

ОЦІНКА ПАТОГЕННОСТІ ШТАМІВ ЗБУДНИКА *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS SUBSP. SEPEDONICUM* НА РАЙОНОВАНИХ ТА ПЕРСПЕКТИВНИХ СОРТОЗРАЗКАХ КАРТОПЛІ ПОЛІССЯ УКРАЇНИ

Кільцева гниль – досить поширена і шкідлива хвороба бульб картоплі. Вперше вона була виявлена у 1908 році в Німеччині і описана Спікерманом та Коттгофтом. В сучасній фітопатології, збудника кільцевої гнилі називають *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicum*. В Україні збудник цієї хвороби викликає ураження 25-30% всіх районованих та перспективних сортів картоплі.

За описом Д.Я. Тіпограф (1937), збудник кільцевої гнилі – неспороносна, нерухома коротка паличка, розміром 0,5-1,0x0,4-0,6 мк., поодинокі або утворює короткі ланцюжки з 2-5 клітин. Молоді культури (7-14 діб) добре забарвлюються за Грамом. (У більш старих культур ця здатність втрачається). Саме цією властивістю користуються при діагностиці кільцевої гнилі. В тих випадках, коли необхідно підтвердити правильність визначення хвороби, проглядають під мікроскопом сік стебел, що зав'язали, та гниючі тканини бульб з ознаками кільцевої гнилі. Мінливість в процесі еволюції, висока пластичність патогенів до нових субстратів, якими в свою чергу являються нові районовані та перспективні сорти і гібриди картоплі, досить часто ускладнює визначення збудника при діагностиці. Поява нових вірулентних штамів збудника кільцевої гнилі потребує в свою чергу удосконалення захисних заходів щодо зниження шкодочинності гнилей бульб під час вегетації і при зберіганні картоплі.

Кільцева гниль в даний час розповсюджена на всій території України і спричиняє значні втрати врожаю. Шкідливість кільцевої гнилі підтверджується тим, що у всіх країнах Західної Європи ця хвороба є карантинним об'єктом. Досить часто інфекція кільцевої гнилі знаходиться в латентній формі і в сприятливі для розвитку роки приводить до масової епіфітотії хвороби.

Особливо небезпечна кільцева гниль для науково-виробничих установ, що вирощують еліту картоплі, насінницьких посівів, бо в сприятливі для її роки ця хвороба є основною причиною вибракування насінницьких посівів районованих, перспективних та дефіцитних сортів.

Недостатнє вивчення біології, розповсюдження та шкідливості кільцевої гнилі може призвести до небезпечної ситуації в насінництві картоплі, тому що ні в еліті, ні в високих репродукціях наявність бульб, уражених кільцевою гниллю, не допускається. Протягом тривалого часу в більшості наукових установ селекційна робота на стійкість до кільцевої гнилі майже не проводилась. Саме це і стало причиною масового поширення кільцевої гнилі в Україні.

В Державному агроекологічному університеті (на кафедрі селекції і фітомедицини), протягом 1999-2002 років були проведені дослідження по вивченню патогенності штамів збудника кільцевої гнилі на різних за стійкістю районованих та перспективних сортах картоплі. Збір колекції різних штамів збудника кільцевої гнилі проводився в умовах Житомирської, Рівненської, Волинської, Київської та Чернігівської областей.

Збудника кільцевої гнилі з бульб виділяли за методикою Белової О.Д. (1964) в окрему посудину. Потім готували розведення бактеріальної суспензії з концентрацією 10⁹млн. клітин, і при допомозі мікробіологічної петлі висівали на поживне середовище в чашки Петрі. На четвертий-шостий день після висіву аналізували інтенсивність росту бактерій, та проводили ідентифікацію і визначали належність їх до *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*. Після цього колонії, що відповідають *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* переносили в пробірки на скошене поживне середовище і проводили біохімічне тестування за методиками Інституту мікробіології і вірусології ім. Заболотного (м. Київ). Для зараження бульб картоплі виділеними штамми використовували медичний шприц з модифікованою голкою. Суть цієї модифікації полягає у тому, що голка на кінчику запаюється, а в її бічній частині прорізується отвір для штучної інокуляції бульбового матеріалу. Інокуляцію сорторазрків виділеними штамми проводили в пуповинній частині бульби. Після проведення інокуляції, бульби клали в поліетиленові пакети і витримували добу при температурі 22-24оС. Після цього бульбовий матеріал висаджували в ґрунт. Попередником під картоплю була озима пшениця. Догляд за посадками картоплі протягом вегетації проводили згідно технології вирощування в умовах Полісся України. Після збирання бульб, через 2 місяці проводили бульбовий аналіз і визначали ступінь ураження бульб кожним штамом.

