

А.М. СКОРЕЙКО, кандидат біологічних наук

Т.О. АНДРІЙЧУК, старший науковий співробітник

Р.М. БІЛИК, молодший науковий співробітник

Т.В. САФРОНОВА, молодший науковий співробітник

Українська науково-дослідна станція карантину рослин Інституту захисту рослин НААН, вул. Наукова, 1, с. Бояни Новоселицького р-ну Чернівецької обл., 60321, Україна,

e-mail: askoreiko50@gmail.com

ОПТИМІЗАЦІЯ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ СОРТІВ-ДИФЕРЕНЦІАТОРІВ РАКУ КАРТОПЛІ

Мета. Вивчити вплив амонійних солей дигідропіримідину на утворення мікробульб та продуктивність сортів-диференціаторів раку картоплі в умовах *in vitro*. **Методи.** Дослідження проводили у 2019—2020 рр. в лабораторії біотехнології сільськогосподарських культур Української науково-дослідної станції карантину рослин Інституту захисту рослин НААН. Похідні групи амонійних солей дигідропіримідину синтезовані на кафедрі органічної хімії Інституту біології, хімії та біоресурсів м. Чернівці. Матеріал для досліджень — сорти-диференціатори раку картоплі різних груп стиглості: Слов'янка (середньостиглий), Червона Рута (середньопізній). Рослини вирощували на живильному середовищі Мурасіге-Скуга з додаванням амонійних солей дигідропіримідину за різних концентрацій (0,1; 0,2; 0,3 мг/л) в умовах культиватійної кімнати при 16-годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 2000—2500 лк, температурою 22—25°C і вологістю повітря 60—80%. **Результати.** Встановлено, що високі морфометричні показники та інтенсивність бульбоутворення різних сортів стиглості Слов'янка та Червона Рута в культурі *in vitro* забезпечує додавання до живильного середовища амонійних солей дигідропіримідину з концентрацією 0,3 мг/л: висота рослин становила 4,6 та 4,1 см у порівнянні з контролем 4,0 і 3,7 см, відповідно. Кількість міжвузлів у обох сортів становила 5,3 шт. (у контролі — 4,5 шт.) та оптимальна кількість мікробульб на 60-й день — 79,1 і 81,3%. **Висновки.** Дослідження впливу різних концентрацій амонійних солей дигідропіримідину на продуктивність картоплі в культурі *in vitro* різних сортів стиглості Слов'янка і Червона Рута показали, що оптимальні показники забезпечує культивування за концентрації амонійних

солей дигідропіримідину 0,3 мг/л: маса середньої мікробульби становить 223,4 і 195,4 мг, маса мікробульб на одну рослину — 185,5 і 174,4 мг, кількість мікробульб на одну рослину — 1,01 і 0,87 шт.

рак картоплі; сорти-диференціатори; мікроклональне розмноження; амонійні солі дигідропіримідину; мікробульби; продуктивність

Збудник раку картоплі *Sinchiitrium endobioticum* (Schilb.) Perc. — внутрішньоклітинний паразит, що уражує всі органи рослини-господаря, крім коренів, та який виявлено у 38-ми країнах світу. Зооспорангії *S. endobioticum* у стані спокою можуть зберігати свою життєздатність більше 40 років. Тому, в осередках поширення раку слід вирощувати тільки високостійкі проти *S. endobioticum* сорти картоплі, які забезпечують очищення ґрунту від патогену. За вирощування сприйнятливих сортів картоплі у вогнищах з *S. endobioticum* втрати урожаю можуть сягати 50—100% [1—3].

За даними ЄОЗР (Європейської і Середземноморської організації захисту рослин) у світі ідентифіковано 22 патотипи збудника раку картоплі. Нові раси збудника раку картоплі з'являються у тих вогнищах, де висока щільність посадок монокультури картоплі, повна відсутність фітосанітарних умов, вирощування сортових сумішей з різною стійкістю проти раку, сприятливі кліматичні та ґрунтові умови для розвитку хвороби. Для своєчасного виявлення осередків поширення захворювань, спричинених цими організмами, необхідні швидкі, надійні та малозатратні методи їх ідентифікації [4, 5].

