

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОЗДОРОВЛЕННЯ КАРТОПЛІ

А.А. БОНДАРЧУК, кандидат сільськогосподарських наук;
Т.М. ОЛІЙНИК, кандидат сільськогосподарських наук
Інститут картоплярства УААН, смт Немішаєве, Київська обл.

Вступ

На думку багатьох вчених [1-5], вірусні хвороби відіграють основну роль у зниженні продуктивних якостей картоплі. Бульба здатна накопичувати і передавати вірусну інфекцію із репродукції в репродукцію. Поряд з цим вірусні хвороби мають високу інфекційність. Все це призводить до того, що багато сортів, а особливо не стійкі, вражені тими чи іншими вірусами повністю. В більшості випадків інфекція має комплексний характер, тобто рослина містить змішану інфекцію кількох вірусів. При цьому їх шкодочинність ще більше зростає, це призводить до суттєвих змін процесів росту і розвитку картоплі, зниження екологічної адаптації генотипів, зниження врожайності та в кінцевому результаті – до надмірного виродження [2]. Тому подовжити строк збереження продуктивних якостей сорту можна завдяки створенню та впровадженню у виробництво оздоровленого садивного матеріалу. Враховуючи те, що матеріал картоплі тривалий час репродукується в польових умовах без застосування засобів захисту від переносників інфекції, ймовірність його інфікування надзвичайно висока, тому метою наших досліджень було підвищення ефективності оздоровлення насінневого матеріалу картоплі з використанням різних методів.

Об'єкти та методи дослідження

В дослідження з оздоровлення насінневого матеріалу картоплі були залучені 3 сорти картоплі селекції Інституту картоплярства: Повінь, Левада та Билина. Лабораторні дослідження проводили згідно з прийнятими методиками [3, 4], статистичний аналіз - Microsoft Excel. Контроль за наявністю вірусів у рослинах проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА).

Термотерапію бульб проводили при температурі 37-38⁰С, проте тривалість прогрівання для кожного сорту була різною. Період прогрівання у сортів Левада та Повінь становив 3 тижні, у сорту Билина - 5 тижнів. Тривалість прогрівання бульб залежала від швидкості пробудження вічок.

Виділення меристем проводили асептично із апекса паростків конуса наростання з одним або двома листовими примордіями. Меристему виділяли у ламінар-боксі HF45 під бінокляром SZM 4512 з 30-разовим збільшенням та масштабною сіткою. Кількість виділених меристем для кожного варіанту становила 50 штук. Культивування меристем проводили в кліматичній кімнаті при температурі +24-25⁰С, відносній вологості 70-80%, 16-годинному фотоперіоді та інтенсивності освітлення 5-6 клк. Хіміотерапію застосовували з 2-го пасажу культивування меристем. В якості антивірусних сполук досліджували ефективність дії аміксіну, ацикловіру та РНК-ази. Препарати додавали стерильно до верхнього шару основного живильного середовища: аміксин (0,1%); ацикловір (0,01%) та РНК-аза. В процесі культивування спостерігали за приживленням меристем, регенерацією та ефективністю оздоровлення.

Результати та обговорення

Робота з оздоровлення сортів картоплі в Інституті картоплярства здійснюється в лабораторних умовах протягом року, незалежно від вегетації чи періоду спокою рослин.

Першим етапом наших досліджень був добір кращих клонів у розсаднику випробування клонів насінницьких посівів 2007 р. Тричі проведені фенологічні спостереження та імуноферментний аналіз (ІФА) на наявність Х, S, М та У-вірусів картоплі (табл. 1).

Таблиця 1

Імуноферментний аналіз польових рослин, відібраних методом клонового добору, 2007 р.

Сорт	Кількість тестованих клонів, шт.	Результати діагностики					
		візуальні	імунологічні*				
			кількість клонів з прихованою інфекцією, шт.	X	S	M	Y
Повінь	20	-	20	-	-	-+	-
Левада	23	-	5	-	±	-+	-
		-	18	-	-	-+	-
Билина	20	-	11	-	++	-+	-
		-	9	-	+	-	-

Примітка: * - - відсутність вірусу; _+ - сліди вірусної інфекції; ± - слабка реакція; + - середня реакція; ++ - сильна реакція

Згідно з даними ІФА, відібрані клони вражені M, S-вірусами, що не дозволило застосувати клоновий добір як метод отримання безвірусного садивного матеріалу картоплі. Для оздоровлення взяті клони, які мали сліди (_+) вірусної інфекції.

