: 30-35 мг/л, при якій гине не менше 90% калусної тканини. Цей діапазон концентрації служив "селективним ситом" для відбору з вихідної популяції тих ліній, які за рахунок сомеклональної мінливості набули більш високу ступінь стійкості до стресового фактору.

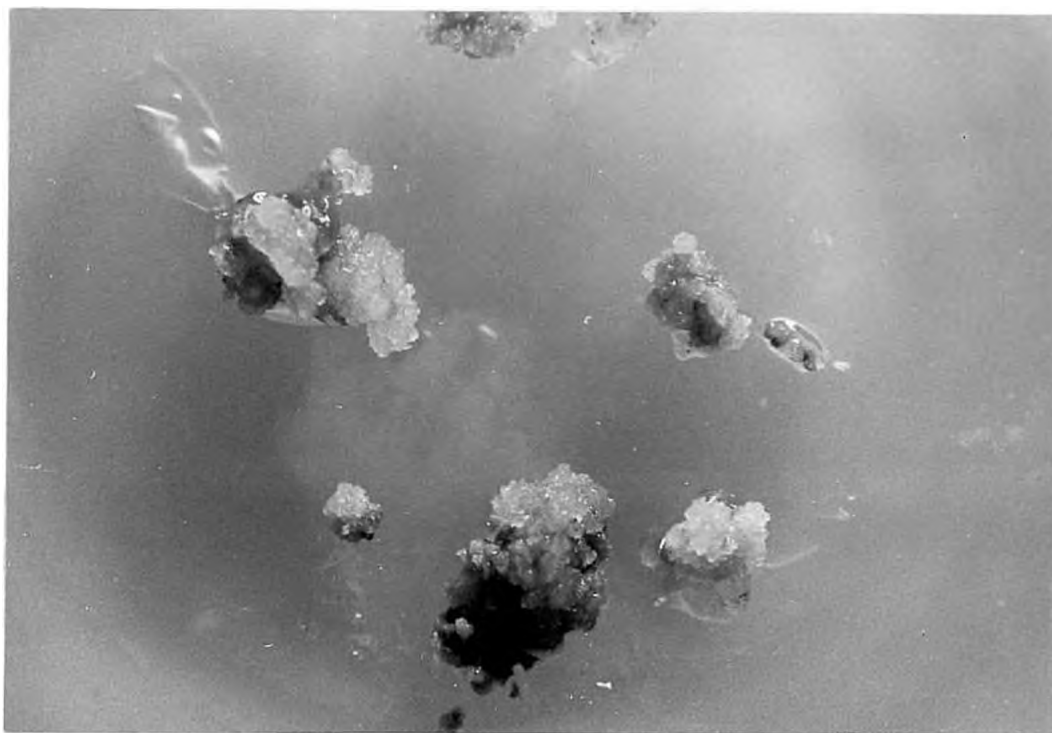
При культивуванні в присутності токсинів гриба більша частина калусів набула темно-коричневого забарвлення і відмерла, але деякі з них зберегли життєздатність і продовжували ріст /мал.166/.

В стресових умовах тканина стала більш крихкою, але її структура відновилась на безтоксичному середовищі.

В кінці першого селективного відбору /1-1,5 місяців/ доля калусів, здатних до росту, складала 1,3%. Деякі з них продовжували розвиток при підвищенні концентрації другого і третього циклів - 35 мг/л.

Після другого покоління в умовах токсичного середовища резистентні експлантати перенесли на звичайні середовища /без фільтрату збулини/ і культивували на протязі одного місяця для збереження регенераційної здатності. Повідомлення деяких дослідників стверджують, що при сильному пресінгу токсинів тканина повністю губить морфогенетичні потенції /Chawla, Wenzel, 1987/, тому доцільно використовувати переривний метод відбору.

Для оцінки генетичної стабільності стійкості до культурального фільтрату відібрані калуси повторно культивували на середовищі з токсинами /IV селекційний цикл/, при цьому вони поділились на дві групи: у першій життєздатність в присутності токсину була обумовлена адаптацією - ця група ліній загину-

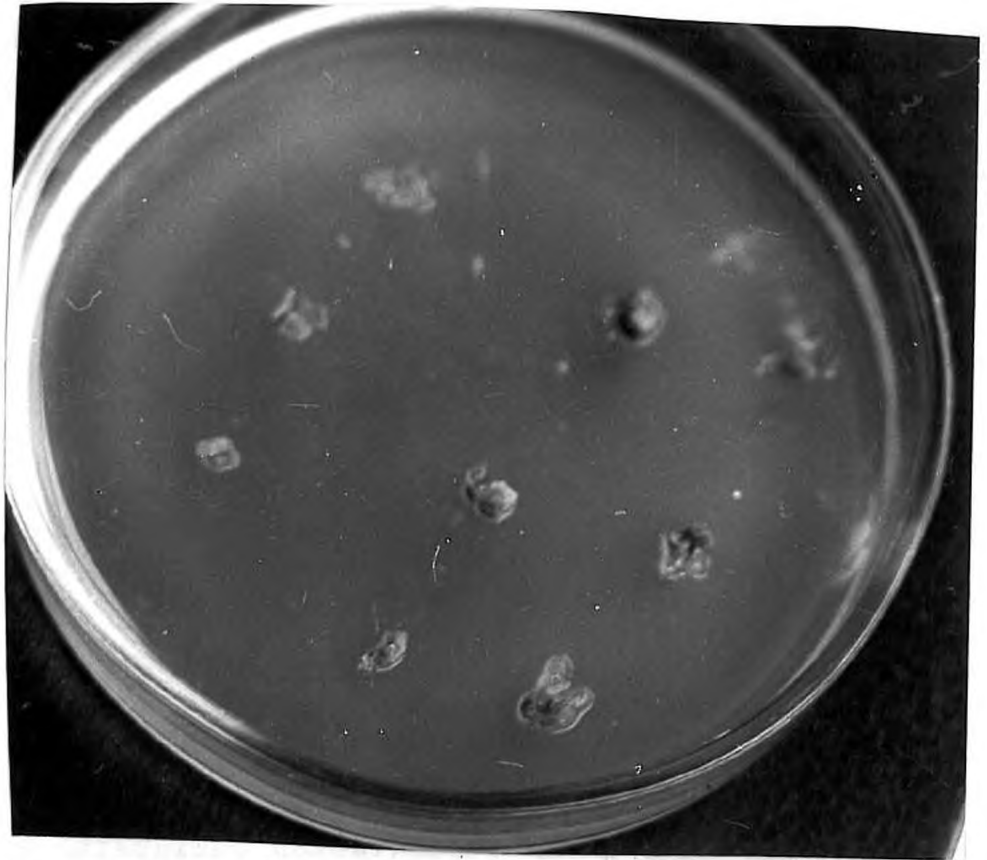


a/

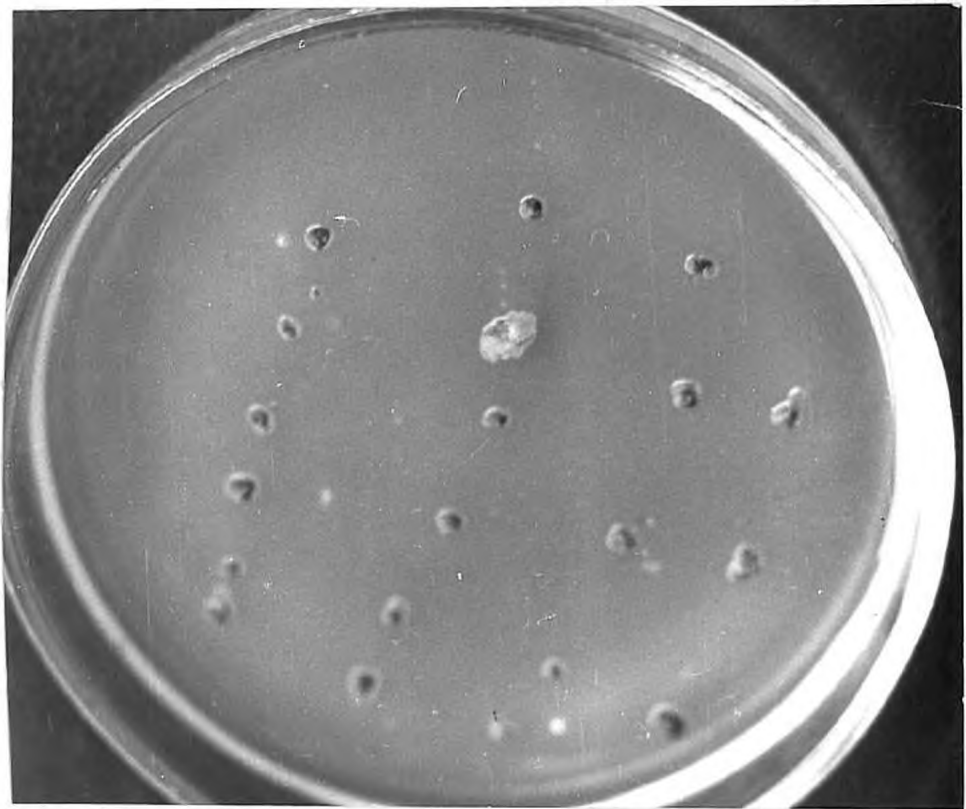


б/

Мал. 18. Ріст калусу: а/ на безтоксичному середовищі;
б/ при летальній концентрації фільтрату
гриба 40 мг/л.



а/



б/

Мал.16. Ріст калусу при різних концентраціях культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum* :

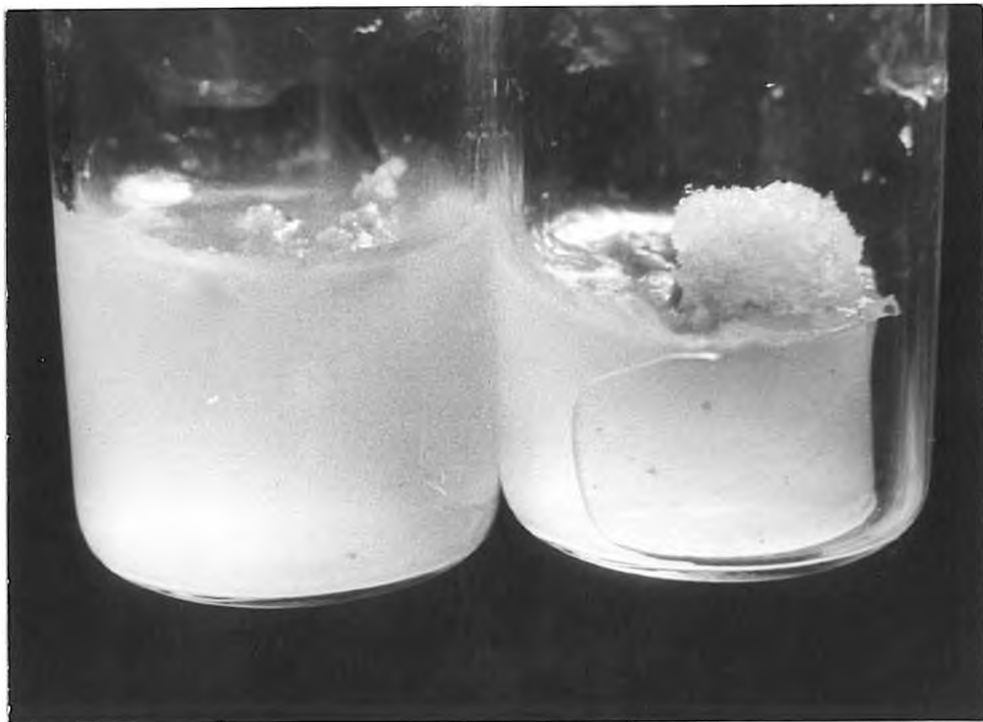
а/ 20 мг/л;

б/ 35 мг/л.

Таблиця 20. Динаміка відбору калусних ліній картоплі сорту Зарево на стійкість до культурального фільтрату *Fusarium oxysporum*.