Серед ізоляторів *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*, виявлено сильнопатогенні штами, що спроможні зберігати цю властивість протягом тривалого часу. До таких штамів належать: 12 лП, 38 лП; 42 л, 55, 68. Ці штами були порівняні з колекційним штамом 13а.

Визначення біохімічних властивостей бактерій, що відносяться до виду *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* проводили згідно визначника Бергі.

Більшість штамів, перевічених нами за комплексом диференційних тестів газ із глюкози не синтезували. Також не було засвоєння глюкози в аеробних умовах. *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* частково або повністю використовують такі речовини як сорбіт, мальтозу. Інозит не використовують. За даними Дж. Хаулту (1980), бактерії виду *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* не викликають розрідження желатину, хоча в нашому випадку відмічена штамова неоднорідність *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* щодо цієї здатності (таблиця 1). Досліджувані бактерії не спричиняють

пептонізацію молока, але викликають його зсідання з утворенням характерного кільцеподібного розшарування після інкубації протягом 12 годин. Бактерії не утворюють сірководню, індолу, в них відсутня оксидазна активність. Вони не викликають редукцію нітратів і не утворюють флуорисцуючого дифундуючого пігменту на МПА та КА.

Таблиця 1

Біохімічні властивості *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*

| Диференційні тести | Виділені штами: 12 лП, 38 лП, 42 л, 55, 68 | Колекційний штам-стандарт 13 а |
|--|---|-----------------------------------|
| засвоєння глюкози | + | + |
| -сорбіту | X | - |
| -мальтози | X | + |
| -інозиту | - | - |
| розрідження желатину: | X | - |
| пептонізація молока | - | - |
| зсідання молока | + | + |
| утворення сірководню | - | - |
| утворення індолу | - | - |
| утворення оксидази | - | - |
| редукція нітратів | - | - |
| утворення флуорисцуючого дифундуючого пігменту на МПА, КА | - | - |
| забарвлення за Грамом | + | + |
| колір колоній | М | М |
| рухливість | - | - |
| вірулентність на картоплі | + | + |
| ріст при 20 °С | + | + |
| ріст при 30 °С | x | - |

Примітка: "+" – наявність властивостей "x" варіабельність властивостей

"-" – відсутність властивостей "м" молочний колір

Особливість збудника *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* в порівнянні з збудниками інших видів полягає в тому, що вони забарвлюються за Грамом (грам позитивні). При рості на картопляному агарі в чашках Петрі на 10-12 добу колонії набувають біло-молочного забарвлення.

Крім того, бактерії виду *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* являються нерухомими. Слід відмітити, що у деяких штамів за об'єктивних умов вірулентність до окремих сортів втрачалась. Такі штами були нами в процесі досліджень вибракувані і замінені на більш патогенні.

Всі виділені вірулентні штами досить добре ростуть при температурі 20°C.

Необхідно відмітити, що протягом лабораторних досліджень спостерігалась штамова неоднорідність *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* по відношенню до здатності росту на поживних середовищах (КА, МПА) при температурі 30°C. Відмічено, що штами збудника росли під дією такої температури, але з часом такі штами втрачали свою патогенність по відношенню до перспективних сортів картоплі. Це пояснюється прискоренням життєвого циклу бактерій під дією температури 30°C і старінням.

Серед ізоляторів ряду *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* окремі штами агресивні і спроможні зберігати цю властивість протягом тривалого часу (2 роки). Це такі штами як 12 лП, 38 лП; 42 л, 55 л, 68 л. Саме вони в лабораторних умовах викликали загнивання 95% досліджуваних бульб через 3-4 тижні. В польових умовах ці штами викликали повне загнивання таких сортів як Луговська, Ромашка-8, Обрій, Водограй, Зарево. Ці штами (за виключенням 42 л) були виділені із уражених зразків, відібраних в Малинському районі, які складали, в свою чергу, 38% від загальної кількості досліджуваних, а загальне число сильно патогенних штамів, що не втратили агресивності через 2 роки зберігання культури, становило 85%.

При вивченні в Житомирській області збудника кільцевої гнилі, виділені бактерії, ідентифіковані на основі їх біологічних властивостей як *Clavibacter michiganensis* subsp.

sepedonicum. В результаті визначення вірулентності отриманих штамів найвищу патогенність проявили ізоляти штамів: 12 лП, 38 лП, 55 л, 68 л. Вони викликали в польових умовах загнивання 40-45% бульб картоплі сортів, занесених до державного реєстру України: Світанок кийвський, Пролісок, Луговська, Ромашка-8, Зарево, Бородянська рожева, Либідь, Воловецький, Віхола, Українська рожева, Гібрид-1015, Гібрид-38, Обрій, Водограй, Адретта, Гатчинський. Виділені штами ми рекомендуємо використовувати в селекційних установах при цілеспрямованій селекції картоплі на стійкість до збудника кільцевої гнилі.

