

ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНЕЗУ ЗА УРАЖЕННЯ БУЛЬБ КАРТОПЛІ ПАТОТИПАМИ ЗБУДНИКА РАКУ *SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM* (SCHILBERSKY) PERCIVAL

А. Г. ЗЕЛЯ, Т. Й. МАКАР, Г. В. ЗЕЛЯ

Українська науково-дослідна станція карантину рослин ІЗР НААН
60321, вул. Наукова, 1, с. Бояни Чернівецького району Чернівецької області
e-mail: avrelia.zelya@gmail.com

Досліджено процес ураження різних за стійкістю до раку сортів картоплі зооспорами збудника хвороби. За ураження сортів картоплі: Поліська рожжева - сприйнятлива до всіх патотипів раку картоплі, Слов'янка - стійка до звичайного патотипу літніми зооспорами патотипів збудника хвороби проводили у лабораторних умовах на штучному інфекційному фоні. Визначення вмісту сумарних білків проводили за методом Bradford M. M. Визначення активності пероксидази та поліфенолоксидази визначали за методами Кабар А. М., Заїко Г. А., Лихолат Т. Ю. та Tsivinska M. V., Antonyuk V. O. та Stoika R. S. У результаті проведених досліджень з визначення патогенезу раку картоплі у системі рослина-живитель-патоген у сорту картоплі Поліська рожжева (сприйнятливий до всіх патотипів раку) на уражених паростках спостерігалось соруси з зооспорами патотипів збудника раку, у сорту картоплі Слов'янка (стійкий до звичайного патотипу) - соруси з зооспорами спостерігались лише за ураження агресивними патотипами. А за ураження звичайним патотипом збудника раку - соруси патогена відсутні, клітини епідермісу некротизовані. У випадку ураження сприйнятливих сортів картоплі патотипами збудника раку підвищувався вміст сумарних білків. Він коливався у межах 0,221- 0,262 мг/мл для сорту Поліська рожжева та 0,225-0,260 для сорту Слов'янка. Активність окисно-відновних ферментів пероксидази за ураження патотипами складала 0,046-0,053 мкмол за хвилину, поліфенолоксидази – 0,050-0,057.

Таким чином, у патогенезі рослина-живитель-патоген за ураження картоплі різними патотипами збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival виявлені відхилення у розвитку структурних білків епідермісу та різна активність окислювальних ферментів. За даними біохімічними показниками розроблено біохімічні способи ідентифікації патотипів раку картоплі, які існують в Україні, які запатентовано.

Ключові слова: картопля, рак, патогенез, білковий склад, окисно-відновні ферменти, активність, ідентифікація, патотипи

Вступ. В Україні, як і в інших країнах світу, картопля (*Solanum tuberosum* L.) належить до найбільш цінних і важливих сільськогосподарських та технічних культур різностороннього використання. У глобальній проблемі з забезпечення людства харчуванням картопля займає друге місце за пшеницею, тому її ще називають другим хлібом (Бондарчук та ін., 2021). За обсягами виробництва вона займає четверте місце серед основних продовольчих культур світу після рису, пшениці та кукурудзи (Potato news today, 2023). Отриманню високих та стабільних врожаїв перешкоджає значне поширення збудників хвороб та шкідників.

Серед хвороб картоплі найнебезпечнішою є рак, збудником якого є гриб *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival), який вражає рослини роду пасльонових (*Solanaceae*): паслін чорний, картопля, томати, фізаліс. В результаті гіпертрофічного ділення клітин утворюються м'ясисті нарости (пухлини). Втрати врожаю часто досягають 40 — 90%, а інколи він гине повністю (Мельник, 2003).

Збудник раку картоплі — гриб *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. належить до класу грибів *Phycomycetes*, підкласу *Chytriales*, роду *Synchytrium* (Boberg end Björklund, 2018; van de Vossenberg et al., 2022).

За даними Європейської та Середземноморської організації карантину і захисту рослин (ЄОКЗР), рак картоплі включено до переліку карантинних захворювань 38 країн світу (EPPO Global Database, 2022). На теперішній час в світі вже зареєстровано 40 патотипів збудника (Przetakiewicz, 2017, Van de Vossenberg, 2022).

В Україні вперше збудника раку було виявлено у 1938 році у м. Славути, Хмельницькій області (Мельник, 2003). До 2008 року відбувалось збільшення площ заражених ґрунтів до 8307,2 га. До 2020 року площа осередків раку картоплі зменшилась до 2337,96 га, завдяки впровадженню ефективних заходів контролю збудника хвороби (Зеля, 2020). Станом на 01.01.2024 р. рак картоплі розповсюджений у 5 областях України: Волинська, Львівська,

Закарпатська, Івано-Франківська та Чернівецька, 15 районах, 205 населених пунктах, 7794 присадибних ділянках на площі 2314,41 га (Огляд поширення карантинних організмів, 2024).