Номер пасажу	Концентрація селективного фактору, мг/л	Число калусів, шт.	
		Всього	стійких
1	30	1800	23
2	35	23	18
3	-	18	18
4	35	18	9

ло, у друге! - життєздатність визначалась генетичними змінами, а тому ці лінії активно росли на фоні селективного фактора. Після четвертого селективного циклу виділено дев'ять стійких ліній сорту Зарево /табл.20, мал.17/.



Мал.17. Стійка до культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum* калусна лінія картоплі сорту Зарево /1/ цикл/.

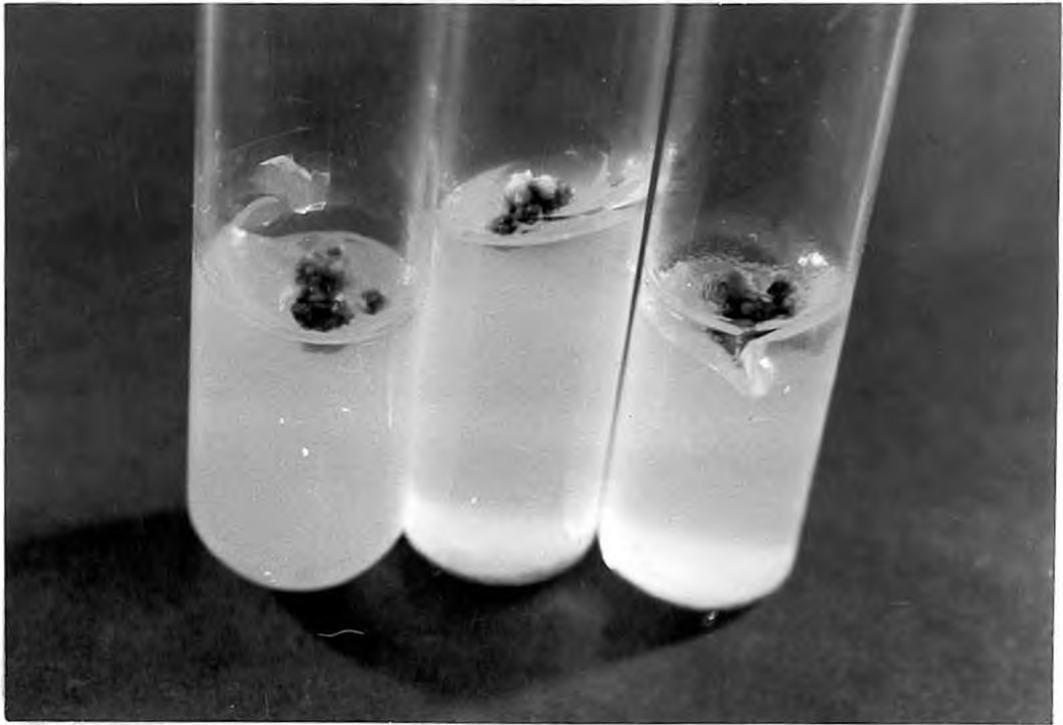
Таким чином, на тканевому рівні нами отримано калусні лінії, що несуть в своєму генотипі стійкість до культурального фільтрату *Fusarium oxysporum*. Після проведення повної схеми тиванинної селекції була перевірена їх морфогенетична компетентність /табл.21/.

Таблиця 21. Морфогенетичні потенції калусних ліній картоплі сорту Зарево, стійких до культурального фільтрату *Fusarium oxysporum*

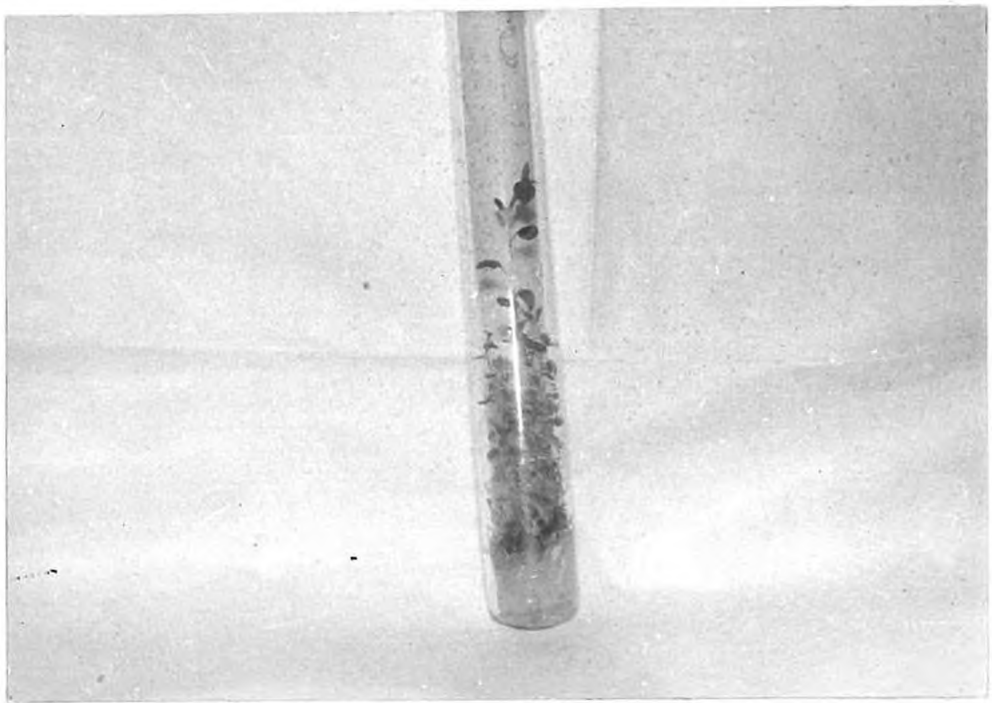
Концентрація селективного фактору, мг/л	Число стійких ліній	
	Всього	Здатних до морфогенезу
30-35	9	2

В літературі не описані випадки стримування регенерантів в усіх без винятку клітинних і калусних клонів. В ході тривалого відбору деякі з них гублять морфогенетичну компетентність. Здатність картоплі до морфогенезу в значній мірі залежить від генотипічних особливостей сорту, пори року, гормональних умов середовища, фізіологічного стану матеріалу для експлантатів і інших факторів /Бутенко, 1990/. Практично для кожного сорту необхідно підбирати свої оптимальні умови для регенерації *in vitro*.

Процес індукції морфогенезу був тривалим, використовували різні середовища для того, щоб знайти оптимальний варіант. Регенерація інтенсивно розпочалась тільки у весняний період. Спочатку спостерігалось потемніння калусної тканини і утворення глобул, після чого з'явилися меристематичні зони /мал. 18/. Тканину неодноразово пересаджували на свіжі середовища /з ІАІ, зеатином/ до утворення паростків, які відділяли і культивували на безгормональних середовищах для укорінення /Маруненко и др., 1991/.



а/.



б/.

Мал.18. Регенерація рослин картоплі сорту Зарево з калусних ліній, стійких до культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum*:

а/ формування меристематичних зон;

б/ утворення наростків.

Частина калусів лишилась без змін /безкольоровою і крихкою/ – в цьому випадку індукція морфогенезу дорівнювала 0.

Заключним етапом роботи була перевірка регенерантів на стійкість до стресового фактора.

Визначення резистентності отриманих ліній картоплі до культурального фільтрату *Fusarium oxysporum* показало, що 100 із 125 листків рослин, регенерованих із стійкого калусу, лишались зеленими і тургоросцентними в токсичному середовищі на протязі тестування /одна неділя/. З іншої сторони, 30 листків контрольних рослин втратили тургор і обезбарвились. Через три неділі листя всіх рослин згнулося.

Отже, абсолютно імунних форм картоплі до культурального фільтрату гриба не виявлено, але значна кількість їх мала вищу відносну стійкість, ніж контроль.

Повторна ініціація калусу з регенерантів і його тестування на стійкість до токсинів *F. oxysporum* показали стабільність ознаки, що дозволяє стверджувати про генетичний характер отриманої соматоклональної мінливості.

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

Відомо, що у аллогамних видів кожен генотип гетерозиготний і просте самозапилення призводить до розщеплення його потомства. Зокрема, у аутотетраплоїдів таке явище визначається присутністю чотирьох гомологічних хромосом, послідуною їх кон'югацією та розщепленням по гаметах. Деякі дослідники спостерігали значні порушення в мейозі, що призводить до неправильного розходження хромосом і формування неоднорідних гамет. /Туляев, Гужов, 1987/. Такі біологічні процеси є причиною

розщеплення генотипів в потомстві.

Пошуки по виділенню відносно стійких зразків картоплі до мокрої бактеріальної та сухої фузаріозної гнилей бульб провели від потомства популяцій, отриманих від самозапилення міжвидових гібридів 77583/16, 938 С/70 та сорту Березина.

Результати проведення експериментів показали, що використання інбридингу дозволяє отримати генотипи картоплі з більш високим ступенем стійкості до мокрої і сухої фузаріозної гнилей, ніж вихідні форми. Так, здійснення самозапилення відносно стійких до гнилей батьківських форм дозволило виділити певну кількість сіяncів з високим ступенем стійкості проти збудників гнилей. найбільше число резистентних сіяncів, стійких до мокрої гнилі /7-8 балів/, отримано від індухт-ліній гібридів міжвидового походження: 77.583/16, 938с/70 /табл.21/. кількість зразків, відібраних з відносною стійкістю до мокрої гнилі, складала 29,2; 21,8, відповідно. Розмах коливання стійкості потомства в популяції цих гібридів становив 8-1 балів, а середній бал стійкості всього отриманого потомства був $5,6 \pm 0,18$; $3,2 \pm 0,19$, відповідно.

Значно нижчий відбір стійких сіяncів спостерігався в популяції нестійкого до мокрої гнилі сорту Березина. кількість відносно резистентних генотипів складала 10,7%, середній бал стійкості становив $3,7 \pm 0,11$ /табл.21/.

Вивчення можливості виділення стійких сіяncів картоплі від індухт-ліній стійких батьківських форм до сухої фузаріозної гнилі показало, що найбільшу кількість резистентних генотипів отримано від популяції гібриду 938 С/70. Число відібраних сіяncів з балами 7-8 у цих сортозразків складало 28,6%; середній бал стійкості був самим високим і становив $6,3 \pm 0,20$. мінімальну кількість відносно стійких форм до сухої фузаріоз-

Таблиця 21. Стійкість сіянців картоплі до сухої фузаріозної гнилі,
отриманих від інцухт-популяцій /1991-1992 рр./.

к. н. :	Вихідна форма	Походження	Стійкість вихідної форми, бал	кількість оцінених сіянців, шт.	Середній бал стійкості потомства	Коливання стійкості /макс-мін/	Форм з базом стійкості 7-8 шт.:
1.	938 С/70	Міжвидовий гібрид	7-8	150	6,3 ± 0,20	8 - 2	43 28,6
2.	77583/16	-"-	6-7	130	4,5 ± 0,16	8 - 1	32 24,6
3.	Берегиня		6-5	140	4,2 ± 0,15	7 - 1	12 8,6

Таблиця 22. Стійкість сіянців картоплі до мокрої гнилі,
отриманих від індухт-популяції /1991-1992 рр./.

№ п.п.	Вихідна форма	Походження	Стійкість вихідної форми, бал	Кількість оцінених сіянців, шт.	Середній бал стійкості потомство	Колівення стійкості /макс-мін/	Відібрано форм з балом стійкості 7-8 шт.
1.	938 С/70	міжвидовий гібрид	6 - 7	150	5,2 ± 0,19	8 - 1	32 21,8
2.	77583/16	міжвидовий 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

ної гнилі отримано з інцухт-ліній сорту Берегиня з середньою /6 - 5/ балів ступінню стійкості до захворювання. Число сіянців, виділених з популяції цього зразка, складало 8,5%, середній бал стійкості становив $4,2 \pm 0,15$ /табл.22/.