У результаті вивчення біологічних особливостей збудника хвороби *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*, що викликає кільцеву гниль на Полісся України, нами встановлено, що суттєву роль в розвитку захворювання відіграють штами 12 лП, 38 лП, 42 л, 55 л, 68 л, які не втрачали своєї патогенності протягом двох років. Ці ізоляти виділено із зразків, відібраних в Малинському та Овруцькому районах Житомирської області. На основі біохімічних та культуральних властивостей їх ідентифіковано як *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*.

Таблиця 2

Патогенність штамів збудника *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* на різних сорторозтках картоплі в зоні Полісся України

| Сорт | Ступінь ураження сорторозтаків різними штамами, % | | | | | | | | | | | |
|--------------------|---|--------|------------|--------|-----------|--------|---------|--------|---------|--------|-------------------|--------|
| | штам 12 лП | | штам 38 лП | | штам 42 л | | штам 55 | | штам 68 | | середнє у штаммах | |
| | пагін | бульба | пагін | бульба | пагін | бульба | пагін | бульба | пагін | бульба | пагін | бульба |
| Світанок кийвський | 34,2 | 4,0 | 74,1 | 0 | 32,4 | 4,2 | 12,4 | 2,1 | 4,2 | 1,2 | 31,4 | 2,3 |
| Пролісок | 27,4 | 3,2 | 33,2 | 2,4 | 14,2 | 1,4 | 22,4 | 1,5 | 7,2 | 2,0 | 20,8 | 2,1 |
| Луговська | 21,4 | 2,2 | 31,4 | 2,1 | 42,4 | 15,2 | 32,2 | 11,4 | 30,2 | 4,2 | 31,5 | 35,1 |
| Ромашка-8 | 15,2 | 1,4 | 20,2 | 6,3 | 31,4 | 6,3 | 41,6 | 12,2 | 14,4 | 5,2 | 24,5 | 28,4 |
| Зарево | 32,3 | 18,2 | 16,4 | 2,4 | 61,4 | 8,2 | 47,2 | 9,1 | 15,4 | 2,2 | 18,5 | 8,0 |
| Бородянська рожева | 21,2 | 2,1 | 32,4 | 1,5 | 19,4 | 2,6 | 16,2 | 8,2 | 21,4 | 3,2 | 17,8 | 3,5 |
| Либідь | 31,4 | 12,2 | 65,4 | 12,4 | 52,4 | 8,2 | 34,4 | 6,4 | 12,2 | 1,4 | 39,1 | 8,1 |
| Воловецька | 41,2 | 6,2 | 12,2 | 3,2 | 17,8 | 0 | 14,4 | 5,6 | 8,2 | 1,0 | 18,7 | 3,2 |
| Віхола | 15,4 | 1,4 | 21,4 | 12,0 | 26,4 | 3,7 | 15,7 | 2,7 | 62,4 | 12 | 28,2 | 6,3 |
| Українська рожева | 27,7 | 2,6 | 8,9 | 2,2 | 56,4 | 2,2 | 32,4 | 1,0 | 15,6 | 8,4 | 28,2 | 3,2 |
| Гібрид-1015 | 0 | 0 | 3,6 | 0 | 2,2 | 0 | 4,1 | 0 | 19,4 | 4,2 | 5,8 | 4,2 |
| Гібрид-38 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,6 | 0 | 5,1 | 0 | 6,4 | 0 | 4,7 | 0 |
| Обрій | 2,1 | 0 | 3,1 | 0 | 1,2 | 0 | 2,4 | 0 | 2,8 | 0 | 2,3 | 0 |
| Водограй | 1,4 | 0 | 2,1 | 0 | 3,1 | 0 | 2,6 | 0 | 13,4 | 2,7 | 10,1 | 2,7 |
| Адретта | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,7 | 0 | 12,6 | 2,2 | 3,0 | 0,4 |
| Гатчинський | 3,1 | 0 | 4,1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16,2 | 2,8 | 4,6 | 0,5 |

Ідентифікуючи *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* на основі вивчення біохімічних і культуральних властивостей і порівнюючи їх з літературними даними, в тому числі визначником Бергі, ми відмітили неоднорідність виділених штамів по

відношенню до використання сорбіту, мальтози, як джерела вуглецевого живлення і розрідження желатину. В лабораторних умовах штами 12 лП, 38 лП; 42 л, 55, 68 викликали загнивання 96% досліджуваних сортозразків картоплі. В польових умовах ці штами викликали загнивання таких сортів: Луговська, Ромашка-8, Обрій, Водограй, Зарево. Штами: 12 лП, 38 лП; 55, 68 були виділені із уражених зразків картоплі, відібраних в Малинському районі.

