

Г.М. ШЕВАГА, завідувач лабораторії біотехнології
сільськогосподарських культур

Українська науково-дослідна станція карантину рослин Інституту
захусти рослин НААН

ВІДБІР ОЗДОРОВЛЕНИХ СОРТІВ КАРТОПЛІ, СТІЙКИХ ПРОТИ РАКУ, У ГІРСЬКО-КАРПАТСЬКОМУ РЕГІОНІ УКРАЇНИ

Оздоровлено і створено банк сортів-диференціаторів картоплі в умовах in vitro, напрацьовано достатню кількість матеріалу картоплі, який буде використаний для біологічного методу досліджень диференціації патотипів збудника раку картоплі — ідентифікації на сортах-диференціаторах. Оздоровлено та підібрано стійкі сорти картоплі, які є перспективними для районування у гірсько-карпатському регіоні України, де поширені агресивні патотипи збудника хвороби.

**картопля, рак картоплі, сорти-диференціатори, меристема,
рослини in vitro**

Картопля є однією з основних продовольчих культур у нашій країні. Її вирощують в усіх ґрунтово-кліматичних зонах [2]. За валовим виробництвом картоплі Україна посідає четверте місце у світі (після Китаю, Росії, Індії), але її урожайність у 2016 р. залишалася ще досить низькою — 158 ц/га (за даними Держстату). Одним із чинників такої урожайності є недостатня кількість високоякісного насінневого матеріалу реєстрованих сортів, її дрібнотоварне виробництво (близько 98% площ і валового збору). Це унеможливує ефективний захист насаджень від інтенсивного інфікування рослин збудниками різних хвороб і шкідників, призводить до різкого зниження продуктивності картоплі. Серед захворювань картоплі найнебезпечнішим є рак, який спричинює внутрішньоклітинний облігатний паразит — гриб *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc, що крім картоплі уражує численні види рослин із родин Solanum, Nyoscyamus, Lycium, Nicotiana, Physalis і Datura. Він є чинником значного зниження урожайності картоплі, через що його включено до карантинних захворювань у 38 країнах світу [7, 10]. Рак картоплі завдає значної шкоди картоплярству, здатний зменшувати урожай на 80—99%, особливо на присадибних ділянках.

Для своєчасного виявлення осередків поширення захворювання,

спричинених збудником раку картоплі, необхідні швидкі, надійні та малозатратні методи ідентифікації. Найбільш поширеним є біологічний метод досліджень даного об'єкта за допомогою сортів картоплі, що дають відповідну реакцію на ураження збудником. Біологічний метод диференціації патотипів збудника раку картоплі — ідентифікація на сортах-диференціаторах. Критеріями для включення сортів в диференціюючий набір є чітка реакція на ураження патогеном і достатня кількість диференціюючого матеріалу для закладання дослідів [3]. Вирощування нечистосортних, стійких проти раку сортів на заражених ділянках може сприяти виникненню нових, більш агресивних патотипів збудника. Це положення було підтверджене Neu A. [11] та Hille M. [13], які на території Німеччини на давніх вогнищах захворювання за допомогою оздоровлених сортів-диференціаторів картоплі виявили агресивні патотипи збудника гриба.

Згідно з літературними джерелами [1—4, 7—11, 13] для диференціації патотипів збудника раку картоплі доцільно використовувати оздоровлені сорти-диференціатори, оскільки диференціація проводиться в польових умовах у вогнищах поширення хвороб. За використання зараженого матеріалу іншими інфекціями реакція сортів-диференціаторів може бути не відповідною, що дає похибку в діагностиці [1—4, 7—11, 13].

Мета досліджень — створити банк сортів-диференціаторів в умовах *in vitro* української селекції.

Об'єкти дослідження — сорти картоплі, які використовуються для диференціації патотипів раку. Дослідження проводили на базі Української науково-дослідної станції карантину рослин ІЗР НААН. Матеріалом для досліджень слугували сорти-диференціатори різних груп стиглості.

Методика досліджень. Вихідним матеріалом для відтворення сортів-диференціаторів до патотипів збудника раку картоплі на рівні з матеріалом від добору клонів є також матеріал, оздоровлений методами біотехнології, зокрема, культивуванням меристем [1].

Клональне мікророзмноження є аналогом вегетативного розмноження рослин, з тією лише різницею, що воно відбувається у пробірці в умовах *in vitro*, де з клітин ізольованих тканин можна одержати досить велику кількість нових рослин. Обов'язковою умовою клонального мікророзмноження є ідентичність отриманого рослинного матеріалу вихідній материнській рослині [6].