Отже, результати отриманих досліджень стверджують, що найбільша вірогідність отримання високостійких форм до гнилей бульб може бути при використанні інцухт-ліній батьківських форм, які характеризуються досить значним ступенем резистентності до цього патогена.

На основі інбридингу нами отримано два зразки картоплі з відносною стійкістю до мокрої і сухої фузаріозної гнилей /табл.23/. Ці сіянці, крім високої стійкості до збудників гнилей, характеризуються комплексом інших господарсько-цінних ознак. Названі зразки передані в Інститут картоплярства УАНН для випробування в селекційному розсаднику з метою подальшого використання їх як батьківських форм в цілеспрямованій селекції на стійкість до мокрої і сухої фузаріозної гнилей.

Отже, використання методу інбридингу в селекції картоплі дозволяє отримати сіянці з високою відносною стійкістю проти мокрої і сухої фузаріозної гнилей. Чим вище ступінь стійкості вихідної форми при інбридингу, тим більша імовірність виділення стійких сіянців проти гнилей бульб картоплі.

Таблиця 23. Характеристика сіявців картоплі, відібраних від індукт-
популяції по окремих господарсько-цінним ознакам
/1992-1993 рр./.

Номер сорто- зразка	Група стиг- лості	Урожай- ність, г/кущ	Кількість бульбо- ного куща	Середня маса тов- рної буль- би, г	Товар- ність, %	Вміст крох- малю, %	Смакові якості, бал	Стійкість до гнилі	
								мокрої	сухої
91 мт/13 /J ₁ , 938 С/70/	Середньо- стиглий	794	13	92	93	15,9	3,6	7,6	6,3
91 мт/89 /J ₁ , 77583/16/	-п-	820	10	95	92	14,4	4,0	7,4	6,1

ОГЛЯДОВИЙ РЕЗУЛЬТАТ

В результаті вивчення біологічних особливостей збудників хвороб, що викликають шкору гниль картоплі в зоні Полісся України, ними встановлено, що основну роль в розвитку захворювання відіграють штами *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. c.* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus mesentericus*.

Найбільш видільна і багаточисленна група - представники роду *Erwinia* 40,97%, в якій виділено 6 сильнопатогенних штамів: 3а II, 3б II, 3в II, 6а I, 3б Iа, 1с, що не втратили агресивності на протязі тривалого часу /2 роки/. Такі ізоляти виділено із зразків, відібраних в Луцькому районі /за виключенням 1с/. На основі біохімічних і культуральних властивостей їх ідентифіковано як *E. c.* subsp. *carotovora* /ст. I/ і *E. c.* subsp. *atroseptica* /ст. I/.

Порівнюючи властивості виділених штамів з даними літератури, в тому числі визначеними *Bergey's* /1964/, ми відмітили їх неоднорідність по відношенню розрідження желатину і використання сорбіту як джерела вуглецевого живлення. Такі ж властивості відмічені і іншими авторами /*Dye*, 1968; *Набатова, Гроздян, 1987*/.

Серед досліджуваних штамів *P. fluorescens* складала 40,97%, вони виявлені практично в усіх обстежених пунктах, але пектолitiчні і фітонаторгенні властивості мали не всі ізоляти. Вязкість пектиназ у сапрофітних видів роду *Pseudomonas* ряд дослідників пов'язує із здатністю викликати м'які гнилі рослин /*Knosel, Lange, 1962*; *Воронкович, 1974*; *Набатова, 1976*/.

Ізолят 25а II, ідентифікований як *Pseudomonas fluorescens*, характеризувався сильнопатогенними властивостями на протязі 2-х років. На уражених шкорою гниль зразках картоплі зустрічались збудники *Bacillus mesentericus*, але вірулентні штами складала

не більше 10% від загального числа виділених. Ці бактерії можуть також приймати участь в патогенезі мокрої гнилі.

Виділені нами сильнопатогенні штами Злп, З6лп, Іо, 25лп, 92л, 63л, З6лпа доцільно використовувати в науково-дослідних установах для селекції картоплі на стійкість до мокрої гнилі.

Окисно-відновні ферменти відіграють значну роль в процесах стійкості рослин до збудників хвороб, яка полягає в зниженні активності гідролітичних ферментів паразита, окисненні токсинів до нейтральних речовин, участі в утворенні механічних перешкод на шляху проникнення шкідливих мікроорганізмів, безпосередній дії хінонів, які утворюються в тканинах рослини-господаря при активізації процесів окислення *Matheis, Whitaker, 1984/*.

Нами встановлена пряма залежність між резистентністю сортів картоплі до мокрої гнилі і активністю поліфенолоксидази. Від його активності в певній мірі залежить локалізація процесу мацератії або повне загнивання тканини. З іншої сторони, легітронени *S. carotovora* інгібрують окислення фенолів в присутності поліфенолоксидази шляхом редукції продуктів окислення *Lozrecovich et al., 1968/*. Процеси, які відбуваються при взаємодії паразита і рослини-господаря, складні і залежать від багатьох факторів.

Більш детально вивчення ролі окисно-відновних ферментів в механізмі стійкості картоплі до мокрої гнилі може бути основою розробки способів подавлення збудників хвороби з допомогою штучних імунізаторів, які підвищують активність ферментів поліфенольного циклу в критичний період зараження бульб.

Вазуючись на встановленій закономірності, активність поліфенолоксидази бульб можна рекомендувати як один з показників для попередніх відборів в селекції картоплі на стійкість до

мокрої гнилі. Негативний фактор - залежність активності ферменту від породних умов /Нестальєва, 1976/. Можлива порівняльна характеристика сортів по цьому показнику /контроль - відносно стійкі сорти Гатчинська, Світанок київський/. Умови вирощування, зберігання бульб сортів, які використовуються в досліді, повинні бути ідентичними.

Вивчення активності пероксидази в заражених мокрою гниллю бульбах показало значне активування фермента у відносно стійких сортів, що з свідченням участі його в системі захисних механізмів організма - імунітети /в даному випадку - прирідному активному імунітети/. Показник активності ферменту в заражених бульбах можна використати при оцінці вихідного і селекційного матеріалу на стійкість до мокрої гнилі.

Активність пероксидази, як і поліфенолксидази, в певній мірі визначає одну із форм полігенної стійкості - швидкість розповсюдження патогена в заражених тканинах /Будашкина и др., 1973/, оскільки фермент опосередковано приймає участь у створенні механічних перешкод /суберинізація/, під його дією відбувається окислення поліфенолів з утворенням шкідливих для патогену речовин - хінонів.

Підвищення активності пероксидази в бульбах картоплі стійких сортів у відповідь на проникнення збудників мокрої гнилі не з специфічною реакцією - такий же механізм включається в дію і при зараженні бульб іншими шкідливими організмами /Рагожина, 1972; *Maraité*, 1973/.

Вуглеводи відіграють значну роль в захисних реакціях, а значить і в імунітеті рослин /*Keen, Horton*, 1965; *Patil, Dimond*, 1968/. Дані про необхідність вуглеводів для розвитку шкідливих організмів в тканинах суперечливі. Деякі автори вважають, що фактором, який сприяє ураженню рослин, являється ви-

сокий вміст цих сполук, які потрібні для живлення паразитів, котрі ще не мають досить розвинутого ферментативного апарату /Прошенко, 1980/. Згідно з твердженням інших дослідників, розвиток захворювання тим сильніший, чим бідніша рослина цукрами /Рубин и др., 1975/.

Такі суперечливі погляди на роль вуглеводів в патологічному процесі пояснюються тим, що їх синтез тісно пов'язаний з іншими фізіолого-біохімічними процесами. Але, як показали багаточисленні дослідження, в більшості випадків чим вищий вміст цукрів, тим сприйнятливіше рослина до захворювань /Evans, Rawlinson, 1977/. Така ж закономірність встановлена при вивченні впливу моноцукрів на патогенез багатьох хвороб рослин /Kraft, 1977; Kohn, Hendrix, 1980/.

З результатами указаних дослідників узгоджується стримана нами пряма залежність між вмістом відновлюючих цукрів в бульбах і сприйнятливістю сортів картоплі до мокрої гнилі. Отже, концентрацію відновлюючих цукрів можна рекомендувати як один з показників при оцінці селекційного матеріалу на стійкість до захворювання. За контроль доцільно використовувати відносно стійкі сорти - Гетчинську, Світанок київський, в яких вміст відновлюючих цукрів із року в рік фактично не змінювався /у сорту Гетчинська ця величина була стабільною на протязі двох років/, незважаючи на різні погодні умови в досліджувані роки.

Концентрація відновлюючих цукрів в бульбах середньостійких сортів і особливо нестійкого - нестабільний показник, різний із року в рік, завдяє впливу погодних умов, температури зберігання. Для порівняльної характеристики сортів на вміст моноцукрів, умови вирощування, збору урожаю, температура зберігання бульб досліджуваних сортів і контролю повинні бути однаковими.

Важливе значення для розвитку мокрої гнилі має температуру, оскільки холодне зберігання приводить до накопичення відновлюючих цукрів, а значить і підвищення ураження бульб. Виходячи із встановленого впливу моноцукрів на сприйнятливість картоплі, маніпулюючи температурою зберігання, можна зменшити ураженість бульб гниллю.

Дослідження проводились всього на п'яти сортах, різних за стійкістю до мокрої гнилі. Для більш обґрунтованих висновків про вплив відновлюючих цукрів на сприйнятливість сортів картоплі необхідно проаналізувати значно більше сортів на вміст моноцукрів і в більш широкому діапазоні умов.

Одним з механізмів стійкості рослини є здатність захищатися від патогенів на основі індукції токсичних речовин у вигляді поліфенолів і продуктів їхнього окислення *Tripathi, Gupta, 1983; Cohen, Ibrahim, 1975; Király, Farkas, 1962/*.

нами встановлено, що основними компонентами фенольних сполук в бульбах картоплі являються кверцитрин, оксикоричні кислоти та катехіни. Локалізуються поліфеноли переважно в перидермі /шкірці/ бульб, де в порівнянні з паренхімою їх сума в 33 рази більша. Пояснюється таке закономірність участю фенольних сполук в формуванні захисних властивостей перидерми, створенні "панцера непроницності" для шкідливих мікроорганізмів.

Значний інтерес викликає динаміка вмісту досліджуваних сполук при зберіганні картоплі. Наші дослідження показали, що їх варіабельність пов'язана з фізіологічним станом бульб. В період органічного спокою у нестійких сортів вміст фенольних сполук був нижчим, ніж у відносно стійких, а середньостійкі сорти займали проміжне місце. Отже, восени спостерігалась пряма залежність між ступенем стійкості сортів до мокрої гнилі і концентрацією фенольних сполук в бульбах. Динаміка їх вмісту при

зберігання була різною у сортів неоднакової стійкості до захворювання. У резистентних сортів фенольні сполуки збільшилися на 3-6%, у нестійких - на 56 - 58%.

Таким чином, вміст фенольних сполук в бульбах картоплі в період органічного спокою та їх динаміка в процесі зберігання можуть бути одним із показників для оцінки селекційного матеріалу на стійкість до мокрої гнилі.

При визначенні середнього вмісту сполук фенольної природи за період зберігання в одному сортозразку виявлено, що між сортами різниця незначна. Счевидно, потенційні можливості синтезу фенолів у досліджуваних сортів однакові.

В заражених мокрою гниллю бульбах картоплі усіх досліджуваних сортів відбувалось підвищення вмісту фенольних сполук в різні періоди зберігання картоплі. Проникнення збудника мокрої гнилі в тканини картоплі призводить до підвищення інтенсивності фізіолого-біохімічних процесів, в тому числі збільшення синтезу сполук фенольної природи, здатних знешкоджувати лію патогена шляхом створення хінонових та поліфенольних бар'єрів /*Dyon*, 1989/, інгібування росту бактерій /*Ghanekar et al.*, 1984/, інактивації ферментів збудника /*Matheis, Whitaker*, 1984/.

