

cant differences was not found between the options depending on the weather conditions. The greatest impact on the manifestation of bubbles in the nest of four varieties had meteorological conditions of research, one - the test conditions of the place, and the rest - the interaction of two factors. The "Dnipyryanka" grade was characterized by high values of the six parameters of adaptability.

Keywords: potato, varieties, breeding establishment, the number of bubbles in the nest, performance adaptability.

Дата надходження до редакції: 23.10.2013

Рецензент: Кожушко Н.С.

УДК: 635.21:632.481.46:581.143.6

ЕФЕКТИВНІСТЬ СЕЛЕКЦІЇ КАРТОПЛІ *IN VITRO* НА СТІЙКІСТЬ ДО *FUSARIUM OXYSPORUM* ТА *FUSARIUM SAMBUCINUM*

Н. А. Захарчук, к.б.н., Інститут картоплярства НААН України

*В результаті проведених досліджень встановлено можливість використання культуральних рідин *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambucinum* та фузарієвої кислоти як селективних факторів для одержання стійких форм картоплі в технологічному процесі клітинної селекції.*

Ключові слова: картопля, селекція *in vitro*, калюсна та суспензійна культура, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambucinum*, фузарієва кислота.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Картопля набуває все більшого поширення в світі. Її вирощують у біля 160 країнах. Слід зазначити, що картопля, як невід'ємна частина глобальної продовольчої системи, сьогодні є незлаковим продовольчим товаром номер один у світі, а висока енергетична цінність зробила її однією з важливих сільськогосподарських культур, що дає реальний прибуток мільйонам виробників [1].

Україна по вирощуванню картоплі займає 4 місце в світі (валовий збір у 2012 році складав 23,2 млн. тонн) після Китаю, Індії і Росії, проте середній урожай становить лише 16,1 т/га. Це спричиняє екстенсивне ведення галузі, малоефективне використання потенціальних можливостей сортів, недостатньої кількості якісного насіннєвого матеріалу, неефективний захист від хвороб і шкідників [2].

Багаті на поживні речовини органи рослин картоплі є добрим субстратом для збудників багатьох хвороб. Вегетативний спосіб розмноження культури сприяє збереженню та значному накопиченню інфекції, що призводить до виникнення епіфітотій, а, отже, і значних втрат урожаю.

У зв'язку зі змінами кліматичних умов (особливо останні роки) відчутно загострилась проблема ураження насаджень картоплі грибами роду *Fusarium*, що спричиняють як в'янення картоплиння, так і суху гниль бульб.

Впровадження стійких сортів є основною ланкою у системі заходів захисту від патогена. Насамперед це пов'язано з охороною навколишнього середовища від забруднення хімічними засобами захисту і підвищенням рентабельності картоплярства.

На сьогодні для створення нових стійких проти хвороби сортів картоплі поряд з традиційними методами селекції використовують сомат-

лональну мінливість та клітинну селекцію.

Для успішного застосування цих методів необхідно мати ефективну систему регенерації в культурі *in vitro*, яка в картоплі часто не відповідає вимогам експерименту. Крім того, майже всі нині існуючі схеми клітинної селекції розраховані на створення стійкості до патогенів, які, як правило, пов'язані з патотоксинами [3, 4].

Тому надзвичайно актуальним є пошук нових оригінальних підходів для вирішення проблеми. Використання фітотоксичних метаболітів грибів роду *Fusarium*, які відіграють ключову роль у патогенезі, та інших речовин, що активують захисні механізми і можуть бути успішно застосовані в клітинній селекції як селективні фактори, і є одним з таких підходів.

Мета роботи: удосконалити і відпрацювати методи клітинної селекції картоплі *in vitro* на стійкість до фітопатогенних грибів *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambucinum* та з'ясувати механізми, що забезпечують стійкість клітин калюсних і суспензійних культур до дії екзометаболітів патогенів.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктами дослідження були сорти картоплі селекції Інституту картоплярства НААН з різною стійкістю проти сухої фузаріозної гнилі: відносно стійкий – Гурман, сприйнятливий – Тирас, фітотоксичні метаболіти (фузарієва кислота), *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambucinum*, виділені з культуральних фільтратів патогенів.