Перевагою методу клонального мікророзмноження сортів-диференціаторів є:

- високий коефіцієнт розмноження;
- робота проводиться впродовж року в контрольних умовах;
- значне скорочення площ у полі та економія коштів на обслуговування.

Для оздоровлення та введення в культуру *in vitro* сортів картоплі застосовували культуру меристем в поєднанні з термотерапією та хімотерапією.

Технологія оздоровлення сортів картоплі є складовою частиною системи насінництва картоплі й включає наступні етапи:

- Підготовка бульб для виділення верхівкових меристем; перевірка їхньої вихідної ураженості вірусами методом імуноферментного аналізу (ІФА); пророщення в темряві за температури 35—37°C упродовж одного-двох місяців;
- Виділення меристем розміром 100—200 мкм у ламінарному боксі під біокулярним мікроскопом з масштабною сіткою за збільшення у 30—50 разів і наступне їх культивування в культурі *in vitro* на живильному середовищі з мінеральною основою за Мурасіге-Скуга за температури 23°C, вологістю повітря 70%, освітленістю 5—10 тис. люксів впродовж 16 годин на добу;
- Пересадження регенерантів розміром 3—5 мм у свіже живильне середовище з додаванням ауксину для прискорення росту й укорінення;
- Живцювання отриманих рослин за кількістю листочків із наступним клональним мікророзмноженням для одержання меристемних ліній, яким дають умовні позначення й які стають родоначальниками оздоровленого сорту;
- Тестування та добір здорових оздоровлених ліній для наступного випробування в польових умовах з метою визначення найпродуктивнішої для включення в колекцію *in vitro*.

Для початкового розмноження оздоровленого сорту картоплі застосовується метод мікроживцювання і вирощування рослин-регенерантів на штучному живильному середовищі. Для культивування рослин *in vitro* використовують живильне середовище з основою Мурасіге-Скуга, модифіковане Інститутом картоплярства [12]. Розмножені *in vitro* рослини оздоровленої картоплі для адаптації висаджували в тепличні умови. Після чого, для одержання першої бульбової репродукції, адаптовану розсаду висаджували в умови *ex vivo*.

Результати досліджень. Для визначення патотипів гриба в 1970 році В.І. Яковлевою було запропоновано тест-сортимент різної генетичної природи, розділений на чотири групи:

1. Уражуються всіма відомими патотипами, в тому числі й патотипом 1;
2. Стійкі проти патотипу 1, але уражуються всіма іншими;
3. Стійкі проти патотипу 1, але з різною реакцією на ураження новими патотипами;
4. Стійкі проти всіх відомих патотипів, у тому числі й проти патотипу 1.

Для диференціації та ідентифікації патотипів збудника раку картоплі в 1998 р. оздоровлено набір сортів-диференціаторів картоплі. До його складу входили такі сорти: Поліська рожева, Світанок київський, Радич, Незабудка, Пролісок, Берегиня, Косень-95, Кобза, Спадщина, Ресурс, Міжгірська, Барбара та Божедар. Але, в зв'язку з тим, що дані сорти виведені та районовані близько 20 років тому і вироджені, впродовж 2000—2009 рр. були відібрані та оздоровлені нові сорти-диференціатори картоплі української селекції для розроблення методу диференціації патотипів збудника хвороби (табл. 1).

До складу тест-сортименту входили сорти та гібриди картоплі першої групи, які уражуються всіма п'ятьма патотипами збудника раку, що поширюються в Україні (04 27-14, 85 145-5, Поліська рожева); другої групи — сорти картоплі, що уражуються лише чотирма агресивними патотипами (Слов'янка, Тетерів, Загадка, Серпанок); третьої групи — сорти картоплі, що диференційовано уражуються патотипами

1. Ідентифікація українських патотипів збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc за допомогою тест-сортів картоплі (2007—2009 рр.)