Найбільш висока щільність вогнищ раку та присутність його агресивних патотипів зустрічається у Карпатському регіоні України. Сприятливі в цьому регіоні природно-кліматичні умови та існуюча практика вирощування картоплі в монокультурі є однією з причин диференціації виду і формування нових патотипів. Це явище проявляється ще сильніше за довготривалого вирощування суміші різних за стійкістю до раку сортів картоплі (Зеля та ін., 2020). Схожу тенденцію відмічали у своїх роботах Przetakiewicz J., 2017 у Польщі, Çakir E., Demirci F., 2017 - у Турції, Boberg J., Björklund N., 2018 - у Швеції.

На даний час в Україні зареєстровано звичайний (Далемський) патотип збудника раку (D1), який розповсюджений у Чернівецькій області та 4 агресивних: 11 – Міжгірський, 13 – Рахівський, 18 – Ясінівський, поширені у Закарпатській області та 22 – Бистрецький, поширений у Івано-Франківській області (Зеля та ін., 2017).

Гриб *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival є внутрішньоклітинним облигатним паразитом і не має грибниці. Він уражує бульби, столони і надземні органи рослини. Дія патогену на рослину-живителя (картоплю) спричиняє значні патологічні зміни. В результаті гіпертрофічного ділення клітин утворюються м'ясисті нарости (пухлини). У циклі його розвитку є такі стадії: спочиваючі або зимові зооспорангії, розміром до 50 мкм в діаметрі, вкриті тришаровою оболонкою золотистого кольору, що є характерною ознакою збудника раку, літні зооспорангії забарвлені сірим кольором, мають одношарову тонку оболонку, а також добре виражену дрібну зернистість. У кожному зооспорангії міститься 200 — 300 ядер, які надалі перетворюються в однодугутикові зооспори, діаметром 2-2,5 мкм, безбарвні, яйцевидної чи грушовидної форми. За допомогою джгутика зооспори активно рухаються у вологому ґрунті. При потраплянні зооспор гриба на сприйнятливую тканину, вони розчиняють стінку клітини епідермісу рослини і в пору, що утворилась, переливають протопласт всередину клітини, де гриб росте і асимілює поживні речовини рослини-живителя. Утворення бульб відсутнє. Втрати врожаю часто досягають 40 — 90 %, а інколи він гине повністю (Мельник, 2003).

Відомо, що за пошкодження тканин і проникнення патогенів активуються певні захисні механізми, що забезпечують обмеження їх поширення (Тарчевський, 2002).

Для відбору стійких сортів до хвороб особливе значення надається вивченню протеому - сукупності всіх білків клітини, що експресуються за певних умов: температурний стрес, дія збудників хвороб та ін. (González-Fernández R., 2010). Є дані з вивчення механізму взаємодії рослина-живитель-патоген у роботах Fang X. et al., 2015. У картоплі було досліджено взаємодію рослина-живитель-патоген при зараженні грибом *Phytophthora infestans* (Ali, 2014; Resjo et al., 2017) і збудником раку (Szajko та ін., 2020). Польськими вченими шляхом двомірного електрофорезу досліджено білковий склад різних за стійкістю до звичайного патотипу (D1) раку сортів картоплі. При цьому їх кількість коливалась у межах 35-63 білкових компонентів, в залежності від сорту картоплі.

У результаті проведених досліджень Сологубом О. С. та інш. (2006) шляхом ізоелектрофокусування у поліакріламідному гелі було досліджено білкові спектри сприйнятливих до раку сортів картоплі, уражених різними патотипами збудника хвороби. Кількість білкових компонентів варіювало у межах 28-53 (Сологуб О.С. та ін., 2006).

Німецькими та польськими дослідниками (Röhrs et al. (2023) проведено кластерний аналіз генетичних варіацій європейських та американських ізолятів раку картоплі.

Значну роль у реакціях рослин на зараження фітопатогенами відіграють окислювально-відновні процеси та активність ферментів, які їх супроводжують і рахуються маркерами їх сенсibiliзації за дією різних патогенів. Буздугою І. М., Волковим Р. А. та Панчук І. І. (2017, 2018) досліджено активність аскорбат-пероксидази *Arabidopsis thaliana* в зв'язку з індукуванням захисних механізмів клітин рослин у відповідь на стрес.

Росихиною-Галичею Г. С. та ін. (2015) виявлено збільшення активності пероксидази у коренях та листках кукурудзи до 33 % та до 53 % за дією ґрунтових пестицидів та посухи.

Метою досліджень було виявлення відхилень у патогенезі рослина-живитель-патоген за ураження картоплі патотипами збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival та розробка біохімічних способів ідентифікації патотипів раку картоплі, які існують в Україні.

Матеріали та методи досліджень. Для визначення змін при патогенезі за зараження картоплі збудником раку визначали кількісний

білковий склад сортів картоплі Поліська рожева та Слов'янка. Для цього їх заражали літніми зооспорами відомих агресивних патотипів, що існують на даний час в Україні: 11 (Міжгірським), 13 (Рахівським), 18 (Ясінівським) та 22 (Бистрецьким) згідно «Методики оцінки та відбору селекційного матеріалу картоплі стійкого до раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc., гармонізована з вимогами ЄС» (Зеля Г. В. та ін., 2015).



