

Г.М. ШЕВАГА, завідувач лабораторії
В.М. ГУНЧАК, кандидат сільськогосподарських наук
А.Г. ЗЕЛЯ, кандидат біологічних наук
Українська науково-дослідна станція карантину рослин ІЗР НААН

М.М. КИРИК, академік НААН України, доктор біологічних наук,
професор
Національний університет біоресурсів і природокористування України

ОЗДОРОВЛЕННЯ ТА ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* СОРТІВ-ДИФЕРЕНЦІАТОРІВ РАС РАКУ КАРТОПЛІ

Оздоровлено і створено банк сортів-диференціаторів картоплі в умовах in vitro, напрацьовано достатню кількість матеріалу картоплі, який буде використаний для біологічного методу досліджень диференціації рас збудника раку картоплі — ідентифікація на сортах-диференціаторах. Для оздоровлення вихідного матеріалу застосовували культуру меристем в поєднанні з термотерапією.

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

Картопля, як культура, що вегетативно розмножується, для підтримання продуктивних якостей сорту в процесі його використання потребує постійного сортооновлення та сортозаміни з використанням високопродуктивного насінневого матеріалу, частка якого відносно рівня урожаю оцінюється в 30—40% [10].

Останньою тенденцією сучасного насінництва картоплі є використання вихідного матеріалу, оздоровленого шляхом термотерапії та культури меристемної тканини, у поєднанні із клональним мікророзмноженням [1].

Через високу шкідливість, яку приносить збудник раку картоплі, він набув статусу карантинного об'єкта світового значення [2]. Для своєчасного виявлення вогнища захворювання, спричиненого цим організмом, необхідні швидкі, надійні та малозатратні методи їх ідентифікації. Найбільш поширеним та достовірним є біологічний метод досліджень диференціації рас збудника раку картоплі — ідентифікація на сортах-диференціаторах. Критеріями для включення сортів у диференціюючий набір являються чітка реакція на ураження патогеном і достатня кількість диференціюючого матеріалу для закладання дослідів [3].

За кілька років було оздоровлено і введено в пробіркову культуру основний тестуючий набір. Оскільки *in vitro* рослина не має контакту з переносниками системних хвороб, то вільні від інфекції сорти можна зберігати протягом тривалого часу. Проте, в останні роки, нами помічено виснаження пробіркової культури, зменшення її потенціалу, тобто: спостерігалася карликовість (слабкий ріст вегетативної маси і кореневої системи), хлороз та вітрифікація (склоподібність) листків, погане приживання пробіркових рослин в тепличних ізоляторах, зменшення коефіцієнта відтворення рослин. Все це вказувало на необхідність оновлення “затухаючої” культури в умовах *in vitro* сортів-диференціаторів картоплі. Тому **метою досліджень** є необхідність створити сучасний банк сортів-диференціаторів в умовах *in vitro* та напрацювання достатньої кількості матеріалу картоплі.

Об’єкти дослідження — сорти картоплі, які використовують для диференціації рас раку. Дослідження проводили на Українській науково-дослідній станції карантину рослин ІЗР НААН. Матеріалом для досліджень слугували 13 сортів картоплі. Для оздоровлення вихідного матеріалу застосовували культуру меристем в поєднанні з термотерапією.

Методика досліджень. Закладали бульби на термотерапію із розрахунку продуктивних вічок, які є потенційним матеріалом для вицнення найбільш життєздатних апікальних меристем [4—6].

Період від виділення меристеми до утворення рослин з 5—6 листочками становив 30—45 днів. Деякі меристеми регенерували рослину за 2—8 місяців.

Протягом періоду регенерації рослини з меристеми кожні 10—15 днів пересаджували на нову порцію живильного середовища.

Для культивування рослин *in vitro* використовували живильне середовище з основою Мурашіге-Скуга, модифіковане Інститутом картоплярства [7].

Коли рослина утворювала 5—6 листочків, її живцювали. Живці включають в себе частину стебла з листочком і пазуховою брунькою. Кожен з них пересаджували у пробірки із середовищем на глибину міжвузля так, щоб пазухова брунька живця була дещо вище рівня середовища, для регенерації рослин.

На 3—4-й день після садіння живців починався ріст стебла і коренів. Через 20—25 днів рослини повністю відростали і утворювали повноцінну рослину.

Режими культивування: температура — $22 \pm 3^\circ\text{C}$, вологість повітря — 70—75%, освітленість — 2—3 тис. люкс, фотоперіод — 16 годин освітлення.