В усіх дослідках використовували рослини *in vitro* оздоровлені від вірусних і бактеріальних хвороб методом культури меристеми в поєднанні з хіміо- і термотерапією [5].

Калюсну тканину отримували, використовуючи листки та стебла пробіркових рослин вихідних сортів, які культивували в чашках Петрі на середовищах для одержання крихкого та

морфогенного калусу.

Суспензійну культуру ініціювали з крихких калусів у середовищі MS [6] і культивували при постійному струшуванні в колбах при температурі $25 \pm 1^\circ \text{C}$, відносній вологості повітря 80-85%, в темряві.

Після 2-3 пасажів, коли суспензія стабілізувалася, її використовували в дослідженнях з клітинної селекції.

Індукцію калюсоутворення для різних сортів картоплі проводили з використанням провідного середовища за прописом MS з деякими нашими модифікаціями.

Усі варіанти дослідів проводили не менше, ніж в 3-х кратній повторності та обробляли з використанням статистичного методу.

Результати дослідження. На початку дослідження важливо було визначити можливість

використання нативних культуральних фільтратів *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambucinum* та фузарієвої кислоти як селективних факторів.

З метою максимального накопичення біомаси патогенів, збудники вирощували на картопляно-агаровому середовищі: картопляний відвар - 500 мл, цукроза - 20 г, агар - 20 г, дистильована вода - 500 мл. Стерилізували середовище в автоклаві при тискові 0,7-0,8 атм. 15 хвилин під текучим паром + 15 хвилин повна стерилізація. Умови вирощування стандартні: вологість 75-80%, температура 15-22° С.

Наступним етапом нашого дослідження було визначення придатності рідких синтетичних живильних середовищ Чапека [7], Білай [7] і Audhya, Pussell [7], з нашими модифікаціями, для максимального накопичення фітотоксичних метаболітів (табл. 1).

Таблиця 1

Склад синтетичних середовищ для культивування грибів роду *Fusarium*

Компоненти	Середовище Чапека	Середовище Білай	Audhya, Pussell
KNO ₃	2 г	8 г	-
KH ₂ PO ₄	1 г	2 г	2 г
MgSO ₄	0,5 г	0,1 г	0,1 г
KCl	0,5 г	0,5 г	0,5 г
FeSO ₄	0,01 г	сліди	5 мг
Цукроза	20 г	80 г	50 г
Дистильована вода	1 л	1 л	1 л
Ca(NO ₃) ₄ H ₂ O	-	-	60 мг
Бактотриптон			3,8 г
Мікроелементи			10 мг

Культуру вирощували в стаціонарних умовах на матрацах з 150 мл, середовища при температурі $22 \pm 2^\circ \text{C}$ 10 діб. За результатами візуальної оцінки щодо максимального накопичення біомаси збудника проводили виділення метаболітів. В результаті було одержано наступні хлороформні фракції: з культуральної рідини *Fusarium oxysporum* і *Fusarium sambucinum*; з міцелію *Fusarium oxysporum* і *Fusarium sambucinum*. Оцінку активності одержаних фракцій проводили на дисках бульб відносно стійкого сорту Гурман та нестійкого Тирас. Найбільшу активність виявили хлороформні фракції з культуральних рідин *Fusarium oxysporum* і *Fusarium sambucinum*, які в подальшому використовували для виділення фітотоксичних метаболітів. В результаті одержано фузарієву кислоту (5-н бутіл-2-піридин-карбонова кислота), хімічна природа якої була підтверджена в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Прояв дії фузарієвої кислоти був аналогічним за використанням нативних культуральних рідин збудників. Крім того, нами встановлена ідентичність цієї сполуки, отриманої з культуральної рідини, і комерційного препарату фірми *Sigma*.