Біологічний метод диференціації рас збудника раку картоплі — ідентифікація на сортах-диференціаторах. Критеріями для включення сортів у диференціюючий набір є чітка реакція на ураження патогеном і достатня кількість диференціюючого матеріалу для закладання дослідів [6].

Для одержання вихідного матеріалу тест-сортів картоплі вітчизняної та зарубіжної селекцій в необхідній кількості виникає потреба розробити біотехнологічні елементи безвірусного мікроклонального розмноження картоплі. Для прискорення росту і розвитку рослин картоплі потрібно постійно вести пошук нових фізіологічно активних речовин. Тому, на даний час є актуальними дослідження з вивчення нових рістрегуляторів для вирішення таких важливих завдань як оздоровлення і мікроклональне розмноження рослин за допомогою культури меристем та органів *in vitro* [7—10].

Мета досліджень — вивчити вплив амонійних солей дигідропіримідину на утворення мікробульб та продуктивність сортів-диференціаторів раку картоплі в умовах *in vitro*.

Матеріали та методи. Дослідження проводили у 2019—2020 рр. в лабораторії біотехнології сільськогосподарських культур Української

науково-дослідної станції карантину рослин Інституту захисту рослин НААН. Похідні групи амонійних солей дигідропіримідину синтезовані на кафедрі органічної хімії Інституту біології, хімії та біоресурсів, м. Чернівці. Попередні дослідження речовини 3,4-дигідропіримідин-2(1H)-ону (амонійних солей дигідропіримідину) показали його антиоксидантні, імунопротекторні та стимулюючі впливи на рослини [11].

Матеріалом для досліджень слугували сорти-диференціатори раку картоплі різних груп стиглості — Слов'янка (середньостиглий) і Червона Рута (середньопізній). Рослини вирощували на живильному середовищі Мурасіге-Скуга (MS) з додаванням амонійних солей дигідропіримідину за різних концентрацій (0,1; 0,2; 0,3 мг/л) в умовах культивацийної кімнати при 16-годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 2000—2500 лк, температурою 22—25°C і вологістю повітря 60—80%. З метою вивчення впливу амонійних солей дигідропіримідину на утворення мікробульб та продуктивність сортів-диференціаторів раку картоплі в умовах *in vitro* проведено дослід за наступною схемою:

- контроль (середовище MS);
- середовище MS+амонійна сіль дигідропіримідину (0,1 мг/л);
- середовище MS+амонійна сіль дигідропіримідину (0,2 мг/л);
- середовище MS+амонійна сіль дигідропіримідину (0,3 мг/л).

Живцювання кожного сорту проводили в кількості 25 рослин, при цьому повторність дослідів була триразова.

Результати досліджень. Виявлено вплив різних концентрацій амонійних солей дигідропіримідину на морфометричні показники та бульбоутворення картоплі в культурі *in vitro* на сорти картоплі різної групи стиглості. На 20-й день культивування у варіанті з концентрацією амонійної солі дигідропіримідину 0,3% у сортів Слов'янка, Червона Рута висота рослин становила 4,6 та 4,1 см, у порівнянні з контролем 4,0 і 3,7 см, відповідно. За цієї ж концентрації на 40-й день культивування кількість міжвузлів у обох сортів становила 5,3 шт. (у контролі — 4,5 шт.), а оптимальна кількість мікробульб на 40-й день становила 50,6 і 53,5% та на 60-й — 79,1 і 81,3% відповідно (табл. 1).