Результати досліджень. У дослідженнях протягом 2011—2013 рр. щодо оздоровлення сортів-диференціаторів картоплі української селекції на зараження рас збудника раку методом верхівкової меристеми



Рис. Культивування рослин картоплі в умовах in vitro

у поєднанні з термотерапією були залучені такі сорти-диференціатори картоплі української селекції із 4-х груп: 1 група — Поліська рожева, яка уражується всіма патотипами в Україні; 2 група — Серпанок, Слов'янка, Тетерів (уражуються лише агресивними патотипами); 3 група — Калинівська (уражується лише Міжгірським агресивним патотипом); Малинська біла (уражується Рахівським патотипом); Фантазія (Ясинівським патотипом); Червона рута (уражується лише Бистрецьким агресивним патотипом); Щедрик (Ясинівським і Бистрецьким агресивними патотипами), Поран (уражується Міжгірським, Рахівським і Бистрецьким агресивними патотипами); 4 група — Божедар і Сантарка, які не уражуються жодними патотипами в Україні (табл. 1).

Режим теплової обробки становив 30–37°C, проте тривалість прогрівання для кожного сорту була різною. Період прогрівання для сортів-диференціаторів Серпанок, Тетерів, Забава, Поліська рожева, Фантазія, Поран, Сантарка, Слов'янка становив 5 тижнів, а сортів Червона рута, Калинівська, Малинська біла, Божедар, Щедрик — 6. Найтриваліший період прогрівання спостерігали у сорту Базис — 10 тижнів.

За період (2011–2013 рр.) оздоровлено та введено в культуру *in vitro* 13 тест-сортів до збудника раку картоплі.

Закладали бульби на термотерапію із розрахунку продуктивних вічок, які є потенційним матеріалом для вицнення найбільш життєздатних апікальних меристем. В процесі проведення термотерапії

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

| Група | Назва сорту | Патотипи | | | | |
|-------|-----------------|------------------|----------------|-------------|-------------|----------------|
| | | Д1- Звичайний | 11 Міжгір'я | 13 Рахів | 18 Ясиня | 22 Бистрець |
| 1 | Поліська рожева | + | + | + | + | + |
| 2 | Слов'янка | - | + | + | + | + |
| 2 | Тетерів | - | + | + | + | + |
| 2 | Серпанок | - | + | + | + | + |
| 3 | Фантазія | - | + | + | + | - |
| 3 | Поран | - | + | + | + | - |
| 3 | Червона рута | - | + | + | - | + |
| 3 | Щедрик | - | - | - | + | + |
| 3 | Забава | - | - | + | + | + |
| 3 | Калинівська | - | + | - | - | - |
| 3 | Малинська біла | - | - | + | - | - |
| 4 | Сантарка | - | - | - | - | - |
| 4 | Божедар | - | - | - | - | - |

Примітки: + — ураження збудником раку картоплі; — - відсутність ураження збудником раку.

внаслідок наявності прихованих форм інфекцій та їх подальшого розвитку в сприятливих умовах проведено вибракування хворих бульб, всього вибраковано за 2011—2013 рр. — 142 бульби (табл. 2).

До кожного досліджуваного сорту було виділено від 5-ти до 22-х меристем. У процесі культивування спостерігали за морфогенезом та регенерацією рослин картоплі. Дослідженнями встановлено, що найбільше мікроклональних ліній одержано у сортів Фантазія, Поран (по 12 штук), найменше — у сорту Базис (1 шт). Отже, слід зазначити, що для даних сортів із збільшенням періоду термотерапії знижується ефективність регенерації. Всього за 2011—2013 рр. виділено меристеми — 225 штук та одержано 115 вихідних рослин.

ВИСНОВКИ

В культурі *in vitro* створено банк сортів-диференціаторів картоплі, які слугують вихідним матеріалом для ідентифікації рас збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc. Відібраний новий тест-сортимент картоплі дає можливість ідентифікувати існуючі патотипи і нові виявлені ізоляти збудника хвороби.

Для диференціації рас збудника раку картоплі доцільно використовувати безвірусні сорти-диференціатори, тому, що диференціація