Між сортами різного ступеня стійкості до гнилі спостерігалась істотно різниця по вмісту сполук фенольної природи. Максимальні показники відмічено в групі відносно стійких сортів, мінімальні - у нестійких; у середньостійких показники були проміжними. Така закономірність виявлена в різні періоди зберігання картоплі. Отже, вміст фенольних сполук в заражених мокрою гниллю бульбах є опосередкований показник резистентності сортів картоплі до захворювання.

Підвищувались фенольні сполуки при інкуляції збудником мокрої гнилі неоднаково у різних сортів: у відносно стійких во-

ни збільшувались на 43%, у нестійких – на 18%.

Проведені дослідження свідчать, що фенольні сполуки відіграють певну захисну роль в тканинах бульб картоплі при проникненні збудників мокрої гнилі. Крім того, як в здорових, так і заражених гниллю бульбах відмічена істотно різниця між сортами різного ступеня стійкості по їх вмісту.

Таким чином, вивчення активності поліфенолоксидази, пероксидази, вмісту відновлюючих цукрів, поліфенолів в здорових і заражених мокрою гниллю бульбах показало, що ці сполуки відіграють значну роль в процесах стійкості до захворювання. Ці показники можуть бути посередкованим критерієм оцінки вихідного і селекційного матеріалу картоплі на стійкість проти мокрої гнилі.

Біотехнологія, а саме культура тканин і клітин рослин відкриває принципово нові можливості пошуку нестандартних шляхів в селекційній роботі по картоплі на стійкість до збудників хвороб.

Результати досліджень по виділенню стійких форм картоплі до збудника *Fusarium oxysporum* на основі біотехнології показали, що попередній відбір калусних ліній, резистентних до культурального фільтрата гриба, дозволяє отримати регенеранти з високим ступенем стійкості до культурального фактора стресу, ніж вихідна форма.

Базуючись на явищі тотіпотентності, соматональної варіабельності і використовуючи систему селективного тиску у вигляді культурального фільтрата гриба *Fusarium oxysporum* на рівні калусної культури, отримали 2 лінії картоплі сорту Зарево, відносно стійкі до культурального фільтрата збудника.

В наших дослідженнях ми використали калусну культуру картоплі /диференційовану тканину/ як джерело варіабельності,

тому що для соматичних клітин рослини характерна наявність по-
 олинокких спонтанних мутацій та інших відхилень, виявлення яких
 в цілій рослині подавлено основним генотипом. Дезінтеграція
 цілої рослини на калусні агрегати клітин знімає домінуючий
 вплив основного генотипа. Крім того, число і тривалість пасажів
 калусної тканини, склад культуральних середовищ сприяють варіа-
 бельності усіх ознак. Проведення генотипа через культуру тканин
 приводить до геномних перебудов та змін структури і числа хро-
 мосом. Отримана "різноманітність просіюється" через "селектив-
 ні сита": в нашому досліді це середовище для вирощування ка-
 лусних тканин з культуральним фільтратом *Fusarium oxysporum*.

Введення селективного фактора дозволяє більш цілеспрямовано
 проводити відбір стійких форм. На калусному рівні організації
 генотипа можлива селективна дія на культуру, яка може мати
 просіюючий /скринінговий/ або мутагенний ефект. В результаті
 цього може з'явитися форма із зміненними ознаками. Для картоп-
 лі, яка розмножується вегетативно, така ознака може стати сор-
 товою, тобто не зникаючою в репродукціях.

Таким чином, можна моделювати зміни в геномі, не прямо ма-
 ніпулюючи з генами, а опосередковано, використовуючи спонтанну
 або індуковану мінливість, яка обов'язково має місце в культу-
 рі тканин.

Отримані нами відносно стійкі регенеранти до культураль-
 ного фільтрата збудника *Fusarium oxysporum* не загубили озна-
 ки стійкості і після повторної їх дезінтеграції на калусні аг-
 регати з послідувочною регенерацією на рівень рослин, що свід-
 чить про генетичний характер отриманої сомеклональної мінливості.
 Так, результати досліджень на пшениці /*Larkin, Scowcroft*, 1981,
 1983/, томатах /*Evans et al.*, 1984; *Evans*, 1984/, рисі
 /*Dono*, 1981/ доказують, що більша частина сомеклональних ва-

рівній обумовлена стабільними генетичними змінами, тобто мутаціями.

Стійкість калусу до культурального фільтрату збудника *Fusarium oxysporum* в основному корелювала з резистентністю регенерованих рослин, але не в усіх випадках. Це пояснюється тим, що крім соматональної варіабельності, пов'язаної із спадковою перебудовою геному, є фенотипічні зміни, що позначаються як "епігенетичні", які можуть стабільно передаватися дочірним клітинам, не проявляючись в регенерованих рослинах, або в їх статевому потомстві /Binks, Mainz, 1973/. Їх поява, можливо, пояснюється змінами характеру метилювання ДНК у клітинах, культивованих *in vitro* /Dörz, Brown, 1986/.

Ефективність селекції калусної культури картоплі сорту Зарево в значній мірі залежала від вибраної летальної концентрації фільтрату гриба 30-35 мг/л.

Введення в селективну систему калусних культур інших сортів /Гатчинської, Незабудки/ показало, що для кожного з них необхідно індивідуально підбирати сублетальну концентрацію фільтрату в залежності від його початкової стійкості до даного збудника. Так, для сорту Гатчинська ця доза становила 40-45 мг/л, для сорту Незабудка вона була звично меншою - 20 мг/л.

Таким чином, розроблена нами на основі біотехнологічних методів селективна система для калусної культури картоплі при використанні культурального фільтрату 10-14-денної культури гриба *Fusarium oxysporum* в концентрації від 20 до 45 мг/л може бути використана для отримання відносно стійких форм картоплі до цього збудника.

М.І.Вавілов /1964/ писав, що отримати резистентні форми рослин з генетично закріпленим імунітетом можна шляхом індухте /інбридинга/, виділяючи стійкі лінії при штучному заражен-

ні. Схрещуючи їх між собою, можна створити більш стійкі форми, ніж вихідний сорт по відношенню до вузькоспеціалізованих паразитів.

Серед самозаплених ліній картоплі можливий пошук лжерел стійкості до збудників гнилей, тому що кожен генотип гетерозиготний і просте замозаплення приводить до розщеплення його потомства.

Тетраплоїди характеризуються багатьма складними особливостями, обумовленими тим, що їх гамети мають два набори хромосом. Це визначає різноманітність зигот і ускладнює розщеплення в потомстві, яке залежить від типу кон'югації хромосом. У аутотетраплоїдів спостерігаються значні порушення в мейозі, що приводить до формування нееднорідних гамет. Розщеплення в потомстві визначається присутністю чотирьох гомологічних хромосом, випадковою їх кон'югацією і розподілом по гаметах. В результаті цього з'являються три типи гетерозигот і два - гомозигот.

Таке розщеплення в потомстві від самозаплення досліджуваних зразків обумовило значну варіабельність ознаки стійкості до мокрої і сухої фузаріозної гнилей, що дозволило виділити на основі фітопатологічної оцінки відносно стійві генотипи картоплі до захворювань.

Число виділених з індухт-популяції стійких генотипів залежало від ступеня стійкості вихідної форми. Результати досліджень стверджують, що найбільша вірогідність отримання стійких форм як до мокрої, так і сухої гнилей може бути при використанні індухт-ліній батьківських форм, резистентних до патогена. Використовуючи інбридинг, можна отримати генотипи з більш високим ступенем стійкості, ніж вихідна форма.

Інбридинг супроводжується зниженням життєздатності потомства. Цей ефект називають індухт-депресією. Аутогамні популяції

привести до гомозиготного стану. Перехід інцухт-популяції в гомозиготний стан продовжується протягом ряду поколінь, що може привести до непередбаченої інцухт-депресії в популяції. А тому при отриманні сіянців картоплі від інцухт-ліній, стійких до гнилей батьківських форм, відбір генотипів здійснювали в першому інбридному потомстві F_1 . Поряд з пониженою життєздатністю форм, нами виділялись окремі генотипи, які поздавали високу продуктивність з відносною стійкістю проти збудників гнилей.

В И С Н О В К И

1. В результаті вивчення патогенних, культуральних, морфологічних, біохімічних властивостей бактерій та грибів, виділених із уражених гниллю зразків картоплі, відібраних в зоні Полісся України, ідентифіковано такі збудники захворювання: *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *mesentericus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*.

2. Виділено 17 сильнопатогенних штамів: *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* - 3лп, 36лп, 63л, 36лпв, 32л; *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* - 10; *Pseudomonas fluorescens* - 25лп; *Fusarium oxysporum* - 25н, 4к, 12ч; *Fusarium solani* - 32о, 17н, 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, менший в 3 рази вміст відновлюючих цукрів, більше 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. Встановлено, що в тканинах заражених мокрою гниллю

бульб картоплі відносно стійких сортів, на відміну від нестійких, в період зберігання відбувається підвищення інтенсивності фізіолого-біохімічних процесів: зростання активності пероксидази, поліфенолоксидази /у весняний період/, значне підвищення вмісту фенольних сполук /на 45%/.

6. На основі біотехнологічних методів розроблено селективна система для отримання відносно стійких генотипів картоплі проти збулника *Fusarium oxysporum*, яке включає поетапну селекцію калусної культури на поживному середовищі з фактором стресу: культуральним фільтратом 10-14-денної культури гриба *Fusarium oxysporum*, вирощеного на рідкому середовищі Чапека 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 Зарево з відносною стійкістю проти культурального фільтрата збулника *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 інцухт-ліній від резистентних батьківських форм.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В науково-дослідних установах по селекції картоплі використовувати ґільнопатогенні штами: *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* - 3лі, 36лі, 92л, 63лі, 36ліе; *Е. с.* subsp. *carotovora* - 1о; *Pseudomonas fluorescens* - 25лі; *Fusarium oxysporum* - 25н, 4к, 12ч; *Fusarium solani* - 32о, 17п, 22о для цілеспрямованої селекції на стійкість проти гнилей.

2. Отримані генотипи картоплі в результаті інбридингу та на основі біотехнологічної селекції з високою відносною стійкістю до гнилей бульб доцільно використовувати за вихідний матеріал в науково-дослідних установах по селекції картоплі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- ✓ 1. Адамян К.М. Вредоносность возбудителей фузариозной гнили клубней картофеля. // Микология и фитопатология. - 1984. - Т.18, вып.5. - С.401-403.
2. Ансенова В.А., Кожанова О.Н., Рубин Б.А. О некоторых свойствах пероксидазы инфицированных тканей растения. // Физиология растений. - 1971. - Т.18, № 2. - С.387-392.
3. Барбой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. - К.: Наук.думка, 1976. - 260 с.
- ✓ 4. Бельтюнова К.И., Метывская М.С., Куликовская И.Л., Силоренко С.С. Методы исследования возбудителей болезней растений. - Киев: Наук.думка, 1968. - - 316 с.
- ✓ 5. Білай В.І., Чернес О.І., Богомолова Л.О., Французова С.Б. Токсико-біологічні властивості фузарієвої кислоти. // Мікробіол. журн. - 1975. - Т.37, вип.5. - С.325-328.
- ✓ 6. Білай В.И. Фузарии. - К.: Наук.думка, 1977. - 441 с.
- ✓ 7. Білай В.И., Гвоздяк Р.И., Сиринько И.Г. и др. Микроорганизмы - возбудители болезней растений. - К.: Наук.думка, 1988. - 549 с.
8. Бленда В.Ф. Лейкоантоцианы в годичном цикле плодовых культур. // Физиология и биохимия культурных растений. - 1978. - Т.10, вып.1. - С.90-94.
9. Бленда В.Ф. Распределение проантоцианидинов по тканям семенных органов проростков и сеянцев плодовых культур // Физиология и биохимия культурных растений. - 1979. - Т.1, вып.4. - С.365-370.
10. Бленда В.Ф. Определение катехинов, оксикоричных кислот, флавонолов спектрофотометрическим способом в плодах яблоки. // Селекция яблоки на улучшение качества плодов. - Орел, 1985. - с.85-91.