У результаті визначення патогенності штамів нами було встановлено, що такі штами як: 12 лП, 38 лП, були сильнопатогенними, а 42 л, 55, 68 через рік знизили свою патогенність (таблиця 2). В польових умовах сильнопатогенні штами викликали 60% загнивання бульб картоплі, а середньопатогенні – 35%.

Дослідження проводились за участю сортів: Світанок київський, Пролісок, Луговська, Ромашка 8, Зарево, Бородянська рожева, Либідь, Воловецька, Віхола, Українська рожева, Гібрид-1015, Гібрид-38, Обрій, Водограй, Адретта, Гатчинська. Максимальною стійкістю до штамів збудника кільцевої гнилі володіли такі сорти як: Бородянська рожева, Українська рожева, Гібрид – 1015, Гібрид – 38, Адретта. Особливість цих сортів полягала у тому, що вони були малосприятливими до інфекції штамів 12 лП, 38 лП; 42 л, 55, 68 протягом вегетаційного періоду. Сорт Бородянська рожева відноситься до ранньостиглих сортів (занесений до державного реєстру сортів України з 1993 року). Згідно досліджень він виявився високостійким проти кільцевої гнилі. Крім цього, цей сорт стійкий проти мокрої і бактеріальної гнилей, раку, відносно стійкий проти фітофтори, парші звичайної, стеблової нематоди. Середня маса товарної бульби 103 г., вміст крохмалю 14,9%, смакові якості 4.2 бала. Урожайність – 100-160 ц/га. Українська рожева відноситься до середньостиглих сортів. Районований в Україні і Республіці Беларусь з 1989 року. Універсальний. Стійкий проти фітофтори, мокрої гнилі, раку, вірусних хвороб. Середня маса бульби 94г., товарність бульб 95%, вміст крохмалю 16,9 %. Урожайність 210-250 ц/га. Гібрид – 38 належить до середньоранніх сортів універсального призначення, відносно стійкий проти хвороб грибкового і бактеріального походження. Середня маса товарної бульби 95г., смакові якості 4.5 балів, вміст крохмалю 13,5 %. Урожайність – до 400 ц/га. Гібрид 1015 – середньостиглий, універсального призначення, відносно стійкий проти мокрої гнилі, кільцевої гнилі, фітофторозу та деяких вірусних хвороб. Середня маса товарної бульби 99 г., смакові якості-4.0 бали, товарність 95%, вміст крохмалю – 16.1 %, урожайність – 210 – 300 ц/га. Під час досліджень було встановлено, що такі сорти як Світанок київський, Луговська, Пролісок, Ромашка 8, Водограй, Гатчинська, Зарево, Обрій були схильні до ураження штамами 12 лП, 38 лП; 42л, 55, 68. Ці штами в результаті тестування мали дещо нижчий рівень патогенності, але в процесі вегетації картоплі викликали 50% пошкодження рослин.

Висновок

Результати досліджень за патогенністю штамів: 12 лП, 38 лП; 42 л, 55, 68 свідчать, що всі вони належать до *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*. Максимальну патогенність мали такі штами як: 12 лП, 38 лП. Штами: 42л, 55, 68 мали середню патогенність. Штами 42л, 55, 68 доцільно використовувати для подальшої селекції районованих та перспективних сортів картоплі на стійкість до збудника кільцевої гнилі в умовах Українського Полісся. Такі сорти як Українська рожева, Бородянська рожева, Гібрид-38, Гібрид-1015 характеризуються високою стійкістю до збудника кільцевої гнилі.

Література

1. Белова О. Д. Поражение картофеля ямчатой и кольцевой гнилью // Сад и огород, - 1952, №4. - С.62-64.
2. Белова О. Д. Кольцевая гниль, черная ножка и меры борьбы с ними. - М.: Колос, 1964. - 116 с.
3. Положенец В. М. Изучение биологических особенностей кольцевой гнили картофеля в условиях Полесья Украины. // Микробиол. журн. - К.: Науч. мысль, 1992. №3. С.10-12.

-
4. *Положенец В. М.* Оздоровление семенного картофеля методом черенкования. // Картофель и овощи. - 1983. № 5 С.17-18.
 5. *Пересыпкин В. Ф.* Сельскохозяйственная фитопатология. - 4-е изд. перераб.и доп. - М.: Агропромиздат, 1989. - 480 с.
 6. *Пересыпкин В. Ф., Тютчев С. Л., Боталова Г. С. и др.* Болезни картофеля при интенсивных технологиях их возделования. - М.: Агропромиздат, 1991. - 271 с.
 7. *Рогозина И. И.* Биохимическая природа взаимоотношений возбудителя кольцевой гнили и растения-хозяина. // Тр. НИИКХ. - М., 1982. - Вып.12. - С.22-29.
-