При оздоровленні сортів застосовували методи культури меристеми в поєднанні з термо- та хіміотерапією.

Досліджувані сорти по-різному реагували на методи оздоровлення, також по-різному відбувалися морфогенез та регенерація рослин. Під час досліджень встановили, що антивірусні препарати при хіміотерапії мають стимулюючу дію як на морфогенез, так і на регенерацію рослин. Виявлені також і морфологічні відмінності. Так, у сорту Повінь меристеми на середовищі з РНК-азою мали антоціанове забарвлення, а на середовищі з ацикловіром - поодинокі антоціанове та жовте. На середовищі з РНК-азою та ацикловіром у сортів Билина та Левада верхівкові листки меристем були жовтого забарвлення, на середовищі з аміксином - білого. У меристем антоціанового та жовтого кольору морфогенез відбувався інтенсивніше, час до отримання регенерантів скорочувався на 1-2 пасажи (1-1,5 місяці культивування). У меристем білого кольору морфогенез затримувався на 1 місяць культивування, проте регенерація відбувалась інтенсивніше.

Так, при використанні культури меристем частота регенерації досягла 36%, термотерапії - 33,4, хіміотерапії - від 39,3 до 62,7, у залежності від антивірусних препаратів (табл. 2, рис. 1).

Найбільшу регенераційну здатність (47) мали рослини сорту Левада, та 25 регенерантів були одержані у сорту Билина при використанні аміксину. У сорту Повінь 30 регенерантів одержано на середовищі з РНК-азою.

Отже, найбільшу кількість регенерантів було отримано на середовищі з аміксином, що становить 94 лінії із 150 виділених меристем.

Найбільший оздоровчий ефект (табл. 2, рис. 2) досягнуто з використанням методу хіміотерапії. Щодо антивірусних препаратів: одержано 52,3% ліній, вільних від вірусної інфекції, з використанням ацикловіру; 46,9% - аміксину; 36,5% - РНК-ази.

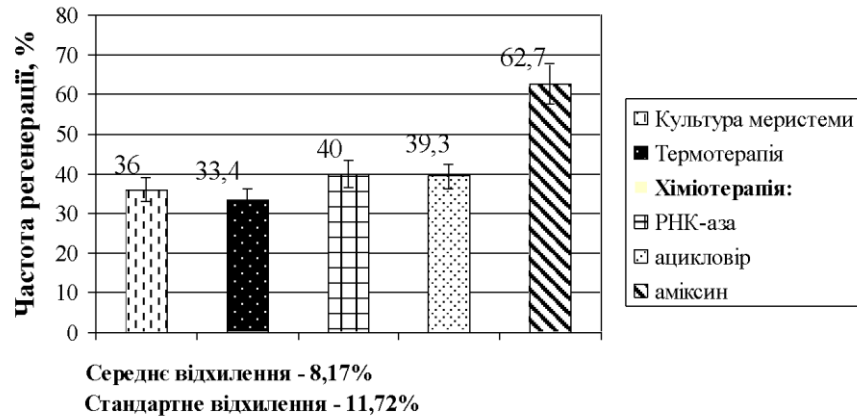


Рис. 1. Частота регенерації з меристем при різних методах оздоровлення

Таблиця 2

Ефективність регенерації та оздоровлення картоплі з використанням різних методів

Сорт (фактор А)	Методи оздоровлення (фактор В)					Середнє по фактору А
	Меристема	Термотерапія	Хіміотерапія			
			РНК-аза	Ацикловір	Аміксин	
	Регенерантів / безвірусних, шт.					
Повінь	10/ 3	15/ 8	30/ 20	19/ 13	22/ 13	19,2/11,4
Левада	29/ 8	20/ - *	20/ 2	30/ 18	47/ 22	29,2/12,5
Билина	15/ - *	15/ 7	10/ - *	10/ - *	25/ 9	15/8
Середнє по фактору В	18/ 3,7	16,7/ 5	20/ 7,3	19,7/ 10,3	31,3/ 14,7	
Частота регенерації (середнє), %	36,0	33,4	40,0	39,3	62,7	
Ефективність оздоровлення (середнє), %	20,6	29,9	36,5	52,3	46,9	