За вивчення продуктивності рослин картоплі сорту Слов'янка та Червона Рута відзначено стимулюючий вплив амонійних солей дигідропіримідину. Маса середньої мікробульби сорту Слов'янка за концентрації амонійної солі 0,1; 0,2; 0,3 мг/л була вищою на 23,5; 31,7 та 79,6 мг ніж у контролі, відповідно. Маса та кількість мікробульб на одну рослину — більша на 43,2; 53,8; 74,3 мг та 0,13; 0,21; 0,37 шт., відповідно.

У сорту Червона Рута маса середньої мікробульби за концентрації амонійної солі 0,1; 0,2; 0,3 мг/л вища на 13,2; 28,7; 63,9 мг порівняно з контролем, відповідно. Маса та кількість мікробульб на одну рослину була більшою на 13,7; 37,5; 73,7 мг і 0,12; 0,16; 0,24 шт., відповідно (табл. 2).

1. Вплив концентрації амонійних солей дигідропіримідину на морфометричні показники та бульбоутворення картоплі в культурі in vitro (УкрНДСКР ІЗР, 2019—2020 рр.)

Концентрація амонійних солей дигідропіримідину, мг/л	На день культивування						
	20-й			40-й			60-й
	висота рослин, см	кількість між-вузлів, шт.	кількість рослин, що утворили бульби, %	приріст висоти рослин, см	кількість між-вузлів, шт.	кількість рослин, що утворили бульби, %	
Сорт Слов'янка							
Контроль, 0 мг/л	4,0	4,0	1,0	0,1	4,5	37,5	64,7
0,1	4,2	4,0	1,0	0,2	4,7	39,3	66,4
0,2	4,4	4,2	2,3	0,2	4,9	41,1	69,8
0,3	4,6	4,3	4,2	0,4	5,3	53,5	81,3
Сорт Червона Рута							
Контроль, 0 мг/л	3,7	3,7	1,0	0,1	4,5	33,4	60,3
0,1	3,7	3,9	1,0	0,1	4,7	37,0	62,2
0,2	4,0	4,2	2,5	0,1	4,8	41,6	64,6
0,3	4,1	4,3	4,0	0,3	5,3	50,6	79,1

2. Продуктивність рослин картоплі в культурі in vitro залежно від концентрації амонійних солей дигідропіримідину (УкрНДСКР ІЗР, 2019—2020 рр.)

Концентрація амонійних солей дигідропіримідину, мг/л	Маса середньої мікробульби, мг	Маса мікробульб на 1 рослину, мг	Кількість мікробульб на 1 рослину, шт.
Сорт Слов'янка			
Контроль, 0 мг/л	143,8	111,2	0,6
0,1	167,3	131,7	0,8
0,2	175,5	154,4	0,9
0,3	223,4	185,5	1,0
НІР ₀₅	9,4	10,8	0,05
Сорт Червона Рута			
Контроль, 0 мг/л	121,5	100,7	0,6
0,1	134,7	114,4	0,7
0,2	160,2	138,2	0,8
0,3	195,4	174,4	0,9
НІР ₀₅	8,1	12,5	0,02

Дослідження проводили в рамках ПНД 12. «Наукові основи сучасних технологій прогнозу і управління фітосанітарним станом агроценозів» (Захист рослин); номер державної реєстрації № ДР 0119U100229.

ВИСНОВКИ

Дослідженнями встановлено стимулюючий вплив амонійних солей дигідропіримідину на морфометричні показники, бульбоутворення та продуктивність рослин картоплі *in vitro* сортів Слов'янка та Червона Рута.

Оптимальні результати одержано при додаванні до живильного середовища амонійних солей дигідропіримідину з концентрацією 0,3 мг/л: висота рослин була вищою на 0,4—0,6 см, кількість мікробульб на 60-й день становила 79,1 і 81,3%.

Маса середньої мікробульби сорту Слов'янка за концентрації 0,3 мг/л була вищою на 79,6 мг, ніж у контролі. Маса та кількість мікробульб на одну рослину — більша на 74,3 мг та 0,37 шт., відповідно.