11. Буга С.Ф. Проблема борьбы с корневыми гнилями. //Защита растений. - 1984. - № 1. - С.17-20.
- ✓ 12. Будашкина Е.Б., Льянов Ю.Т., Луисовский П.М. и др. Генетические основы селекции растений на иммунитет. - М: Наука, 1973. - 232 с.
- ✓ 13. Бутенко Р.Г. Некоторые физиологические проблемы при культивировании *in vitro* картофеля. //Регуляция роста и развития картофеля. - М.: Наука, 1980. - С.88-98.
- ✓ 14. Вавилов Н.И. Иммунитет растений к инфекционным заболеваниям: Избр.тр.: В 5 т. - М.-Л., 1964. - 4 т. - 139 с.
- ✓ 15. Васильева К.В., Гладких Т.А., Лавылова И.А. Пектолитические ферменты фитопатогенных микроорганизмов в патогенезе растений. //Биохимия иммунитета покоя, старения растений. - М.: Наука, 1984. - С.105-123.
- ✓ 16. Вітенко В.А., Осипчук А.А., Кучко А.А. та ін. Селекція і насінництво картоплі. - К.: Урожай, 1988. - 240 с.
- ✓ 17. Витукевич Э.Р. Заболевание клубней картофеля сухой гнилью при хранении: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. - Харьков, 1958. - 23 с.
- ✓ 18. Верлеровский Л.Л. Иммунитет растений к инфекционным болезням. - Кишинев: Картя Молдовеняске, 1968. - 215 с.
- ✓ 19. Воловик А.С., Глез В.М. Защита картофеля в индустриальных технологиях. //Защита растений. - 1983. - № 6. - С.39-41.
- ✓ 20. Воловик А.С., Тресимец Л.Н., Шнейдер Ю.И., Брюсов В.Н. Система защиты картофеля. //Защита растений. - 1983. - № 9. - С.42-44.
- ✓ 21. Воловик А.С., Борисенок А.Е. Профилактика болезней картофеля. //Защита растений. - 1984. - № 1. - С.36-37.
- ✓ 22. Воронкевич И.В. Выживаемость фитопатогенных бактерий в природе. - М. наука, 1974. - 270 с.

23. Вронских М.Ю. Особенности защиты полевых культур при индустриальной технологии. //Защита растений. - 1984. - № 1. - С.20-21.
24. Гешеле Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений. - М.: Колос, 1978. - 205 с.
25. Гладких Т.А., Васильева К.В. Множественность форм пектотических ферментов. //Биохимия иммунитета покоя, старения растений. - М.: Наука, 1984. - С.124-134.
26. Горленко М.В. Краткий курс иммунитета растений к инфекционным болезням. - М.: Высшая школа, 1973. - 365 с.
27. Гуляев Г.В., Гужов Э.Л. Селекция и семеноводство полевых культур. - М.: Агропромиздат, 1987. - 446 с.
28. Лементьева М.И. Фитопатология. - М.: Колос, 1977. - 367 с.
29. Лмитриев А.И., Ковтун А.В. Роль конститутивных фенольных веществ лука в устойчивости к патогенам. //Физиология и биохимия культурных растений. - 1988. - Т.20, № 1. С.22-25.
30. Лмитриева К.О. К вопросу о физиолого-биохимической природе реакции "сверхчувствительности" при порезении пшеницы стеблевой ржавчиной: Автореф. канд. дисс. - Фрунзе. - 1971. - 21с.
31. Порожкин Н.А., Иванюк В.И., Михальчик В.Г. Условия образования и роль фитоалексинов в устойчивости клубней картофеля к сухой фузариновой гнили. //Попклады ВАСХНИЛ. - М.: Колос, 1976. - С.4 - 6.
32. Порожкин Н.А., Бельская С.И., Новикова Л.И. Пентологическая активность возбудителей мокрых гнилей картофеля. //Фитонциды. Бактериальные болезни растений: Тез. докл. - Киев: Наук. думка, 1985. - С.7-8.
33. Порожкин Н.А., Бельская С.И., Викторчик И.В. и др. Клубневые гнили картофеля. - Минск: Наука и техника, 1989. - 134 с.

- ✓ 34. Лоспехов Б.А. Методика полевого опыта /с основами статистической обработки результатов исследований/. Изд.5-е, перераб. и дополн. - М.: Агропромиздат, 1985. - 351 с.
- ✓ 35. Ермяков А.И. Методы биохимического исследования растений. - Л.: Колос, 1972. - 455 с.
- ✓ 36. Жеребило О.Е. Сохранение вирулентных свойств бактериями *Erwinia carotovora*. //Тез. докл. на IV Всесоюзном совещании /Ереван, 22-24 дек.1980/. - М., 1980. - С.23.
37. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. - М.: Высшая школа, 1974. - 215 с.
38. Зейкель М.К. Выделение и идентификация фенольных соединений в биологических материалах. //Биохимия фенольных соединений. - М.: Мир, 1968. - С.34 - 70.
39. Кабашная Л.В. *Pseudomonas fluorescense* Migula, выделенный из калл и гивцинтов, пораженных мягкой гнилью. //III Всесоюз. конф. по бактериальным болезням растений: Тез. докл. - Тбилиси, 1976. - С.192 - 193.
- ✓ 40. Кабашная Л.В., Гвоздяк Р.И. Сравнительная характеристика штаммов *Erwinia carotovora* различной вирулентности. //Микробиол. журн. - 1982. - Т.44, вып.3. - С.8 - 12.
- ✓ 41. Кералдова Л.В. Фузариозы полевых культур. - Кишинев, 1989. - 253 с.
42. Кастальева Т.Б. Сравнительное исследование о-лифенолоксидазы различных сортов картофеля. //Бюлл. ВИЗР.-Л., 1976. - Т.35. - С.55 - 59.
- ✓ 43. Плыков С. Роль продуктов метаболизма грибных паразитов картофеля в устойчивости к основным заболеваниям. //Борьба с вредителями и болезнями картофеля, плодовоовощных и полевых культур: Труды ЛСХА. - Елгава, 1982. - Вып.200. - С.45 - 48.
- ✓ 44. Коваль Е.В., Швед А.Л. Дослідження будови поверхні і складу клітинних оболонок деяких видів фузаріїв. //Мікробіологічний

- журнал. - 1975. - Т.35, вып.4. - С.447 - 454.
45. Коваль Н.Л. Вивчення стійкості сортів і гібридів картоплі проти сухої фузаріозної гнилі. // Картоплярство. - 1983. - Вип.14. - С.23-25.
46. Кораблева Н.П. Биохимическая природа покоя и перехода к активному росту /на примере клубней картофеля/: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. - М., 1974. - 57 с.
47. Кораблева Н.П., Морозова Э.В., Попова Л.В. Изучение биохимических механизмов взаимосвязи покоя и иммунитета растений на примере фенольных соединений. // Тр. Всесоюз. совещания по иммунитету растений. - Киев, 1968. - С.41-42.
48. Королева И.Б., Сидоренко В.П. *Erwinia herbicola*, выделенная из озимой пшеницы на Украине. // Бактериальные болезни растений. - М.: Колос, 1981. - С.163-166.
49. Костина П.В., Карменов С.Н., Яшина И.М. Использование защищенного грунта при выращивании гибридных сеянцев картофеля. // Селекция, семеноводство и биотехнология картофеля: Науч. труды НИИВХ. - М., 1989. - С.57-64.
50. Костюшина З.С., Кирюхин В.П. Особенности углеводного обмена и крахмелонакопления у картофеля на супесчаной и торфяной почве. // Тр. НИИВХ. - М., 1972. - Вып.12. - С.30-39.
51. Кретович В.Л. Биохимия растений. - М.: Высшая школа, 1986. - 502 с.
52. Кучеренко Л.В. Таксономічне вивчення деяких біологічних властивостей бактерій родів *Pseudomonas* і *Erwinia*. // Мікробіол. журн. - 1969. - Т.31, № 6. - С.582-589.
53. Кучко А.А., Бутенко Р.Р., Тарасенко В.А. Соматическая гибридизация у картофеля. // Сельскохозяйственная биология. - 1983. - № 7. - С.54-57.
54. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. - М.: Медицина, 1978. - 391 с.

55. Лебелев С.И. Физиология растений. - М.: Агрпромиздат, 1988. - 544 с.
- ✓ 56. Леонова П.С., Соловченко Л.П., Симонов О.Г. и др. Соматическая изменчивость как источник генетической изменчивости у картофеля. // Материалы научной конференции по с/х биотехнологии: Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. - Пелиноград, 1991. - С.21.
- ✓ 57. Липсиц Л.В. Биохимические основы болезнеустойчивости картофеля. - М.: ВНИИТ, 1972. - 201 с.
58. Логинов И.Я. Сроки снятия ягод и всхожесть гибридных семян картофеля. // Актуальные вопросы картофелеводства: Материалы конференции молодых ученых /5-10 мая 1985 г./ - 1985. - С. 85-91.
59. Маргне У.Е. О регуляции накопления фенолпропаноидных полифенолов в клетках растений. // Журнал общей биологии. - 1977. - Т.38, № 5. - С.754-766.
- ✓ 60. Маруненко И.М., Кучко А.А., Олейник Т.И. и др. Клеточная селекция картофеля на устойчивость к патогенам. // Международная конференция. Биология культивируемых клеток и биотехнология: Тез. докл. - 1988. - Ч.1. - С.21.
- ✓ 61. Маруненко И.М., Кучко А.А., Олейник Т.И. Методические рекомендации для получения исходного селекционного материала картофеля с помощью методов клеточной селекции. - Киев: УАН, 1991. - 28 с.
- ✓ 62. Международный классификатор СОВ видов картофеля секции *Tuberosarium/Dup.* Вик. рода *Solanum* L. - Л., 1984. - 43 с.
- ✓ 63. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. Фитоиммунитет. - М.: Наука, 1968. - 91 с.
- ✓ 64. Метлицкий Л.В., Гусев С.А., Тентонид^У И.П. Основы биохимии и технологии хранения картофеля. - М.: Колос, 1972. - 205 с.

65. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. Фитоалексины. - М.: Наука, 1973. - 205 с.
66. Метлицкий Л.В., Озерецковская. Индуцированный иммунитет растений к паразитным грибам. - М.: Известия АН СССР. - 1978. - № 5. - 230 с.
67. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. Биохимия иммунитета растений к инфекционным болезням. // Биохимия иммунитета покоя, старения растений. - М.: Наука, 1984. - С.9-40.
68. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. Как растения защищаются от болезней. - М.: Наука, 1985. - 192 с.
69. Методические рекомендации по идентификации бактерий, поражающих картофель. Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений. Ленинград. - 1989. - 49 с.
70. Михальчик В. Влияние температуры и относительной влажности воздуха на устойчивость картофеля к сухой фузариозной гнили. // Сб. науч. тр. БСХЛ. - Горки, 1976. - Вып. 7. - С.65-70.
71. Михальчик В.Г. Биологические особенности возбудителя фузариоза клубней картофеля и меры борьбы с болезнью в условиях Белоруссии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Минск, 1977. - 24 с.
72. Озерецковская О.Л., Метлицкий Л.В. Биохимические основы защиты растений. - М.: Наука, 1966. - 244 с.
73. Пересыпкин В.Ф., Вразжевская Т.Г., Подопличко В.И., Лопатин В.И. Словарь-справочник по фитопатологии / Под ред. В.А. Пересыпкина. - Киев: Урожай, 1985. - 200 с.
74. Подопличко И.И. Грибы - паразиты культурных растений: Определитель: В 3 т. - Киев: Наук. думка, 1977-1978. - 3 т.
75. Подгаецкий А.А., Коваль И.Л. Поиск источников устойчивости к сухой фузариозной гнили. // Селекция и биотехнология картофеля: науч. тр. НИИХ. - М.: 1990. - С.38-43.