Примітка: - * лінії на дорощуванні. Оцінювання на наявність вірусної інфекції не проведено

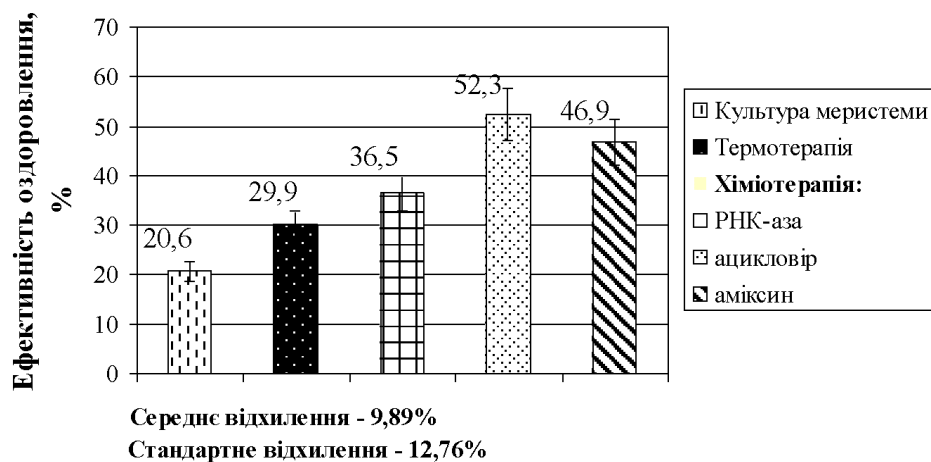


Рис. 2. Ефективність оздоровлення при використанні різних методів

Отже, в наших дослідженнях найбільш ефективним був метод хіміотерапії. Ефективність оздоровлення при хіміотерапії зросла від 15,9 до 31,7% порівняно з використанням методу культури меристеми та від 6,6 до 22,4% порівняно з методом термотерапії.

Ефективність оздоровлення залежала не тільки від методів оздоровлення, але й від сортових особливостей. Так, найвища ефективність оздоровлення досягнута у сорту Левада.

З отриманими нами оздоровленими лініями проведено мікророзмноження для наступного молекулярно-біологічного аналізу на предмет ідентичності сортів.

Висновки

1. Згідно з даними ІФА, не виявлено жодного клону, вільного від вірусів (М, S). Клоновий добір як метод оздоровлення є малоефективним.

2. Встановлено, що антивірусні сполуки (аміксин, ацикловір та РНК-аза) мають стимулюючу дію на морфогенез та регенерацію рослин. Найбільшу кількість регенерантів отримано на середовищі з аміксином (94 лінії зі 150 виділених меристем). У розрізі сортів найбільшу кількість регенованих та оздоровлених рослин отримали у сорту Левада.

3. Частота регенерації зросла при хіміотерапії від 39,3 до 62,7%; при термотерапії становила 33,4%; при культурі меристем – 36%.

4. Найбільш ефективним є метод хіміотерапії. Ефективність оздоровлення при хіміотерапії зросла від 15,9 до 31,7% порівняно з використанням методу культури меристеми та від 6,6 до 22,4% порівняно з методом термотерапії.

Список літератури

1. Оздоровлення вихідного матеріалу насінневої картоплі / Н.С. Кожушко, О.Г. Войтенко, В.І. Кришталь, Л.С. Торчицька // Вісник Сум. НАУ. – 2006. – Вип. 11, № 12. – С. 9-12.

2. Бондарчук А.А. Виродження картоплі та прийоми боротьби з ним. – Біла Церква: БДАУ, 2007. – 103 с.

3. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею. – К.: Аграр. наука, 2002. – 32 с.

4. Оптимизация приемов оздоровления, размножения и защиты семенного картофеля от вирусной инфекции: Метод. указания. – Минск: Бел. НИИЗР, 1996. – 16 с.

5. Слободян К.А., Олійник Т.М., Слободян С.О. Оздоровлення картоплі від вірусних хвороб з використанням методу хіміотерапії // Генетика рослин: Зб. наук. ст. V Міжнар. конф., 13-16 жовтня 2008 р. – Одеса: Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН, 2008. – С. 216-219.

Рекомендовано к печати д.б.н., проф. Митрофановой О.В.