Рис. 1. Сорт картоплі Поліська рожева, уражений літніми зооспорами збудника раку

Для цього на верхівку бульби картоплі навколо паросткової частини закріплювали паперове кільце за допомогою суміші парафіну та вазеліну (1:1). В кільце наливали дистильовану воду і проводили інокуляцію літніми зооспорами зі свіжих ракових наростів звичайного та 4-х агресивних патотипів збудника раку розміром 0,5 см³ (рис. 1).

Fig. 1. Potato variety Poliska rozheva, defeated summer zoosporangium wart causative agent

Інокульовані зразки поміщали у клімокамеру з підвищеною вологістю та температурою + 11 - +13° С на 21 добу до прояву симптомів захворювання (Зеля Г. В. та ін., 2015).

З отриманих літніх зооспорангіїв, що містяться у свіжих ракових наростах збудника раку виділяли загальні білки, визначали їх вміст методом Bradford M. M., (1976) за кількістю забарвленого білка 0,05 % розчином Coomassie brilliant blue G-250 за довжини хвилі 595 нм.

Зразки заморожували в рідкому азоті і розтирали у фарфоровій ступці з 5-ма об'ємами трис-фосфатного буферу (рН 7,8). Гомогенати віджимали крізь капронову сітку і центрифугували 10 хвилин при 8000 об/хв. При цьому білки виділялись в супернатанті, а залишки випадали в осад. Зразки фарбували 0,05% розчином Coomassie brilliant blue G-250.

На спектрофотометрі "Ломо-46" за довжини хвилі 595 нм визначали величину пропускання світла Р (в %) за формулою: $P = P_0 - P_k$, де Р – підсумковий результат проби в відсотках пропускання світла, або одиниця оптичної щільності, P_0 – відсоток пропускання світла дослідного зразка, P_k – відсоток пропускання світла лізуючого буфера. Визначали величину екстинкції: $E = -\lg P$. Концентрацію білків (мг/мл) визначали за формулою $C = E/k$, де Е – величина екстинкції, k – коефіцієнт пропускання

світла, С – концентрація білків (Bradford M. M., 1976).

Для визначення активності окисно-відновних ферментів з уражених паростків картоплі виділяли білки за методом Bradford M. M. (1976). Супернатант використовували для визначення активності окисно-відновних ферментів. Для цього 1мл білкового екстракту інкубували з 1 мл 0,1% розчином перекису водню та забарвлювали 0,1М розчином бензидину упродовж 5-10 хвилин до появи блакитного забарвлення. Кабар А. М., Заїко Г. А., Лихолат Т. Ю. (2015). Для визначення активності поліфенолоксидази 1мл білкового екстракту інкубували з 1 мл 0,1% розчином пірокатехину. Величину екстинкції визначали на спектрофотометрі «Ломо-46» за 420 нм. (Tsivinska, M. V., Antonyuk, V. O., & Stoika R.S. (2015). Активність оксидаз визначали за формулою: $A = EK/t$. де: А – активність ферменту (у мкмоль/хв.);

Е – величина екстинкції;

К – коефіцієнт пропускання світла за 595 нм та 420 нм;

t - час інкубації ферменту з субстратом та прояви забарвлення. Повторність дослідів – чотириразова. Статистичну обробку даних біохімічних досліджень проводили за методами Гойко О. В., Мохначова С. І. (2012).

Місце проведення досліджу – лабораторія карантинних шкідників та хвороб УкрНДСКР ІЗР НААН, кафедра загальної хімії та хімічного матеріалознавства Чернівецького національного університету ім. Ю. Федьковича.

Результати та їх обговорення. У результаті проведених досліджень з визначення патогенезу раку картоплі у системі рослина-живитель-патоген у сорту картоплі Поліська рожева (сприйнятливий до всіх патотипів раку) на

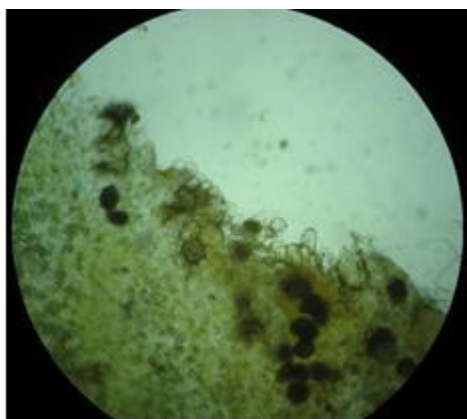


Рис. 2. Сорус на паростку сорту картоплі Поліська рожева, уражений літніми зооспорами збудника раку (120^x)

Fig.2. Sorus on potato sprout Polish pink, defeated by summer zoosporangium of wart causative agent (120^x)

Згідно з літературними джерелами, (Тарчевский, 2002; Mauger, 2006) відомо, що до захисних реакцій рослин у разі патогенезу, відносять активацію ферментів, які беруть участь в модифікації клітинної стінки рослин – пероксидази і поліфенолоксидази; у процесі окислення фенольних сполук з утворенням лігніну і суберину та зв'язування із структурними білками клітинної стінки відбувається її зміцнення. Нами було виявлено потовщення клітинних стінок епідермісу паростка та їх некротизація у сорту картоплі Слов'янка. Рослинні клітини стали своєрідним бар'єром, який не дозволяв зооспорам збудника проникнути у здорову епідермальну клітину рослини-живителя (рис. 3).