76. Положенець В.М., Осипчук А.А. Вивчення стійкості селекційного матеріалу картоплі до мокрої гнилі. //Картоплярство.- 1988а. - Вип.20. - С.15-17.
77. Положенець В.М., Осипчук А.А. Селекція картоплі на стійкість проти мокрої гнилі. //Картоплярство. - 1988б. - Вип. 19. - С.12-14.
78. Положенець В.М. Изучение биологических особенностей бактериозов картофеля в условиях Полесья Украины. //Микробиол. журн. - К.: Наук.думка, 1992. № 3.
79. Попкова К.В., Шнейдер Ю.И., Воловик А.С. и др. Болезни картофеля. - М.: Колос, 1980. - 303 с.
80. Починок Х.П. Методы биохимического анализа растений. - Киев: Наук. думка, 1976. - 333 с.
81. Пржеводските Я., Симаневичене О. Удобрения и болезни картофеля. //Защита растений. - 1983. - № 4. - С.25.
82. Рагозина И.И. Биохимическая природа взаимоотношений возбудителя черной ножки картофеля и растения-хозяина. //НИИЖХ. - М., 1972. - Вып.12. С.23-29.
83. Рассадина. Возможности клеточного уровня организации генотипа для повышения устойчивости растений картофеля к патогенам и стрессам. //Использование клеточных технологий в селекции картофеля. - М. - 1987. - С.19-25.
84. Рубин Б.А., Ансенова В.А. Участие полифенолазной системы в защитных реакциях картофеля против *Phytophthora infestans*. //Биохимия. - 1957. - Т.22, вып.2. - С.202.
85. Рубин Б.А. Молекулярные механизмы взаимодействия партнеров в системе растение - хозяин - паразит. //Гр.Всесоюз. совещания по иммунитету растений. -Киев, 1969.- С.11-13.
86. Рубин Б.А., Арциховская Е.В., Ансенова В.А. Биохимия и физиология иммунитета растений. - М.: Высшая школа, 1975. - 319 с.

- ✓ 87. Сидоров В.А., Кучко А.А., Гайдук П.П., Глеба Ю.Ю. Соматические вариации среди растений, полученных из протеклов картофеля. // Докл. АН СССР. - 1985а. - Т.281, № 3. - С.704-707.
- ✓ 88. Сидоров В.А., Пивень И.М., Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Соматическая гибридизация пасленовых. - Киев: Наук.думка, 1985б. - 130 с.
89. Силярове П.П., Кучумов В.О., Астенакулов Т.Э. Влияние стимуляторов роста и микроэлементов на полевую всхожесть и урожайность гибридных популяций картофеля при возделывании семенами. // Селекция, семеноводство и биотехнология картофеля: Науч. труды НИИКХ. - М., 1989. - С.57-64.
90. Смелянец В.П., Король Т.С. Содержание фенольных соединений в образцах люцерны с различной устойчивостью и люцерновой цветочной галлице. // Защита растений. - 1986. - Т.33. - С.39-41.
91. Соколова В.Е. Превращение хлорогеновой кислоты и устойчивость клубней картофеля к фитофторозу. // Биохимия плодов и овощей. - М.: Изд-во АН СССР, 1962. - С.115-118.
- ✓ 92. Суриова Г.А. Типы фузариозных гнилей клубней картофеля. // Микология и фитопатология. - 1978. - Т.12, вып.5. - С.419-425.
93. Сухоруков К.Г. Физиология иммунитета растений. - М.: Изд-во АН СССР, 1952. - 145 с.
94. Теплер Е.З., Шильников Е.В., Переверзев Г.В. Практикум по микробиологии. - М.: Агропромиздат, 1987. - 238 с.
- ✓ 95. Филиппова Г.М., Резниченко В.В., Иванова Н.Г. Влияние повышенных доз минеральных удобрений на пораженность картофеля болезнями. // Селекция картофеля на иммунитет и защита от болезней и вредителей: Науч. труды НИИКХ. - М., 1986. - С.73-79.

96. Харборн Л.Б. Фенольные гликозиды и их распространение в природе. // Биохимия фенольных соединений. - М.: Мир, 1968. - С.109-140.
97. Хомяков М.Т., Адамян К.М. Влияние условий среды на патогенность возбудителей фузариозной гнили клубней картофеля. // Микология и фитопатология. - 1982. - Т.16, вып.5. - С.447-451.
98. Хохряков М.К., Потлейчук В.В., Семенов А.Н., Элбэян М.А. Определитель болезней сельскохозяйственных культур. - Л.: Колос, 1984. - 304 с.
99. Хромова Л.М., Селнико Г.В., Бутенко Р.Г. и др. Клеточная селекция картофеля. // Сельскохозяйственная биология. - 1983. - № 6. - С.3-11.
100. Шапиро И.Л., Вилкова Н.А., Спелян Э.И. Иммуитет растений к вредителям и болезням. - Л.: Агропромиздат, 1986. - 192 с.
101. Эмануэль Н.В. Фенольные соединения и их биологические функции. - М.: Наука, 1968. - 311 с.
102. Ярошенко Т.В. краткий курс иммунитета растений к инфекционным заболеваниям. - Харьков: Вища школа, 1980. - 155 с.
103. Яшина И.М. Теоретические и методологические основы практической селекции картофеля на устойчивость к болезням и вредителям. // Селекция картофеля на иммунитет и защита от болезней и вредителей: Науч.тр.НИИХХ. - М., 1986. - С.3-17.
104. Akhtar M., Garraway M.O. Changes in maize peroxidase associated with variation in susceptibility to *Bipolaris maydis* Race T. // *Phytopathology*. - 1987. - V. 77. - P. 1740.
105. Arinze A.E., Smith I.M. Distribution of polygalacturonase, total phenolic substances, polyphenol oxidase and peroxidase in rot zones in sweet potato // *Plant Pathology*. - 1982. - V. 31. - P. 119-122.

106. Arora J.K., Bajaj K.L. Peroxidase and polyphenol oxidase associated with induced resistance of mung bean to *Rhizoctonia solani* Kuhn. // *Phytopathol. Z.*- 1985.- V.114, N 4.- P. 325-331.
107. Bate-Smith E.C. Chromatography and taxonomy in the Rosaceae, Witt special reference to *Patentilla* and *Prunus* // *J. Linn. Soc. Bot.*- 1966.- V. 58.- P. 39.
- ✓ 108. Beczner J., Lund B.M., Bayliss C.E. Rishitin, Phytuberin, lubimin and solovetivone in tissue of tubers infected with *Erwinia carotovora* var *atroseptica* or with *Phytophthora infestans* // *Acta Phytopathol. Acad. Scient. Hung.*- 1979.- V. 14.- P. 335-344.
- ✓ 109. Behnke M. Selection of potato callus for resistance to culture filtrates of *Phytophthora infestans* and regeneration of resistant plants // *Theor. and Appl. Genet.*- 1979.- V. 55.- P. 69-71.
- ✓ 110. Behnke M. General resistance to late blight of solanum tuberosum plants regenerated from callus resistant to culture filtrates of *Phytophthora infestans* // *Ibid.*- 1980.- V. 56.- P. 151-152.
- ✓ 111. Behnke M. Selection of dihaploid potato callus for resistance to the culture filtrates of *Fusarium oxysporum* // *Z. Pflanzenzücht.*- 1980.- V. 85.- P. 254-258.
112. Bergey's manual of systematic bacteriology.- Baltimore; London : Williams and Wilkins Co, 1984.- 964 P.
113. Biehn W.L., Sands D.C., Hankin L. Relationship between percent dry matter content of potato tubers and susceptibility to bacterial soft rot // *Phytopathology.*- 1972.- V. 62.- P. 747.
114. Binns A., Meins F.J. Evidence that habituation of tobacco pith cell division promoting factors in heritable and potentially reversible // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*- 1973.- V. 70.- P. 2660-2662.
115. Bollard E.G. and Matthews R.E.F. The physiology of parasitic disease // *Plant physiology.*- 1966.- V. IV B. - P. 417-550.
- ✓ 116. Brettell R.I.S., Thomas E., Ingram D.S. Reversion of Texas malesterile cytoplasm maize in culture to give fertile, T-toxin resistant plants // *Theor. and Appl. Genet.*- 1980.- V. 58, N 2.- P. 55-58.

- II7. Brettell R.I.S., Palotta M.A., Gustafson J.P., Appels R. Variation at the Norloci in triticales derived from tissue culture // *Ibid.*- 1986.- V. 71, N 4.- P. 637-643.
- II8. Buvat R. Recherches sur la dedifferentiation des cellules vegetales // *Ann. Sci. Nat. Bot.*- 1944.- V. 5.- P. I-130.
- II9. Camegie S., Colhoun G. Effects of plant nutrition on susceptibility of potato leaves to *Phytophthora infestans* // *Phytopathol., Z.*- 1983.- V. 108, N 3/4.- P. 250.
- I20. Ceska M. Biosynthesis of levan and new method for the assay of levan sucrose activity // *Biochem. J.*- 1971.- V. 125, N 1.- P. 209-211.
- I21. Chawla H.S., Wenzel G. In vitro selection for Fusaric acid resistant barley plants // *Plant Breeding.*- 1987.- V. 99.- P. 159-163.
- I22. Gohen G., Ibrahim R. Changes in phenolic compounds of sunflowers infected by *Plasmopara halstedii* // *Canad. J. Bot.* 1975.- V. 53, N 22.- P. 2625-2630.
- I23. Cook M.T., Bassett H.P., Thompson F., Taubenhaus J.J. Protective enzymes // *Science.*- 1911.- P. 624-629.
- I24. Court W.A. High-performance reversed-phase liquid chromatography of naturally occurring phenolic compounds // *Journal of Chromatography.*- 1977.- V. 130.- P. 287-291.
- I25. Davies D. Fusaric acid in selective pathogenicity of *Fusarium oxysporum* // *Phytopathology.*- 1969.- V. 59.- P. 1391-1395.
- I26. De Boer S.H., Kelman A. Influence of oxygen concentration and storage factors on susceptibility of potato tubers to bacterial soft rot // (*Erwinia carotovora*) // *Potato Research.*- 1978.- V. 21.- P. 409-415.
- I27. De Kock P.C., Hall A. and Inkson R.H.E. A Study of peroxidase and catalase distribution in the potato tuber // *Ann. Bot.* - 1979.- V. 43, N 3.- P. 295-298.
- I28. Dye W.D. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. The "amylovora" group // *N.Z.J. Sci.*- 1969.- V. II, N 4.- P.590-607.
- I29. Evans M., Rawlinson C. Stem sugars : a possible factor affecting the resistance of wheat to *Pseudocercospora herpetrichoides* // *Phytopathol. Z.J. of Phytopathol.*-1977.- V.89, N 1.- P. 37-43.