На суспензійних клітинах, які культивували на рідкому середовищі MS, вивчали дозову ефективність фузарієвої кислоти в концентраціях 10, 20, 30, 40, 50, 60 та 70 мкМ. Клітини інкубували 1-3 дня при безперервному освітленні (3-4 тис.

лк) і температурі 25°С, а потім зафарбовували флюоресцеїном діацетатом (0,01%) для визначення життєздатності. Результати тестування показали, що 70 мкМ фузарієвої кислоти достатньо, щоб загинули, практично, всі клітини (рис. 1).

Окремі клітини, які висівали на агаризоване середовище, починали ділитись через 4-6 діб, а через 30-40 діб утворювали калюсну тканину розміром 3-4 мм. Слід зазначити, що після першого циклу селекції гинуло 48-92% калюсів залежно від сорту, а після другого - 5-10%. З рис. 1 видно, що концентрація фузарієвої кислоти 70 мкМ інгібувала ріст калюсів як стійкого, так і нестійкого сортів. При цьому, спостерігали побуріння тканини, що свідчило про її загибель. Незначні концентрації (10, 20 мкМ), навіть, стимулювали приріст калюсної маси. Візуальну різницю відмічали за використанням концентрацій 30, 40 мкМ. Істотну різницю в рості калюсів реєстрували при використанні концентрації 50 та 60 мкМ. Так, приріст калюсної маси відносно стійкого сорту Гурман майже досягав контрольного (93%), в той час як у нестійкого сорту Тирас складав лише 28%. Така ситуація переконливо ілюструє фітотоксичний ефект препарату у культурі *in vitro*.

У подальшому (третій і четвертий пасаж) відмічали стійкість відібраної тканини до дії токсину. Після п'яти пасажів на селективному середовищі, калюси переносили на середовище без токсина. Через 5-12 діб маса калюсної тканини на

цьому середовищі відповідала швидкості росту вихідної калюсної тканини.

Резистентні клітини зберігали свою стійкість впродовж 3-х місячного субкультивування на

середовищі без токсину. В результаті відібрано 8-44 % резистентної калюсної тканини сортів Гурман та Тирас.