2. Оздоровлення та введення в культуру *in vitro* сортів-диференціаторів патотипів раку та видів і рас цистоутворюючих нематод

| № | Тест-сорт картоплі української селекції | Закладено на термотерапію бульб, шт. | Вибракувано бульб у процесі термотерапії, шт. | Виділено апікальних меристем, шт. | Одержано мікрোকлональних ліній, шт. |
|-------------|---|--------------------------------------|---|-----------------------------------|-------------------------------------|
| 2011 | | | | | |
| 1. | Лорх | 25 | 13 | 8 | 6 |
| 2. | Поліська рожева | 25 | 14 | 10 | 8 |
| 2012 | | | | | |
| 1. | Базис | 2 | — | 5 | 1 |
| 2. | Поліська рожева | 25 | 5 | 20 | 2 |
| 3. | Поран | 20 | 5 | 18 | 12 |
| 4. | Серпанок | 25 | 6 | 19 | 11 |
| 5. | Слов'янка | 24 | 3 | 8 | 10 |
| 6. | Фантазія | 25 | 6 | 20 | 12 |
| 7. | Червона рута | 25 | 7 | 15 | 5 |
| 8. | Щедрик | 25 | 10 | 22 | 6 |
| 2013 | | | | | |
| 1. | Божедар | 25 | 20 | 10 | 2 |
| 2. | Калинівська | 25 | 10 | 10 | 2 |
| 3. | Малинівська біла | 25 | 9 | 10 | 2 |
| 4. | Поран | 25 | 2 | 10 | 5 |
| 5. | Серпанок | 25 | 19 | 10 | 2 |
| 6. | Тетерів | 25 | 3 | 10 | 9 |
| 7. | Червона Рута | 25 | 8 | 10 | 10 |
| 8. | Щедрик | 25 | 2 | 10 | 10 |

проводиться в польових умовах в осередках розповсюдження хвороб. Якщо бульби заражені іншими хворобами, в тому числі і вірусними, реакція відбувається слабшою на зараження патотипом чи расою.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. Гуляев Г.В. Селекция и семеноводство содружества независимых государств в XXI веке // Вестник семеноводства в СНГ / Г.В. Гуляев — М.: Агропромиздат, 1999. — №4. — С. 23—26.

2. Зея А.Г. Диференціація та ідентифікація патотипів та ізолятів збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schib.) PERC. / А.Г. Зея, О.С. Сологуб, П.О. Мельник // Методичні рекомендації: УкрНДСКР. — Чернівці. — 2010. — С. 31.

3. Зеля А.Г. Селекційна оцінка та відбір стійких до раку *Synchi-trium endobioticum* (Schilb.) Perc. зразків картоплі / П.О. Мельник, А.Г. Зеля // Картоплярство. Вип. 34—35. — С. 74—78.

4. Калинин Ф.Л. Технология микрклонального размножения растений / Ф.Л. Калинин, Г.П. Кушнир, В.В. Сарнацкая. — К.: Наук. думка, 1992. — 232 с.

5. Картопля / За ред. В.В. Кононученка, М.Я. Молоцького. — Біла церква, 2002. — Т.1. — С. 379—435.

6. Кушнір Г.П. Микрклональне розмноження рослин. Теорія і практика / Г.П. Кушнір, В.В. Сарнацкая, — К.: Наук. думка, 2005. — 242 с.

7. Мельник П.О. Оптимізація середовища для культивування рослин картоплі / П.О. Мельник, Г.М. Шевага // Актуальные проблемы иммунитета и защиты сельскохозяйственных культур от болезней и вредителей: Тезисы докладов международной научно-практической конференции 11—14 сентября 2007 г. — Одесса, 2007. — С. 53.

8. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею / Інститут картоплярства. Немішаєве. — 2002. — 182 с.

9. Методичні рекомендації. Оздоровлення сортів картоплі методом культури апікальних меристем / [Т.М. Олійник, К.А. Слободян, О.О. Шевченко та ін.] : Ін-т картоплярства НААН. — Немішаєве; К.: ТОВ “КВІЦ”, 2012. — 28 с.

10. Онищенко О.Й. Насінництво картоплі на Україні / О.Й. Онищенко. — К.: Урожай, 1996. — 206 с.

Шевага Г.Н., Гунчак В.М., Зеля А.Г., Кирик Н.Н. Оздоровление и введение в культуру *in vitro* сортов-дифференциаторов рас рака картофеля

*Оздоровлен и создан банк сортов-дифференциаторов картофеля в условиях *in vitro*, наработано достаточное количество материала картофеля, который будет использован для биологического метода исследований дифференциации рас возбудителя рака картофеля — идентификация на сортах-дифференциаторах. Для оздоровления исходного материала применяли культуру меристем в сочетании с термотерапией.*

Shevaga G.M., Gunchak V.M., Zelya A.G., Kyryk M.M. Potato wart races differentiating varieties sanitation and introduction into culture *in vitro*

*Redeveloped and the bank of potato varieties differentiators in conditions *in vitro*, is turned out enough material potatoes, which will be used for biological research method dyfferentsiatsii races pathogen of potato — identification of varieties on-differentiator. For the recovery of the starting material used meristem culture combined with thermotherapy.*