У сорту Червона Рута маса середньої мікробульби за концентрації 0,3 мг/л вища на 63,9 мг у порівнянні з контролем. Маса та кількість мікробульб на одну рослину була більшою на 73,7 мг і 0,24 шт., відповідно.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. *Bulletin OEPP/EPPO. Bulletin National regulatory control systems* PM 9/5 (2) *Synchytrium endobioticum*. 2017. 47 (3), 511—512.
2. Hampson M.C. A qualitative assessment of wind dispersal of resting spores of *Synchytrium endobioticum*, the causal agent of wart disease. *Plant Disease*. 1996. Vol. 80. P. 779—782.
3. OEPP/EPPO. EPPO. Standards PM 7/28. Diagnostic protocols for regulated pests: *Synchytrium endobioticum*. Bull. OEPP/EPPO Bull. 2004. 34:213—218.
4. Ballvora A., Flath K., Lübeck J., Strahwald J., Tacke E., Hofferbert H.R., Gebhardt Ch. Multiple alleles for resistance and susceptibility modulate the defense response in the interaction of tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) with *Synchytrium endobioticum* pathotypes 1, 2, 6 and 18. *Theoretical and Applied Genetics*. 2011. Vol. 123(8). P. 1281—1292.
5. Baayen R.P., Cochiuș G., Hendriks H., Meffert J.P., Bakker J., van den Boogert P.H.J. F., Bekker M., Stachewicz H., van Leeuwen G.C.M. History of potato wart disease in Europe a proposal for harmonization in defining pathotypes. *European Journal of Plant Pathology*. 2006. Vol. 116. P. 21—31.
6. Зеля А.Г., Гунчак В.М., Мельник А.Т. та ін. Фітосанітарний стан вогнищ раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schib.) Perc. в Карпатському регіоні України. *Карантин і захист рослин*. 2020. № 4—6 (21). С. 9—15.

7. Усков А.И., Бойко Ю.П., Бойко В.В. и др. Изучение способов размножения оздоровленного исходного материала картофеля с использованием современных биотехнологических средств. *Новое в семеноводстве картофеля*. Минск, 2000. С. 74.

8. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.Е., Полищук В.В. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Київ: Наукова думка, 1980. 488 с.

9. Балашова Г.С. Влияние температуры, фотопериода и концентрации микросолей в питательной среде на продуктивность картофеля в культуре *in vitro*. Казань: Молодой ученый, 2015. № 14. С. 675—678.

10. Скорейко А., Андрийчук Т., Билык Р. Влияние биопрепаратов на рост и продуктивность растений *in vitro*. *Защита растений — достижение и перспективы*: материалы Международного симпозиума. 25—27 октября 2020 г. Кишинев. 2020. С. 237—241.

11. Voloshchuk. O.N., Kushnir O. V., Marchenko M.M. Syntesis and oxidant activity of 2-thioxo-1.2.3.4-tetrahydropyrimidine-5-carbamides. *Pharm. Chem. J.* 2014. Vol. 48, No 4. P. 246—248.

Скорейко А.Н., Андрийчук Т.А., Билык Р.М., Сафронова Т.В.

Украинская научно-исследовательская станция карантина растений
Института защиты растений НААН, ул. Научная, 1, с. Бояны
Новоселицкого р-на Черновицкой обл., 60321, Украина,
e-mail: askoreiko50@gmail.com

Оптимизация микрклонального размножения сортов-дифференциаторов рака картофеля

Цель. Изучить влияние аммонийных солей дигидропиримидина на образование микроклубней и продуктивность сортов-дифференциаторов рака картофеля в условиях *in vitro*. **Методы.** Исследования проводили в 2019—2020 гг. в лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных культур Украинской научно-исследовательской станции карантина растений Института защиты растений НААН. Производные группы аммонийных солей дигидропиримидина синтезированы на кафедре органической химии Института биологии, химии и биоресурсов, г. Черновцы. Материал для исследований — сорта-дифференциаторы рака картофеля различных групп спелости Славянка (среднеспелый), Червона Рута (среднепоздний). Растения выращивали на питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением аммонийных солей дигидропиримидина при различных концентрациях (0,1; 0,2; 0,3 мг/л) в условиях культивационной комнаты при 16-часовом фотопериоде с интенсивностью освещения 2000—2500 лк, температурой 22—25°C и влажностью воздуха 60—80%.