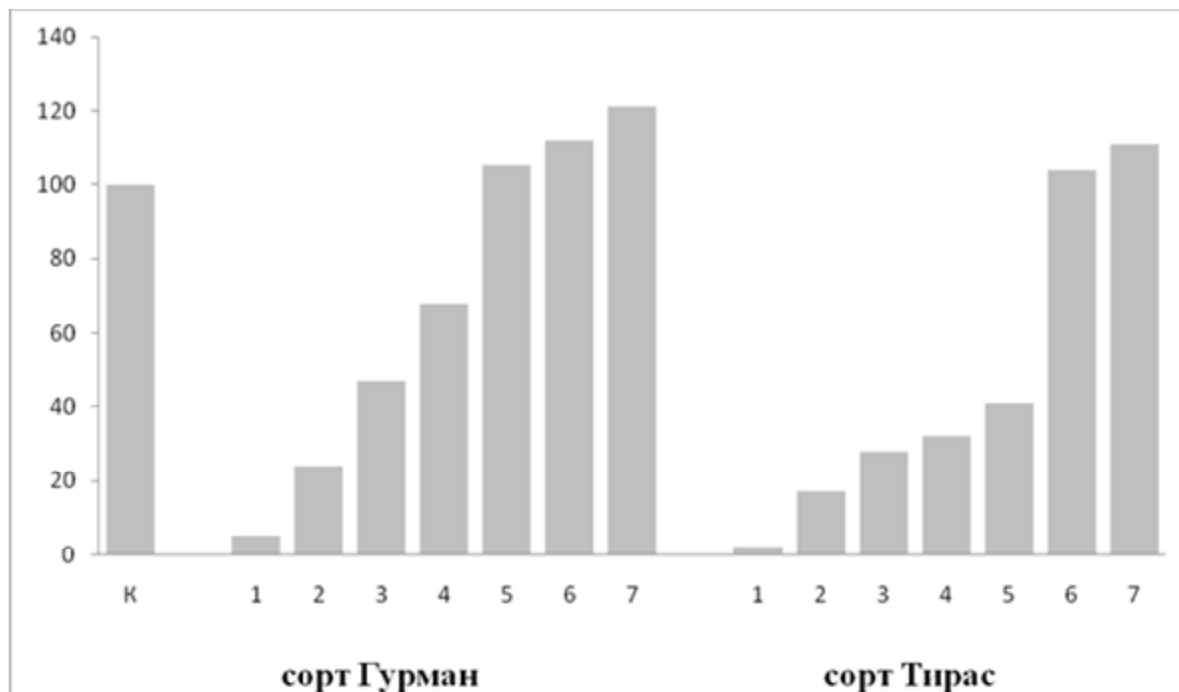


Рис. 1. Дія різних концентрацій фузарієвої кислоти на ріст калюсної тканини картоплі стійкого та нестійкого сортів:

К – контроль; 1 – 70 мкМ; 2 – 60 мкМ; 3 – 50 мкМ; 4 – 40 мкМ; 5 – 30 мкМ; 6 – 20 мкМ; 7 – 10 мкМ

Добре проліферовану калюсну тканину переносили для регенерації на середовище за прописом Анненкова [8].

Відібрані за стійкістю до фузарієвої кислоти калюси переносили на середовище, яке містило нативну культуральну рідину патогена *Fusarium oxysporum* або *Fusarium sambucinum* (50%). Встановлено, що в цих умовах калюсна тканина втрачала здатність до проліферації на 68-93%. На нашу думку, це пов'язано з тим, що до складу культурального фільтрату поряд з фузарієвою кислотою входять і інші токсичні екзометаболіти патогена. Детально це питання та вплив отриманих речовин на регенераційну здатність калюсної

тканини картоплі планується вивчити в подальших дослідженнях.

Висновки. В результаті проведених дослідження визначено оптимальні живильні середовища для максимального накопичення біомаси *Fusarium oxysporum* та *Fusarium sambucinum* і виділення фітотоксичних метаболітів. Показано, що фузарієва кислота проявляє дію аналогічну культуральних фільтратів збудників. Встановлено сублетальні концентрації нативної культуральної рідини *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambucinum* та фузарієвої кислоти при використанні їх в якості селективних факторів в селекції картоплі in vitro.

Список використаної літератури:

1. Старовойтов В. И. Индустрия картофеля (справочник) / В. И. Старовойтов. – М., 2013.- 272 с.
2. Бондарчук А. А. Наукові основи насінництва картоплі в Україні / А. А. Бондарчук. – К., 2010. – 399 с.
3. Зайченко А. М. Макроциклические трихотеценовые микотоксины / А. М. Зайченко, Е. В. Андриенко, Е. С. Цыганенко. – К. : Наукова думка, 2008. – 246 с.
4. Калашникова Е. А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням : автореф. дис на соискание науч. степени д.б.н.: спец 03.00.23 / Е. В. Калашникова. – М., 2003. – 39 с.
5. Остапенко Д. П. Культура меристемы и повышение ее эффективности при оздоровлении картофеля от вирусной инфекции / Д. П. Остапенко, А. А. Кучко // Научные труды НИИКХ. – М., 1977. – Вып. 30. – С. 58-62
6. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, A. Scoog // Phtsiol. Plant. – 1962. – Vol. 15. – P. 473-497.
7. Билай В. И. Методы экспериментальной микологии / В.И.Билай. – К. : Наукова думка, 1982. –

322 с.