- I30. Evans D.A. Genetic basis of somaclonal variation in tomato // Plant Tissue and Cell Culture Application to Crop Improvement: Proc. Int. Symp. Olomouc, Czechoslovakia. Sept. 24-29, 1984-Prague, 1984.- P. 259-265.
- I31. Evans D.A., Sharp W.R., Medino-ilho H.A. Somaclonal and gametoclonal variations // Amer. J. Bot.- 1984.- V. 71, N 6.- P. 759-774.
- I32. He M. Methyl cyclase of bacteria // Arch. Biochem. Biop.- 1971.- V. 144.- P. 262-268.
- I33. Iritani W.A., Weller I.D., Russell I.B. Relative difference in sugar content of basal and apical portions of Russet Burbank potatoes // Am. Potato J.-1973.-V. 50.-P. 24-31.
- I34. Iritani W.A., Weller I.D. Changes in sucrose and reducing sugar contents of Kennebec and Russet Burbank tubers during growing and post harvest holding temperatures // Am. Potato J. 1977.-V. 54.-P. 395-404.
- I35. Isherwood F., Burton W. The effect of senescence, handling, sprouting and chemical sprout suppression upon the respiratory quotient of stored potato tubers // Potato Res.-1975.- V. 18, -N 1.-P. 98-104.
- I36. Markas G.L., Kiraly Z., Solymosy F. Role of oxidative metabolism in the localization of plant viruses // Virology.-1960. V. 12.-P. 408-421.
- I37. Markas G.L., Kiraly Z. Role of phenolic compounds in the physiology of plant diseases and disease resistance // Phytopathologische Zeitschrift.-1962.-V. 44.-P. 105-150.
- I38. Mehrman H., Dimond A.B. Peroxidase activity and Phytophthora resistance in different organs of the potato plant // Phytopathology.-1967.-V. 57.-P. 69-72.
- I39. Fox R. et al. Ultrastructure of tissue disintegration and host reaction in potato tubers infected by *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* // Potato Res.-1972.-V. 2.-P. 137-145.
- I40. Friedman B.A. Physiological differences between a virulent and weakly virulent radiation-induced strain of *Erwinia carotovora* // Phytopathology.-1962.-V. 52.-P. 328-332.
- I41. Friedman B.A., Ceponis M.J. Acid production by *Erwinia carotovora* in vivo as a factor in virulence // Phytopathology.- 1964.-V. 54.- P. 237.

- I42. Friend J., Reynolds S.B., Aveyard M.A. Phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid and lignin in potato tuber tissue inoculated with *Phytophthora infestans* // *Physiological Plant Pathology*.- 1973.- V. 3.- P. 495-507.
- I43. Friend J. Phenolic substances and plant disease // *Annual Proceedings of the Phytochemical Society*.- 1985.- V.25.- P. 367-392.
- I44. Fuchs A. Synthesis of levan by *Pseudomonas* // *Nature*.- 1956.- V. 178, N 43.- P. 921.
- I45. Gann P. Physiological response of potato tubers to damage and infection by *Phoma exigua* f. sp. *foveata* // *Ann. appl. Biol.*- 1978.- V. 89, N 2.- P. 307-309.
- I46. Gengenbach B.G., Green C.E. Selection of T- cytoplasm maize callus cultures resistant to *Helminthosporium maydis* race T. pathotoxine // *Crop. Sci.*- 1975.- V. 15.- P. 645-649.
- I47. Gengenbach B.G., Green C.E., Donovan C.M. Inheritance of selected pathotoxin resistance in maize plants regenerated from cell cultures // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.- 1977.- V. 74, N 11.- P. 5113-5117.
- I48. Gindrat D., Pilloud R. La pourriture fongique des tubercules de pomme de terre en atmosphere controlee // *Potato Res.* 1985.- V. 28.- P. 153-160.
- I49. Ghanekar A.S., Padwal-Desai S.R., Nadkarni G.B. The involvement of phenolics and phytoalexins in resistance of potato to soft rot // *Potato Research*.- 1984.- V. 27.- P. 189-199.
- I50. Guyonnet J.P. L' avant- garde de selection // *Semences Progr.*- 1982.- V. 34.- P. 4-9.
- I51. Habib A., Brown H.D. Role of reducing sugars and an acids in browning of potato chips // *Food Technol.*- 1957.- V. II.- P. 85-89.
- I52. Hammerschmidt R., Kuc J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber // *Physiol. Plant Pathol.*- 1982.- V. 20, N 1.- P. 61-71.
- I53. Hammerschmidt R., Kuc J., Nuckles E.M. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance to *Colletotrichum lagenarium* // *Physiol. Pl. Pathol.*- 1982.- V. 20. P. 73-82

154. Hartman C.L., Mc Coy T.J., Knous T.R. Selection of alfalfa (*Medicago sativa*) cell lines and regeneration of plants resistant to the toxins produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *medicaginis* // *Plant Sci. Lett.*- 1984.- V.34.- P. 183-194.
155. Hideyoshi Toyoda, Hideyuki Hayashi, Keitaka Yamamoto, Toku-ro Hirai. Selection of Resistant Tomato Calli to Fusaric Acid // *Ann. Phytopath. Soc. Japan.*- 1984.- V. 50.- P. 538-540.
156. Holmberg T., Fetterson H. Toxin production by *Fusarium* species isolated from Swedish-grown cereals // *Swed. J. Agr. Res.*- 1986.- V. 16, N 4.- P. 183-185.
157. Jacobs M. Selection of biochemical mutants. Respective merits of the in-vitro and whole-plants approaches // *Selec. Mutat. Breed. Vienna.*- 1984.- P. 135-143.
158. Jenson G and Schaal L.A. Accumulation of phenolic substances and ascorbic acid in potato tuber tissue upon injury and their possible role in disease resistance // *Amer. Potato J.*- 1957.- V. 34.- P. 200-209.
159. Johnson L.B., Lee R.F. Peroxidase changes in wheat isolines with compatible and incompatible leaf rust infection // *Physiol. Pl. Path.*- 1978.- V. 13.- P. 173-181.
160. Keen N.I., Horton J.C. Sugar repression of endopolygalacturonase and cellulose synthesis during pathogenesis by *Pyrenochaeta terrestris* as a resistance mechanism in onion pink root // *Phytopathology.*- 1965.- V. 55.- P. 1063-1064.
161. Kelman A., Baughn J.N., Maher E.A. The relationship of bacterial soft rot susceptibility to water status of potato tubers // *Phytopathol. News.*- 1978.- V. 12.- P. 178.
162. Kemble R.J., Flavell R.B., Brettell R.J.S. Mitochondrial DNA analyses of fertile and sterile maize plants derived from tissue culture with the Texas male sterile cytoplasm // *Theor. and Appl. Genet.*- 1982.- V. 62, N 3.- P. 213-217.
163. Kiraly Z. and Farkas G.L. Relation between phenol metabolism and stem rust resistance in wheat // *Phytopathology.*- 1962. V. 52.- P. 657-664.

164. Knäsel D., Lange E. The influence of pectolytic enzymes on bacterial infection of plant tissue // Proc. 3 rd Int. Conf. on Plant Pathogenic Bacteria.- Wageningen., 1972.- P. 345-350.
165. Kohn F.C.Jr., Hendrix H.H.Jr. The influence of sugar content on the development of white rot of apple // Phytopathology.- 1980.- V. 70.- P. 568-569.
166. Kovacs N. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction // Nature.- 1956.- V. 178.- P. 535,703.
167. Kraft J. The role of delphinidin and sugars in the resistance of pea seedlings to *Fusarium* root rot // Phytopathology.- 1977.- V. 67, N 8.- P. 1051-1061.
168. Kut. Phytoalexins in irish potato // Ann. rev. Phytopathol. 1972.- V. 10.- P. 207-212.
169. Landsmann J., Uhrig H. Somaclonal variation in *Solanum tuberosum* detected at the molecular level // Theor. and Appl. Genet.- 1985.- V. 71, N 3.- P. 500-505.
170. Langerfeld E. Integrierte Pflanzenschutzmassnahmen bei der Bekämpfung von Lagerfäule-Erregern bei Kartoffeln // Gesunde Pflanzen.- 1979.- V. 31.- P. 148-150.
171. Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation-a novel source of variability from cell cultures for plant improvement// Theor. and Appl. Genet.- 1981.- V. 60, N 4.- P. 197-214.
172. Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation : a new option for plant improvement // Plant improvement and somatic cell genetics.- Orlando etc. : Acad. press, 1983.- P. 159-178.
173. Lewas J., Lojkowska E. Maceracja trunki bulw ziemniaka przez enzymy *Erwinia carotovora* elektroprowadnościowa metoda pomiaru stopnia maceracji // Biul. Inst. Ziemn. Bonin.- 1982.- V. 27.- P. 113-115.
174. Ling D.H., Vidhyaseharan P., Barron E.C. et. al. In vitro screening of rice germplasm for resistance to brown spot disease using phytotoxin // Theor. and Appl. Genet.- 1985.- V. 71, N 1.- P. 133-135.
175. Lovrecovich L., Lovrecovich H., Stahmann M.A. The importance of peroxidase in the wildfire disease // Phytopathology.- 1968.- V. 58.- P. 193-198.

176. Lörz H., Brown P.T.H. Variability in tissue culture, derived plants- possible origins, advantages and drawbacks // Genetic Manipulation in Plant Breeding.- Berlin.- New York: Walter de Gruyter Co, 1986.- P. 513-534.
177. Lyon G.D. The biochemical basis of resistance of potatoes to soft rot *Erwinia* spp.- a review // Plant Pathology.- 1989.- V. 38.- P. 313-339.
178. Lund B.M., Nicholls J.C. Factors influencing the rotting of potato tubers by bacteria // Potato Res.- 1970.- V. 13.- P. 210-214.
179. Macko V., Woodbury W., Stanmann W.A. The effect of peroxidase on the germination and growth of mycelium of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // Phytopathology.- 1969.- V. 56.- P. 1252-1254.
180. Magro P. et al. Metabolic alteration induced by *Botrytis allii* in two onion cultivars with different resistance to neck rot // Plant Pathol.- 1983.- V. 32, N 3.- P. 295-302.
181. Maher E., Kelman A. Internal factors influencing bacterial soft rot potato tubers // Res. for the potato year 2000.- 1983.- P. 124-125.
182. Marathe H. Changes in polyphenoloxidase and peroxidase in muskmelon (*Cucumis melo* L.) infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* // Physiol. Pl. Path.- 1973.- V. 3.- P. 29-49.
183. Matern U., Strobel G., Shepard J. Reaction to phytotoxins in a potato population derived from mesophyll protoplasts // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.- 1978.- V. 75, N 10.- P. 4935-4939.
184. Matheis G., Whitaker J.R. Modification of proteins by polyphenol oxidase and peroxidase and their products // Journall of Food Biochemistry.- 1984.- V. 8.- P. 157- 162.
185. Maxwell D.P., Batteman P. Changes in the activities of some oxidases in extracts of *Rhizoctonia*- infected bean hypocotyls in relation to lesion maturation // Phytopathology.- 1967.- V. 57.- P. 132-136.
186. McCoy T.J., Phillips R.L., Rines H.W. Cytogenetic analysis of plants regenerated from oat (*Avena sativa*) tissue cultures. High frequency of partial chromosome loss // Can. J. Genet. and Cytol.- 1982.- V. 24.- P. 37-50.

187. McCoy T. Tissue culture selection for disease resistant plants // Iowa State J. Res.- 1988.- V. 62,- N 4.- P. 503-521.
188. McGuire R.G., Kelman A. Relationship between calcium levels in potato tubers and *Erwinia* soft rot // Phytopathology.- 1983.- V. 72.- P. 1138.
189. McGuire R.G., Kelman A. Reduced severity of *Erwinia* soft rot in potato tubers with increased calcium content // Phytopathology.- 1984.- V. 74.- P. 1250-1256.
190. Mitra J., Mapes M.D., Steward F.C. Growth and organized development of cultured cells. The behaviour of the nucleus // Amer. J. Bot.- 1960.- V. 47,- N 5.- P. 357-368.
191. Morris S.C., Forbes-Smith M.R., Scriven F.H. Determination of optimum conditions for suberization, wound periderm formation, cellular desiccation and pathogen resistance in wounded *Solanum tuberosum* tubers // Physiol. molec. Plant Pathol.- 1989.- V. 35,- N 2.- P. 177-190.
192. Mullen J.M., Bateman D.F. Polysaccharide degrading enzymes produced by *Fusarium roseum* "Avenaceum" in culture and during pathogenesis // Physiological Plant Pathology.- 1975.- V. 6.- P. 233-246.
193. Munzert M., Hunnius W. Beziehungen zwischen den Resistenzen gegen Schwarzbeinigkeit, Nass- und Trockenfaule der Kartoffel // Z. Pflanzucht.- 1980.- V. 85,- N 1.- P. 105-108.
194. Murashige T., Wakano R. Tissue culture as a potential tool in obtaining polyploid plants // J. Hered. - 1966.- V. 57.- P. 114-118.
195. Nabors M.W. Increasing the salt and drought tolerance of crop plants // Current topics in plant biochemistry and physiology.- 1983.- P. 165-184.
196. Nauman K., Zielke R., Pett B., Stachewicz H., Janke C. Bedingungen für den Ausbruch der Knollennassfaule der Kartoffel bei latentem Befall // Arch. Phytopathologie.- Pflanzenschutz.- 1976.- V. 12.- P. 87-99.
197. Naylor A.W., Bander G., Skoog F. Mitosis and cell enlargement without cell division in excised tobacco pith tissue // Physiol. Plant.- 1954.- V. 7.- P. 25-29.
198. Nenec S. Response of three root rot fungi to strawberry phenolics and the relation of phenolics to disease resistance // Mycopathologia.- 1976.- V. 59. N 1.- P. 37-40.