Результаты. Установлено, что высокие морфометрические показатели и интенсивность клубнеобразования различных сортов спелости Славянка и Червона Рута в культуре *in vitro* обеспечивает добавление в питательную среду аммонийных солей дигидропиримидина с концентрацией 0,3 мг/л: высота растений составляла 4,6 и 4,1 см по сравнению с контролем 4,0 и 3,7 см соответственно. Количество междоузлий у обоих сортов составило 5,3 шт. (в контроле — 4,5 шт.), оптимальное количество микроклубней на 60-й день — 79,1 и 81,3%. **Выводы.** Исследование влияния различных концентраций аммонийных солей дигидропиримидина на продуктивность картофеля в культуре *in vitro* различных сортов спелости Славянка и Червона Рута показали, что оптимальные показатели обеспечивает культивирование при концентрации аммонийных солей дигидропиримидина 0,3 мг/л: масса среднего микроклубня составляет 223,4 и 195,4 мг, масса микроклубней на одно растение — 185,5 и 174,4 мг, количество микроклубней на одно растение — 1,01 и 0,87 шт.

рак картофеля; сорта-дифференциаторы; микроклональное размножение; аммонийные соли дигидропиримидина; микроклубни; продуктивность

Skoreyko A., Andriychuk T., Bilyk R., Safronova T.

Ukrainian Research Plant Quarantine Station of Plant Protection Institute of NAAS, 1, Naukova str., p. Boyany, Novoselytsa district, Chernivtsi region, 60321, Ukraine, e-mail: askoreiko50@gmail.com

Optimization of microclonal reproduction of potato wart cultivar-differentiators

Goal. To study the influence of ammonium salts of dihydropyrimidine to the formation of microtubers and the productivity of potato wart cultivator differentiators *in vitro*. **Methods.** The research was conducted in 2019–2020 in the Laboratory of Biotechnology for Agricultural Crops of Ukrainian Plant Quarantine Research Station Institute of Plant Protection of NAAS. Derivatives of ammonium salts of dihydropyrimidine were synthesized at the Department of Organic Chemistry Institute of Biology, Chemistry and Bioresources of Chernivtsi National University. The material for the research was potato wart cultivar-differentiators of different maturity groups Slovyanka (medium ripe), Chervona Ruta (medium late). The plants were grown on Murashige-Skuga nutrient medium with addition of ammonium salts of dihydropyrimidine at different concentrations (0.1; 0.2; 0.3 mg/l) in a cultivation room at 16-hour photoperiod with a light intensity of 2000–2500 lux, temperature 22–25°C and humidity of 60–80%. **Results.** It was determined that high morphometric parameters and intensity of tuber formation of different varieties of maturity Slavyanka and Chervona Ruta in *in vitro* culture provides the addition to the

nutrient medium of ammonium salts of dihydropyrimidine with a concentration of 0.3 mg/l: plant height was 4.6 and 4.1 cm compared with the control of 4.0 and 3.7 cm, respectively. The number of internodes in both varieties were 5.3 pieces (in control — 4.5 pcs.) and the optimal number of microtubers on the 60th day — 79.1 and 81.3%. **Conclusions.** The effect study of different concentrations of ammonium salts of dihydropyrimidine on the productivity of potatoes in vitro in different varieties of maturity Slavyanka and Chervona Ruta showed that the optimal performance provides cultivation at a concentration of ammonium salts of dihydropyrimidine 0.3 mg/l: weight of the average microtuber is 22 and 195.4 mg, the mass of microtubers per plant — 185.5 and 174.4 mg, the number of microtubers per plant — 1.01 and 0.87 pcs.