8. Пат. 2080779 (1997) Российская Федерация, А01Н4/00. Способ получения in vitro селекционной популяции регенерантов при самоклональном сортоулучшении картофеля / Б. Г. Анненков, Т. А. Белуга; заявитель и патентообладатель Дальневосточный научно-исследовательский институт сельского хозяйства Дальневосточного отделения Россельхозакадемии. – заявл. 27.10.1992; опубл. 10.06.1997.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СЕЛЕКЦИИ КАРТОФЕЛЯ IN VITRO НА УСТОЙЧИВОСТЬ К FUSARIUM OXYSPORUM И FUSARIUM SAMBUCINUM

Н. А. Захарчук

В результате проведенных исследований установлена возможность использования культуральных жидкостей Fusarium oxysporum, Fusarium sambucinum и фузариевой кислоты в качестве селективных факторов для получения устойчивых форм картофеля в технологическом процессе клеточной селекции.

Ключевые слова: картофель, селекция in vitro, каллусные и суспензионные культуры, Fusarium oxysporum, Fusarium sambucinum, фузариева кислота.

EFFICIENCY GAINS OF POTATO BREEDING IN VITRO OF RESISTANCE TO FUSARIUM OXYSPORUM AND FUSARIUM SAMBUCINUM

N.A. Zaharchuk

The studies established the possibility of using culture fluids Fusarium oxysporum, Fusarium sambucinum and 5-n-Butyl-2-pyridin carboxylic acid as selective factors for sustainable forms of potatoes in the process of cell selection.

Key words: potato breeding in vitro, callus and suspension cultures, Fusarium oxysporum, Fusarium sambucinum, 5-n-Butyl-2-pyridin carboxylic acid.

Дата надходження до редакції: 13.10.2013

Рецензент: Подгаєцький А.А.

УДК 635.21:581.132

МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ПЛОЩІ ЛИСТКОВОЇ ПОВЕРХНІ РОСЛИНИ КАРТОПЛІ

П. В. Савченко, аспірант

Н. С. Кожушко, д.с.-г.н., професор

Сумський національний аграрний університет

Викладені результати порівняльної оцінки існуючих методів визначення площі листкової поверхні рослини 22 нових і перспективних сортів картоплі селекції Сумського НАУ. За об'єктивністю отриманих даних, при порушенні цілісності рослини, встановлена перевага сканування перед методом висічок. Для мінімізації процесу оцінки матеріалу при селекції і сортовивченні картоплі доцільним є математичний метод прогнозування площі листкової поверхні неушкодженої рослини за розробленим рівнянням регресії, яке на 82% пояснює зміну ознаки від квадрату суми лінійних розмірів листка.

Ключові слова: картопля, площа листкової поверхні, взаємозв'язок ознак, прогнозування.

Постановка проблеми. Процес росту і розвитку картоплі та формування врожаю – це реалізація спадкової інформації у взаємодії з постійно мінливими факторами навколишнього середовища, за рахунок якого розвивається рослинний організм. В онтогенезі картоплі виявлено два важливих періоди, протягом яких визначається урожайність. Перший період включає час активного росту надземної фітомаси і формування листкової поверхні рослини, другий – транспортування речовин із надземної частини у бульби.

Для одержання високого господарського врожаю картоплі вирішальне значення мають такі показники першого періоду онтогенезу: швидкість формування асиміляційного апарату, розмір активної листкової поверхні, продуктивність листа,

тривалість їх функціонування та період оптимального розміру листкової поверхні. Для другого періоду важливими є показники відносної швидкості росту і розвитку бульб та раціональний розподіл синтезованих асимілятів. Серед цих факторів першочергове значення має швидкість утворення листкової поверхні оптимального розміру. Розмір асиміляційного листкового апарату та період його активної дії є прямим показником фотосинтетичної активності рослини.

Для визначення розміру листкової поверхні існує цілий ряд методів, в основу яких був покладений аналіз мінливості ознаки під впливом широкого різноманіття біологічних, кліматичних та географічних факторів.

З появою нових сортів картоплі виникає не-