У результаті визначення вмісту загальних білків спектрофотометричним методом за кількістю забарвленого білка 0,05 % розчином Coomassie brilliant blue G-250 встановлено, що за ураження сорту картоплі Поліська рожева звичайним патотипом вміст білка становив 0,221 мг/мл; 11-м (Міжгірським) агресивним патотипом – 0,246 мг/мл; 13-м (Рахівським) - 0,229 мг/мл; 18-м (Ясінівським) – 0,262 мг/мл; 22-м (Бистрецьким) – 0,235 мг/мл. У неуразеного сорту Поліська рожева (контроль)

уражених паростках спостерігалось соруси з зооспорами збудника раку (рис. 2). У сорту картоплі Слов'янка соруси з зооспорами також спостерігались в епідермальних клітинах паростка за ураження агресивними патотипами збудника хвороби. За ураження звичайним патотипом збудника раку виявлені відхилення: соруси патогена були відсутні, клітини епідермісу некротизовані (рис. 3).

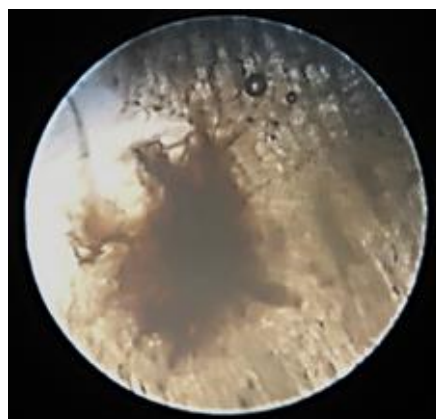


Рис. 3. Некротизовані клітини епідермісу паростка сорту картоплі Слов'янка, неуразена літніми зооспорами збудника раку (120^x)

Fig.3. Necrotized cells of the epidermis of the sprout of potato Slovyanka, no defeated by summer zoosporangium of wart causative agent (120x)

вміст білка складав 0,206 мг/мл (табл. 1, рис. 4.). Після зараження агресивними патотипами сорту картоплі Слов'янка вміст білка коливався у межах 0,225-0,260 мг/мл. Після зараження даного сорту звичайним патотипом збудника хвороби вміст становив 0,204 мг/мл.

За використання спектрофотометричного методу визначення вмісту білків після зараження зооспорами різних патотипів збудника раку проведена диференціація та ідентифікація існуючих патотипів збудника раку в Україні (патент України № 127478, 2018).

Після зараження сприйнятливого сорту картоплі Поліська рожева літніми зооспорами різних патотипів збудника раку та визначення активності пероксидази встановлено, що за ураження звичайним патотипом збудника раку активність ферменту підвищувалась до 47,1 % і становила 0,051 мкмол/хв. За ураження 11 (Міжгірським) агресивним патотипом активність ферменту підвищувалась на 43,7 % і сягала 0,048 мкмол/хв.

У результаті ураження 13 (Рахівським) активність підвищувалась на 37,5 % і становила 0,042 мкмол/хв. За ураження 18 (Ясінівським) агресивним патотипом відмічено максимальне підвищення активності ферменту на 49,1 %.

Воно сягало 0,053 мкмол/ хв. За ураження картоплі 22 (Бистрецьким) патотипом збудника

раку спостерігалось підвищення активності на 41,3 % і становило 0,048 мкмол/хв.

Таблиця 1.

Вміст загальних білків патотипів раку картоплі (мг/мл)

Table 1.

Content of common proteins of pathotypes of potato wart (mg/ml)

№ п/п	Патотипи	Вміст загальних білків, (мг/мл, (M±m))	
		Поліська рожева	Слов'янка
1.	Д1 (звичайний)	0,221±0,003	0,204±0,001
2.	11 (Міжгірський)	0,246±0,002	0,240±0,002
3.	13 (Рахівський)	0,229±0,005	0,225±0,003
4.	18 (Ясінівський)	0,262±0,003	0,260±0,002
5.	22 (Бистрецький)	0,235±0,003	0,237±0,004
6.	Контроль	0,206±0,002	0,201±0,003