potato wart; cultivar differentiators; microclonal propagation; ammonium salts of dihydropyrimidine; microtubers; productivity

REFERENCES

1. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin (2017). National regulatory control systems PM 9/5 (2) *Synchytrium endobioticum*. 47 (3), 511—512.
2. Hampson M.C. (1996). A qualitative assessment of wind dispersal of resting spores of *Synchytrium endobioticum*, the causal agent of wart disease. *Plant Disease*. Vol. 80. P. 779—782.
3. OEPP/EPPO. (2004). EPPO Standards PM 7/28. Diagnostic protocols for regulated pests: *Synchytrium endobioticum*. Bull. OEPP/EPPO Bull.; 34:213—218.
4. Ballvora A., Flath K., Lübeck J., Strahwald J., Tacke E., Hofferbert H.R., Gebhardt Ch. (2011). Multiple alleles for resistance and susceptibility modulate the defense response in the interaction of tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) with *Synchytrium endobioticum* pathotypes 1, 2, 6 and 18. *Theoretical and Applied Genetics*. Vol. 123(8). P. 1281—1292.
5. Baayen R.P., Cochiuș G., Hendriks H., Meffert J.P., Bakker J., van den Boogert P.H.J. F., Bekker M., Stachewicz H., van Leeuwen G.C.M. (2006). History of potato wart disease in Europe a propasol for harmonization in defining pathotypes. *European Journal of Plant Pathology*. Vol. 116. P. 21—31.
6. Zelia A.H., Hunchak V.M., Melnyk A.T. et al. (2020). Fitosanitarnyi stan vohnyshch raku kartopli *Synchytrium endobioticum* (Schib.) Perc. v Karpatskomu rehioni Ukrainy. [Phyosanitary condition of potato cancer foci *Synchytrium endobioticum* (Schib.) Perc. in the Carpathian region of Ukraine]. *Quarantine and plant protection*. № 4—6 (21). P. 9—15. (in Ukrainian).
7. Uskov A.I., Bojko Ju.P., Bojko V.V. et. al. (2000). Izuchenie sposobov razmnozheniya ozdorovlennogo ishodnogo materiala kartofelja s ispol'zovaniem sovremennyh biotekhnologicheskikh sredstv. [Study of methods of reproduction of the improved initial material of potatoes with use of modern biotechnological means]. *Novoe v semenovodstve kartofelja*. Minsk. P. 74. (in Russian).

8. Kalinin F.L., Sarnackaja V.E., Polishhuk V.V. (1980). Metody kul'tury tkanej v fiziologii i biohimii rastenij. [Methods of tissue culture in plant physiology and biochemistry]. Kyiv: Naukova dumka. 488 p. (in Russian).

9. Balashova G.S. (2015). Vlijanie temperatury, fotoperioda i koncentracii mikrosolej v pitatel'noj srede na produktivnost' kartofelja v kul'ture *in vitro*. [Influence of temperature, photoperiod and concentration of microsalts in nutrient medium on potato productivity *in vitro* culture]. Kazan': Molodoj uchenyj. № 14. P. 675—678. (in Russian).

10. Skoreiko A., Andrijchuk T., Bilyk R. (2020). Vlijanie biopreparatov na rost i produktivnost' rastenij *in vitro*. [Influence of biopreparations on plant growth and productivity *in vitro*]. *Zashhita rastenij — dostizhenie i perspektivy: materialy Mezhdunarodnogo simpoziuma* (25—27 okt. 2020 g.). Kishinev. P. 237—241. (in Russian).

11. Voloshchuk. O.N., Kushnir O.V., Marchenko M.M. (2014). Syntesis and oxidant activity of 2-thioxo-1.2.3.4-tetrahydropyrimidine-5-carbamides. *Pharm. Chem. J.* Vol. 48, No 4. P. 246—248.

Надійшла 14.07.2021 р.