Група	Назва сорту	Патотипи				
		Д1 Звичай- ний	11 — Міжгір- ський	13 — Рахів- ський	18 — Ясінів- ський	22 — Бистрець- кий
1	Гібрид Н 04 27-14	+	+	+	+	+
	Гібрид П 85 145-5	+	+	+	+	+
	Поліська рожева	+	+	+	+	+
2	Слов'янка	-	+	+	+	+
	Тетерів	-	+	+	+	+
	Серпанок	-	+	+	+	+
3	Фантазія	-	+	+	+	-
	Поран	-	+	+	+	-
	Червона рута	-	+	+	-	+
	Щедрик	-	-	-	+	+
	Забава	-	-	+	+	+
	Калинівська	-	+	-	-	-
4	Малинська біла	-	-	+	-	-
	Базис	-	-	-	-	-
	Сантарка	-	-	-	-	-
	Божедар	-	-	-	-	-

досліджуваної хвороби (Фантазія, Поран, які уражуються 1, 11, 13 та 18 агресивними патотипами; Червона рута, яка уражується 1, 11, та 22 патотипами; Щедрик уражується 18 та 22 патотипами; Забава, що уражується 13, 18 та 22 патотипами збудника хвороби; Калинівська уражується лише 1 та 11 патотипами; Малинська біла уражується 1 та 13 патотипами); до четвертої групи відносяться сорти картоплі, які не уражуються жодним патотипом збудника хвороби (Базис, Сантарка, Божедар).

Упродовж 2013—2015 рр. оздоровлено та доповнено новий тест-сортимент картоплі української селекції, який дозволяє ідентифікувати існуючі патотипи та нові виявлені ізоляти збудника раку в Україні (табл. 2).

Іноземні дослідники пропонують використовувати стандартний набір сортів-диференціаторів із метою ідентифікації патотипів, взявши за основу шість широко вживаних сортів картоплі в Німеччині та Нідерландах (табл. 3). В Україні Європейський набір сортів-диференціаторів картоплі нажаль відсутній [5].

У культурі *in vitro* створено банк сортів-диференціаторів картоплі української селекції, які слугують вихідним матеріалом для ідентифікації патотипів збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc. Відібраний новий тест-сортимент картоплі дозволяє

2. Ідентифікація українських патотипів збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc за допомогою тест-сортів картоплі (2013—2015 рр.)

Група	Назва сорту	Патотипи				
		Д1 Звичай- ний	11 — Міжгір- ський	13 — Рахів- ський	18 — Ясінів- ський	22 — Бистрець- кий
1	Поліська рожева	+	+	+	+	+
2	Піровська	+	+	+	+	+
	Легенда	+	+	+	+	+
	Слов'янка	-	+	+	+	+
3	Диво	-	-	-	-	+
	Червона рута	-	-	-	-	+
	Щедрик	-	-	-	-	+
	Калинівська	-	+	-	-	-
	Малинська біла	-	-	+	-	-
4	Глазурна	-	-	-	-	-
	Божедар	-	-	-	-	-

**3. Ідентифікація європейських патотипів збудника
раку картоплі за допомогою тест сортів картоплі *Synchytrium
endobioticum* (Schilb) Perc**

Група	Назва сорту (Differential cultivars)	Патотипи (Pathotype)				
		1 (D1)	2 (G1)	6 (O1)	8 (F1)	18 (T1)
1	Deodara	+	+	+	+	+
	Tomensa	+	+	+	+	+
	Eesteling	+	+	+	+	+
2	Producent	-	+	+	+	+
	Combi	-	+	+	+	+
3	Saphir	-	+	-	-	-
	Delcora	-	-	-	+	+
	Miriam	-	-	-	-	+
4	Karolin	-	-	-	-	-
	Ulme	-	-	-	-	-
	Belita	-	-	-	-	-



**Рис. 1. Колекція сортів-
диференціаторів до патотипів раку
в умовах *in vitro***

ідентифікувати існуючі патотипи і виявити нові ізоляти збудника хвороби (рис. 1).

Для проведення диференціації патотипів збудника раку картоплі доцільно використовувати оздоровлені сорти-диференціатори, тому що диференціація проводиться в польових умовах у вогнищах поширення хвороби. Якщо бульби заражені іншими інфекціями, в тому числі й вірусними, реакція відбувається слабшою на зараження патотипом.

ВИСНОВКИ

Оздоровлено та підібрано стійкі сорти картоплі, які є перспективними для районування у гірсько-карпатському регіоні України, де поширені агресивні патотипи збудника хвороби. Рекомендовані для вирощування такі сорти картоплі української селекції — Арія, Багряна, Билина, Божедар, Бородянська рожева, Глазурна, Гурман,

Дніпрянка, Дорогинь, Дара, Іванківська рання, Завія, Звіздаль, Косень-95, Кіммерія, Лугівська, Левада, Летана, Мандрівниця, Обрій, Подолянка, Поран, Повінь, Промінь, Тирас, Слаута, Случ, Солоха, Фантазія, Чарунка, Хортиця, Шедрик.

БІБЛЮГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. *Калинин Ф.Л.* Технология микрклонального размножения растений / Ф.Л. Калинин, Г.П. Кушнер, В.В. Саринацкая. — К.: Наук. думка, 1992. — 290 с.
2. *Мельник П.О.* Етіологія раку картоплі біоекологічне обґрунтування заходів його профілактики та обмеження розвитку / П.О. Мельник. — Чернівці: Прут, 2003. — 284 с.
3. *Методические рекомендации.* Положение о порядке испытания картофеля на устойчивость к раку и золотистой картофельной цистообразующей нематодe [Т.С. Ефременко, Л.В. Боднар, Э.Е. Бондаренко, Л.П. Салтыкова]. — М.: Наука, 1989. — 13 с.
4. *Методичні рекомендації.* Диференціація та ідентифікація патотипів та ізолятів збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schib.) Perc. [А.Г. Зея, О.С. Сологуб, П.О. Мельник]. — Чернівці. — 2010. — 31 с.
5. *Методичні рекомендації.* Методика оцінки та відбору селекційного матеріалу картоплі стійкого до раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc., гармонізована з вимогами ЕС. [Г.В. Зея, Т.М. Олійник, А.Г. Зея] — Чернівці. — 2015. — 24 с.
6. *Рудишин С.Д.* Основи біотехнології рослин / С.Д. Рудишин — Вінниця, 1998. — 224 с.
7. *Сучасний стан поширення карантинних організмів в Україні* [Електронний ресурс] / Режим доступу: <http://propozitsiya.com/ua/suchasniy-stan-poshirennya-karantinnih-organizmiv-v-ukrayini> 2014.
8. *Çakır E.* Identification of pathotypes of *Synchytrium endobioticum* found in infested fields in Turkey. / М.С. Leeuwen Van G., К. Flath, J.P. Meffert, W.A. Janssen // OEPP/EPPO Bulletin — 2009. — 39 — P. 175—178.
9. Isolated outbreak of *Synchytrium endobioticum* is being officially controlled, cf. DNK-15/3. International Plant Protection Convention (IPPC) pest report. October 8, 2014. Last accessed October 16, 2014, from [Електронний ресурс] / Режим доступу: <https://www.ippc.int/countries/denmark/basic-reporting/isolated-ourbreak-synchytrium-endobioticum-being-officially>.
10. *Eradication of Synchytrium endobioticum from Austria.* European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). May 1, 2014. [Електронний ресурс] / Режим доступу: <http://archives.eppo.int/EPPOreporting/2014/Rse-1405.pdf>.
11. *Hey A.* Die Kartoffelkrebsforschung in der Deutschen Demokratischen

Republik und ihre praktische Auswertung. / Hey A. // In: Proceedings of the international Conference of potato wart disease, Pragua. Annals of CAAS-Plant Production, 32(6): 1959 — pp. 59—68.

12. *Murashige T.* A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Planta.* — 1983 — №157 — P. 385—391.

13. *Nelson, G.A.* Methods for Gstimating Number of resting sporangia of *Synchytrium endobioticum* in soil / G.A. Nelson, O.A. Olsen // *Phytopatology.* — 1964. — 54(2). — P. 85—86.

Шевага Г.Н. Отбор оздоровленных сортов картофеля, устойчивого против рака, в горно-карпатском регионе Украины

Оздоровлен и создан банк сортов-дифференциаторов картофеля в условиях in vitro, наработан достаточный картофельный материал, который будет использован в качестве биологического метода исследования дифференциации патотипов возбудителей рака картофеля — идентификации на сортах-дифференциаторах. Районированы и отобраны устойчивые сорта картофеля, перспективные для районирования в горно-карпатском регионе Украины, местах распространения агрессивных возбудителей болезни.

Shevaga G.M. The choice of treated resistant potato varieties to wart in mountain-carpathean region of Ukraine

The potato varieties-differentiators were treated and put into the bank in the conditions in vitro. The enough potato material quantity was accumulated for the next study of the wart potato pathogen differentiations — identifying on variety of differentiators. The potato resistant varieties were treated and chosen. These varieties are perspective for the zonation in mountain-carpathean region of Ukraine in the spreading locations of aggressive pathotypes pathogens.