$HP \leq 0,06$
 $0,06$
 $0,12$

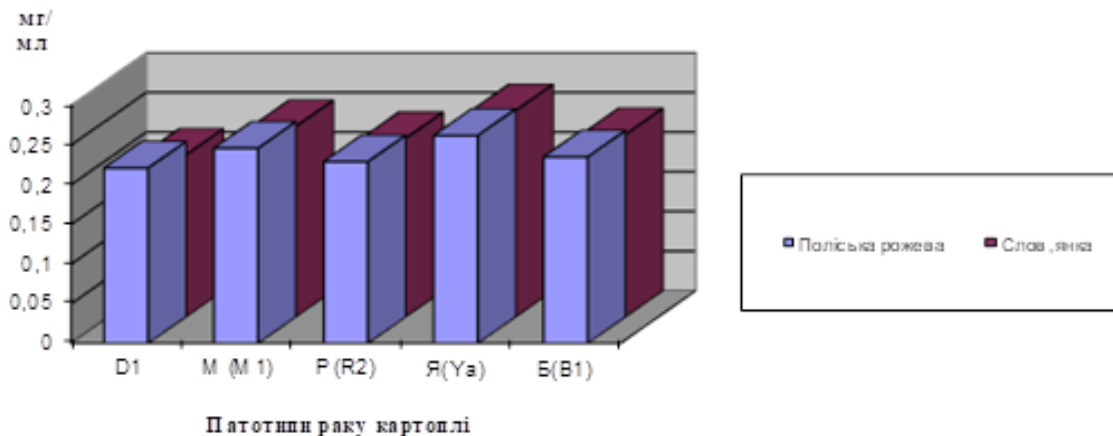


Рис. 4. Вміст загальних білків патотипів раку картоплі (мг/мл)

Fig. 4. Content of common proteins in potato wart (mg/ml)

У неуразеного контролю активність пероксидази становила 0,027 мкмол/мл (табл. 2).

Активність поліфенолоксидази за ураження картоплі звичайним патотипом підвищувалась на 29,6 % і сягала 0,054 мкмол/ хв. За ураження 11 (Міжгірським) агресивним патотипом - на 26,9% і становила 0,052 мкмол/хв. У результаті ураження картоплі 13 (Рахівським) патотипом активність ферменту підвищувалась на 24,0 % і сягала 0,050 мкмол/ хв. Найвища активність поліфенолоксидази відмічено за ураження картоплі 18 (Ясінівським) агресивним патотипом. Активність підвищувалась на 33,3 % і становила 0,057 мкмол/хв. За ураження 22 (Бистрецьким) патотипом активність виросла на 28,3 % і сягала 0,053 мкмол/хв. У неуразеного

контролю активність поліфенолоксидази становила 0,038 мкмол/хв. (табл. 2., рис. 5).

Січкарь С. В. та Коробковою К. С. (2011) було встановлено зміну активності окиснювальних ферментів пероксидази, каталази та поліфенолоксидази під час інфікування калюсної культури клітин цукрового буряку фітопатогенним молікутом *Acholeplasma laidlawii* var. *Granulum* 118. Максимальні показники активності зафіксовані через 3 год після інфікування відносно контролю і становили: для пероксидази 49 %, для каталази 38 % і для поліфенолоксидази 45 %. Зміна активності компонентів антиоксидантного захисту клітин калюсів була пов'язана з індукуванням захисних механізмів рослин у відповідь на проникнення патогена.

За даним біохімічним показником визначена існують в Україні і проведена ідентифікація агресивність патотипів раку картоплі, які (патент України № 138191, 2019).

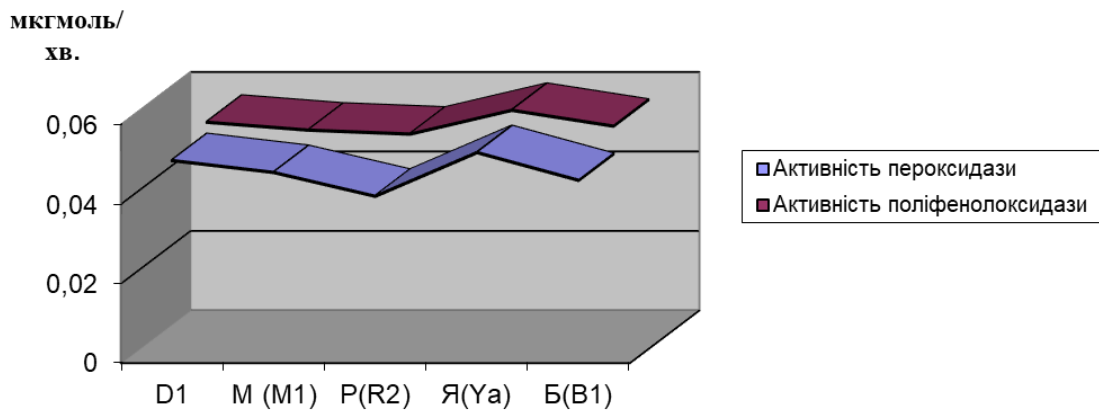
Таблиця 2.

Активність окисно-відновних ферментів патотипів раку картоплі (мкМ/хв)

Table 2.