199. Nielsen L.W. Pathogenesis of three *Erwinia* species to potato tuber tissue in a CO₂ - N atmosphere // *Phytopathology*.- 1964.- V. 54.- P. 902.
200. Nielson L.W. *Erwinia* species in the lenticels of certified seed potatoes // *Am. Potato J.* 1978.- V. 55.- P. 671-676.
201. O'Brien V.J., Simeon L. Investigation into the mode of resistance of potato tubers to *Fusarium roseum* " *Dambucinum* " // *Amer. Potato J.*- 1980.- N 4.- P. 227-233.
202. Ogihara G. Tissue culture in *Navorthia*. Genetic characterization of plants regeneration from callus // *Theor. and Appl. Genet.*- 1981.- V. 60, N 6.- P. 353-363.
203. Ono K. In vitro methods applied to rice // *Plant tissue culture . Methods and applications in agriculture*.- New York: Acad. press, 1981.- P. 273-298.
204. Orton T.J. Chromosomal variability in tissue culture and regenerated plants of *hordeum* // *Theor. and Appl. Genet.*- 1990. V. 56, N 3.- P. 111-112.
205. Otazu V., Secor G.A. Influence of age and reducing sugar levels on susceptibility of potato to seed piece decay // *Phytopathol. News*.- 1978.- V. 12.- P. 201.
206. Patil S.S., Dimoni A.E. Repression of polygalacturonase synthesis in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by sugars and its effect on symptom reduction in infected tomato plants // *Phytopathology*.- 1968.- V. 58.- P. 676-682.
207. Perombelon M.C. Sites of contamination and numbers of *Erwinia carotovora* present in stored seed potato stocks in Scotland // *Ann. Appl. Biol.*- 1973.- V.74.- P. 59-65.
208. Prasad M., Chaudhary S.K. Amino acids and fusaric acid production in tissues of *Cajanus cajan* infected with *Fusarium oxysporum* f. *udum*. // *Phytopathol. Z.*- 1974.- V. 81.- P.339-345.
209. Purushothaman D. Changes in phenolic compounds in rice varieties as influenced by *Xanthomonas oryzae* infection // *Riso*.- 1975.- V. 24.- P. 85-89.
210. Putz H. Über die Zuckerbildung der Kartoffel während der Lagerung in Abhängigkeit vom physiologischen // *Reifegrad. Kali-Briefe (Müntehof)*.- 1987.- V. 18.- P. 227-1031.
211. Rees D.I., Theaker P.D. High pressure liquid chromatography

- of chlorogenic acid isomers in coffee // VIII Colloque, Association Scientifique Internationale du Cafe.- 1977.- P.79-84.
212. Neuveni R., Bothma G.C. The relationship between peroxidase activity and resistance of *Sphaerotheca fuliginea* in melons // *Phytopath.*- Z.- 1985.- V. 114.- P. 260-267.
213. Neuveni R., Karchi Z. Peroxidase activity- a possible marker for resistance of melon against downy mildew // *Phytopathol.*- 1987.- V. 77.- P. 1724.
214. Ride J.P. Cell walls and other structural barriers in defence // *Biochemical Plant Pathology.*- 1983.- P. 215-236.
215. Riley R.G., Kolattukudu P.B. Evidence for covalently attached p-coumaric acid and ferulic acid in cutins and suberin // *Physiology.*- 1975.- V. 56.- P. 650-654.
216. Rines H.W., Luke H.H. Selection and regeneration of toxin-insensitive plants from tissue cultures of oats (*Avena sativa*) susceptible to *Helminthosporium victoriae* // *Theor. and Appl. Genet.*- 1985.- V. 71, N I.- P. 16-21.
217. Robertson N.P., Friend J., Avejani M., Brown J., Huffee M., Nomans A.E. The accumulation of phenolic acids in tissue culture pathogen-combination of *Solanum tuberosum* and *Phytophthora infestans* // *Journal of General Microbiology.*- 1988.- V. 54.- P. 261-268.
218. Sacristan M.D., Hoffmann T. Direct infection of embryogenic tissue cultures of haploid *Brassica napus* with resting spores of *Plasmidiophora brassicae* // *Theor. and Appl. Genet.*- 1979.- V. 54.- P. 129-132.
219. Sacristan M.D. Selection for disease resistance in *Brassica* cultures // *Hereditas (Suppl.)*- 1985.- V. 3.- P. 57-63.
220. Schiessendoppler B. Die Verhütung von Bakterienkrankheiten im Kartoffelbau // *Pflanzenschutz.*- 1985.- V. II.- P. 4-6.
221. Scowcroft W., Larkin P. Somaclonal variation and genetic improvement of crop plants // *Ciba Foundation Symposium.*- 1983.- V. 97.- P. 177-193.
222. Scowcroft W.R., Larkin P.J., Brettell R.I. Genetic variation from tissue culture // *Use of tissue culture and protoplasts in Plant Pathology.* Eds: J. Helgeson, E. Deverall.- Acad. Press Australia, 1983.- P. 139-162.

223. Neever's P.M., Daly J.M., Catedral J.F. The role of peroxidase isozymes in resistance of wheat stem rust disease // *Pl. Physiol.*- 1971.- V. 48.- P. 353-360.
224. Seppänen Esko. Fusarium of the potato Finland. VI. varietal tuber resistance to Fusarium Species // *Ann. agric. fenn.*- 1983.- V. 22.- N 1.- P. 8-17.
225. Sindhan G.S., Jaglan B.S. Role of phenolic compounds and carbohydrates in resistance of groundnut to tikka leaf spot // *Indian J. Mycol. and Plant Pathol.*- 1987.- V. 17, N 2.- P. 141-144.
226. Bhahin E.A., Spivey R. A single dominant gene for Fusarium wilt resistance in protoplast-derived tomato plants // *Theor. and Appl. Genet.*- 1986.- V. 73.- P. 164-169.
227. Phamina E.B. Cytogenetic study of tissue culture of *Haplopappus gracilis* // *Proc. Symp. on the Mutational Process. Mechanism of mutation and inducing factors.*- Prague : Academia, 1966.- P. 377-380.
228. Shepard J. Potato protoplastin crop improvement // *Science.*- 1980.- V. 208.- P. 38-44.
229. Tishel H., Hazelis M. The accumulation of sugars in potato tubers at low temperatures and some associated enzymatic activities // *Phytochemistry.*- 1966.- V. 5.- P. 895-902.
230. Thanassouloupoulos G., Kitsos G. Studies on Fusarium wilt of potatoes. Plant wilt and tuber infection in naturally infected fields // *Potato Res.*- 1985.- V. 28.- N 4.- P. 507-514.
231. Thanutong P., Furusewa I., Yamamoto M. Resistant tobacco plants from protoplast-derived calluses selected for their resistance to *Pseudomonas* and *Alternaria* toxins // *Theor. and Appl. Genet.*- 1983.- V. 66.- N 3,4.- P. 209-215.
232. Thompson D. Phenols, carotene and ascorbic acid of sweet potato roots infected with *Rhizopus stolonifer* // *Canad.- J. Plant. Sc.*- 1979.- V. 59.- N 4.- P. 1177-1179.
233. Tomiyama K., Stahmann M.A. Alteration of oxidative enzymes in potato tuber tissue by infection with *Phytophthora infestans* // *Plant Physiol.*- 1964.- V. 39.- P. 483-490.
234. Treutter D., Feucht W. The pattern of flavan-3-ols in relation to scab resistance of apple cultivars // *J. hort. Sc.*- 1990.- V. 5.- P. 511-517.

235. Tripathi R.K., and Verma M.N. Phenolic Compounds and Polyphenol Oxidase Activity in Relation to Resistance in Potatoes Against Bacterial Soft Rot // Indian J. Exp. Biol.- 1975.- V. 13.- P. 414-416.
236. Tripathi R.K., Verma M.N., Gupta R.P. Interactions of potato tuber polyphenols and proteins with *Erwinia carotovora* // Cell Wall Biochemistry Related to Specificity in Host-Pathogen Interactions.- 1977.- P. 281-287.
237. Tripathi R.K., Gupta R.P. Effect of wound induced polyphenol growth and pectin lyase production by *Erwinia carotovora* // Indian Journal of Plant Pathology.- 1983.- V. 13. P. 68-71.
238. Waites M.J., Reynolds S.B., Friend J. The metabolism of calogeroenic acid in tuber discs of a resistant and a susceptible potato cultivar after inoculation with *Pasarium solani* var *coeruleum* // Biochemical Society Transactions.- 1978.- V. 6.- P. 441-442.
239. Walter W.M., Purcell A.E., McCullum G.K. Use of highpressure liquid chromatography for analysis of sweet potato phenolics // Journal Agriculture and Food Chemistry.- 1979.- V. 27.- P. 938-941.
240. Walton C.S., Cappellini R.A. Pectolytic and cellulolytic enzymes produced by *Erwinia carotovora* // Phytopathology.- 1962.- V. 52.- P. 927.
241. Weber J. Die Effizienz der Nassfäuleabwehr bei der Wundheilung von Kartoffelknollen. Bestimmung der Befallsauslösenden Erregerdichte und ihrer Umweltbeeinflussung // Potato Res.- 1988.- V. 31, N 1.- P. 3-10.
242. Werder J., Kern H. Resistance of maize to *Helminthosporium carbonum*. Changes in host phenolics and their antifungal activity // Z. Pflanzenkrankh.- 1985.- V. 92, N 5.- P. 477-484.
243. Wulf I.W., Nagel C.W. Analysis of phenolic acids and flavonoids by high-pressure liquid chromatography // Journal of Chromatography.- 1976.- V. 116.- P. 271-279.
244. Wolfgang H. Biochemische Problem der Resistenz // Arch. Zuchtungsforsch.- 1979.- V. 9.- P. 45-48.

З а т в е р д ж у ю



Директор Інституту картоплярства УААН

М. кор. УААН Кучко А.А.

1994 р.

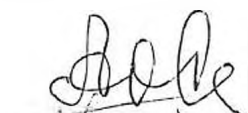
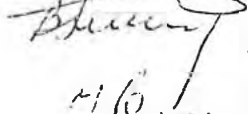
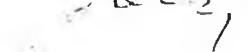
А К Т

на передачу зразків картоплі стійких
проти мокрої бактеріальної та сухої
буваріозної гнилей

В результаті проведення наукових досліджень по виконанню дисертаційної роботи Іващенко І.В. на тему: "Оцінка і виділення стійких форм до гнилей бульб в селекції картоплі" отримано чотири зразки картоплі з відносною стійкістю до гнилей бульб, а саме 91 МГ/13 (І₁ 938 с/70), 91 МГ/39 (І₁ 77.533/18), виділених методом Інбридита К₂- II р, К₂- 35 р, виділених на основі калусної культури з додаванням фільтрату патогенів/сорт Зарево/

Зразки передані в лабораторію селекції Інституту картоплярства в кількості по 25 бульб кожного.

Підписи:

 Семчук А.А.
 Поломенець В.В.
 Іващенко І.В.