Activity of oxidation-reduction ferments of wart pathotypes (mkM/min)

Патотипи	Пероксидаза		Поліфенолоксидаза	
	Активність пероксидази, (мкМ/хв,)	Відсоток підвищення активності по відношенню до контролю	Активність поліфенол оксидази, (мкМ/хв,)	Відсоток підвищення активност по відношенню до контролю
Д1(звичайний)	0,051±0,003	47,1	0,054±0,004	29,6
11(Міжгірський)	0,048±0,003	43,7	0,052±0,003	26,9
13 (Рахівський)	0,042±0,005	35,7	0,050±0,006	24,0
18 (Ясінівський)	0,053±0,003	49,1	0,057±0,004	33,3
22 (Бистрецький)	0,046±0,003	41,3	0,053±0,003	28,3
Контроль	0,027±0,004		0,038±0,006	
	<i>НІР ≤ 0,05</i>	<i>0,02</i>	<i>0,02</i>	



Патотипи раку картоплі

Рис. 5. Активність пероксидази та поліфенолоксидази патотипів раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival

Fig. 5. Peroxidase and polyphenoloxidase activity of pathotypes of potato wart *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival

Висновки. За ураження картоплі патотипами збудника раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival у патогенезі рослина-живитель-патоген виявлено відхилення у розвитку структурних білків епідермісу. Спостерігалось потовщення клітинних стінок епідермісу паростка та їх некротизація, що стало своєрідним бар'єром для проникнення зооспор збудника хвороби.

Проведені дослідження з визначення вмісту сумарних білків патотипів раку картоплі

Synchytrium endobioticum (Schilbersky) Percival показали відмінності їх кількісного складу після ураження патогеном.

Також виявлено різну активність окислювальних ферментів: пероксидази та поліфенолоксидази за ураження картоплі патотипами збудника хвороби. За даними біохімічними показниками розроблено та запатентовано біохімічні способи ідентифікації патотипів раку картоплі, які існують в Україні.

Список літератури:

1. Бондарчук А. А., Колтунов В. А., Олійник Т. М., Бородай В. В., Захарчук Н. А., Вишнеvsька О. В., & Фурдига М. М. (2021). *Картоплярство: методи оцінки якості*. Вінниця. Нілан-ЛТД.
2. Буздуга, І. М., Волков, Р. А., & Панчук, І. І. (2017). Вплив температури вирощування та сахарози на активність аскорбат-пероксидази у *Arabidopsis thaliana* в умовах теплового стресу. *Наук. Зап. Тернопільського пед. інституту. Сер. Біологія*, 4(71), 59-64. http://catalog.library.tnpu.edu.ua/naukovi_zapusku/biolog/2017/Biol_4_17.pdf
3. Буздуга, І. М., Волков, Р. А., & Панчук, І. І. (2018). Метаболічна компенсація у мутантів *Arabidopsis thaliana* із втраченою активністю каталази. *Цитологія і генетика*, 52 (1), 41-51. <https://www.doi.org/10.3103/S0095452718010036>
4. Гойко О. В., Мохначов С. І. (2012). Аналіз сучасного програмного забезпечення для статистичного оброблення й аналізу біомедичних досліджень. *Медична інформатика та інженерія*, 4, 49–52. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mii_2012_4_11
5. Зея, А. Г., Гунчак, В. М., Мельник, А. Т., Андрійчук, Т. О., Попеску Г. С., & Задорський Е. В. (2020). Фітосанітарний стан вогнищ раку картоплі *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival в Карпатському регіоні України. *Карантин і захист рослин*, 4–6(261), 9–15. <https://doi.org/10.36495/2312-0614/2020/4-6.9-15>
6. Зея Г. В., Олійник Т. М., Зея А. Г., Гунчак В. М., & Пилипенко Л. А.. (2015). *Методика оцінки та відбору селекційного матеріалу картоплі стійкого до раку Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc., гармонізована з вимогами ЄС*. Прут.
7. Зея, А. Г., Гунчак, В. М., Зея, Г. В., Янсе, Л. А., & Кушнір, О. В. (2019). *Спосіб ідентифікації патотипів збудника раку картоплі Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc. аналізом окисно-відновного ферменту пероксидази* (Патент України на корисну модель № 138191) . https://iprop-ua.com/inv/xs3tsjh2/#google_vignette - sposib identyfikatsii patotypiv zbudnyka raku kartopli Synchytrium endobioticum (Schilb.) Perc. analizom okysno-vidnovnoho fermentu peroksydazy.
8. Кабар А. М., Заїко Г. А., Лихолат Т. Ю. (2015). *Спецпрактикум з фізіології та біохімії рослин*. Ліра.
9. Мельник П. О. (2003). *Етіологія раку картоплі, біоекологічне обґрунтування заходів його профілактики та обмеження розвитку*. Прут.
10. Огляд поширення карантинних організмів в Україні станом на 01.01.2024р. URL: http://www.consumer.gov.ua/ContentPages/Oglyad_Poshirennya_Karantinnikh_Organizmiv_V_Ukraini/24
11. Росихина-Галича, Г. С., Лихолат, Ю. В., Серга, О. В., Григорюк, І. П. (2015). Активність ферментів каталази і пероксидази в листках й коренях проростків генотипів кукурудзи за дії ґрунтових гербіцидів та посухи. *Наукові доповіді НУБіП*, https://nd.nubip.edu.ua/2015_6/7.pdf
12. Січкарь С. В. & Коробкова К. С. (2011). Активність окислювальних ферментів рослинних клітин за умов експериментального мікоплазму. *Мікробіологічний журнал*, (73)32, 38-43.
13. Сологуб, О. С., Зея, А. Г., Мельник, П. О. Костишин, С. С. (2006). Біохімічна ідентифікація патотипів раку картоплі. *Український біохімічний журнал*, 78 (6), 99-104.
14. Ali, A., Alexandersson, E., Sandin, M., Resjö, S., Lenman, M., Hedley, P., Levander, F., & Andreasson E. (2014). Quantitative proteomics and transcriptomics of potato in response to *Phytophthora infestans* in compatible and incompatible interactions. *BMC Genom* 15:497. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-497>
15. Baayen, R. P., Cochius, G., Hendriks, H., Meffert, J. P., Bakker, J., Bekker, M., Van den Boogert, P.H.J.F., Stachewicz, H., & Van Leeuwen, G.C.M. (2006). History of potato wart disease in Europe—a proposal for harmonisation in defining pathotypes. *European Journal Plant Pathology*, 116, 21–31. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9039-y>
16. Boberg J., & Björklund N. *Synchytrium endobioticum* – pathotypes, resistance of *Solanum tuberosum* and management. *Report by Unit for Risk Assessment of Plant Pests at the Swedish University of Agricultural Sciences*. URL: https://www.slu.se/globalassets/ew/org/centrb/riskv/pub/rapport-synchytrium-endobioticum_21sept2018.pdf
17. Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.*, 72(1- 2), 248–254.
18. Çakir, E., & Demirci F. (2017). A new pathotype of *Synchytrium endobioticum* in Turkey: Pathotype 2. *Bitki koruma bulteni*, 57(4), 415–422. <https://doi.org/10.16955/bitkorb.34044.1>
19. EPPO (2022). EPPO Global Database (available online). URL: <https://gd.eppo.int>
20. EPPO Standard PM 7/28/1 *Synchytrium endobioticum*. (2004). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 34(2), 213–218.
21. EPPO Standard PM 7/28/2 *Synchytrium endobioticum*. (2017). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 47(3), 420–440.
22. Fang, X., Chen, J., Dai, L., Ma, H., Zhang, H., Yan, J., Wang, F., & Chengqi, Y. (2015) Proteomic dissection of plant responses to various pathogens. *J. Proteomics*, 15, 1525–1543. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400384>
23. Fiers, M., Chatot, C., Edel-Hermann, V., & Le Hingrat Y. (2012). Potato soil-borne diseases. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 93–132. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0035-z>
24. Ghoghoberidze, S., Sikharulidze, Z., Tsetskhladze, Ts., Sikharulidze, K., Gargiladze, L., & Papunidze V. (2020). Occurrence of the Pathotype 38 of *Synchytrium Endobioticum* in Khulo Municipality of Georgia. *Bulletin of the Georgian national academy of science*, 14(1), 114-119.
25. González-Fernández, R, Prats, E, & Jorrín-Novo, J.V. (2010). Proteomics of plant pathogenic fungi. *Journal*

- of *Biomedicine and Biotechnology*, <https://doi.org/10.1155/2010/932527> (Art. ID 932527)
26. Mayer A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 67, 2318–2331. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.006>
 27. Potato news today. (2023). <https://www.potatonewstoday.com/2023/01/21/global-potato-statistics-latest-fao-data-published>
 28. Przetakiewicz J. (2015). First report of new pathotype 39 (P1) of *Synchytrium endobioticum* causing potato wart disease in Poland. *Plant Disease*, 99 (2), 285.2. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-14-0636-PDN>
 29. Przetakiewicz, J. & Plich, J. (2017). Assessment of the resistance to potato wart disease and pathotype identification *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc. in Poland. *Plant Breeding and Seed Science*, 78, 37-43. <https://doi.org/10.1515/plass-2017-00019>
 30. Resjö, S., Brus, M., Ali, A., Meijer, HJG, Sandin, M., Govers, F., Levander, F., Grenville-Briggs, L., Andreasson, E. (2017). Proteomic analysis of *Phytophthora infestans* reveals the importance of cell wall proteins in pathogenicity. *Mol Cell Proteom*, 16, 1958–1971. <https://doi.org/10.1074/mcp.M116.065656>
 31. Röhrs, I., Linde, M., Przetakiewicz, J., Zelya, A., Zelya, G., Pucher, A., Tlapák, H., & Debener, T. (2023). Potato Wart Isolates from Europe and North America Form Distinct Clusters of Genetic Variation. *Life*, 13, 1883. Basel, Switzerland. <https://doi.org/10.3390/life13091883>
 32. Szajko, K., Plich, J., Przetakiewicz, J., Soltis-Kalyna, D., & Marczewsky W. (2020). Comparative proteomic analysis of resistant and susceptible potato cultivars during *Synchytrium endobioticum* infestation. *Planta*, 251:4. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03306-z>
 33. Tsvinska, M. V., Antonyuk, V. O., & Stoika R.S. (2015). Isolation and properties of polyphenol oxidase from basidiocarps of *Lactarius pergamenus* Fr. (fr.) fungi. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 87(2), 56-65. <http://dx.doi.org/10.15407/ubj87.02.056>
 34. Van de Vossen, B. T. L. H., Prodhomme, C., Vossen, J. H., & Van der Lee, T. A. (2022). *Synchytrium endobioticum*, the potato wart disease pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 23(4). 461-474. <https://doi.org/10.1111/mpp.13183>
- References:**
1. Bondarchuk, A. A., Koltunov, V. A., Oliinyk, T. M., Boroday V. V., Zacharciuc, N. A., Vichnevskaya O. V., Furdiga M. M. (2021). *Potato study; methods of quality evaluation*. [Kartopliarstvo: metody otsinky yakosti]. Nilan – LTD.
 2. Buzduha, I. M., Volkov R. A. & Panchuk I. I. (2017). Effect of germination temperature and sucrose on ascorbate peroxidase activator in *Arabidopsis thaliana* under conditions of heat stress. [Vplyv temperatury vyroshchuvannya ta sakharozy na aktyvnist askorbat-peroksydazy u *Arabidopsis thaliana* v umovakh teplovoho stresu]. *Nauk. Zap. Ternopilskoho ped. institutu. Ser. Biologiya*. 4(71), 59-64.
 3. Buzduha, I. M., Volkov R. A. & Panchuk I. I. (2018). Metabolic compensation in *Arabidopsis thaliana* mutants with lost catalase activity. [Metabolichna kompensatsiia u mutantiv *Arabidopsis thaliana* iz vtrachenoiu aktyvnistiu katalazy]. *Tsitologiya i henetyka*, 52(1), 41-51.
 4. Hoiko O. V. & Mohnaciov S. I. (2012). Analysis of modern software for statistical processing and analysis of biomedical research. [Analiz suchasnoho prohramnoho zabezpechennia dlia statystychnoho obroblennia y analizu biomedychnykh doslidzhen]. *Medychna informatyka ta inzheneriia*, 4, 49–52.
 5. Zelya, A., Gunchak, V., Melnyk, A., Andriiciuk T., Popesku G. & Zadorsky E. (2020). The phytosanitary term of old sources potato wart *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. in Ukraine. [Fitosanitarnyi stan vohnyshch raku kartopli *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival v Karpatskomu rehioni Ukrainy]. *Karantin i zahyst Roslyn*, 4–6 (261), 9–15. <https://doi.org/1036495/2312-0614/2020/4-6.9-15>
 6. Zelya, G. V., Gunchak, V. M., Zelya, A. H. & Pylypenko L. A. (2015). *Methods for evaluation and selection of breeding material for potatoes resistant to wart *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc., harmonized with EU requirements*. [Metodyka otsinky ta vidboru selektsiinoho materialu kartopli stiikoho do raku *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. harmonizovana z vymohamy YeS]. Misto.
 7. Zelya, A. G., Gunchak, V. M., Zelya, G. V., Janse, L. A. & Kuchnir, O. V. Method for identifying pathotypes of potato wart *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. analysis of oxidation enzyme peroxidase. (Patent of Ukraine № 138191) . https://iprop-ua.com/inv/xs3tsjh2/#google_vignette - sposib identyfikatsii patotypiv zbudnyka raku kartopli *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. analizom okysno-vidnovnoho fermentu peroksydazy.
 8. Kabar, A. M., Zaiko, G. A. & Liholat, T. Yu. (2015). *Special practicum for plant's physiology and biochemistry*. [Spetspraktikum z fiziologii ta biokhimii Roslyn]. Lira.
 9. Melnyk, P. O. (2003). *Potato wart etiology, bioecological justification of measures, its prevention and restriction of development. Etiologiya raku kartopli, bioekologichne obhruntuvannya zakhodiv yoho profilaktyky ta obmezhenia rozvytku*. Prut.
 10. Review of quarantine pests spread in Ukraine on 01.01.2024. [Ohliad poshyrennia karantynnykh orhanizmiv v Ukraini stanom na 01.01.2024r]. URL: http://www.consumer.gov.ua/ContentPages/Oglyad_Poshirennya_Karantynnykh_Organizmiv_V_Ukraini/224
 11. Rossykhyna-Halycha, H. S., Lykholat, Yu. V., Serha, O. V., & Hryhoriuk, I. P. (2015). Activity of catalase and peroxidase enzymes in leaves and roots of seedlings of maize genotypes under the action of soil herbicides and drought. [Aktyvnist fermentiv katalazy i peroksydazy v lystkakh y koreniakh prorostkiv henotypiv kukurudzy za dii hruntovykh herbitsydiv ta posukhy]. *Naukovi dopovidi NUBiP*. 2015. https://nd.nubip.edu.ua/2015_6/7.pdf
 12. Sichkar, S. V. & Korobkova K. S. (2011). Activity of oxidative enzymes of plant cells under conditions of experimental mycoplasmosis/. Aktyvnist oksliuvalnykh fermentiv roslynnykh klityn za umov

- eksperymentalnoho mikoplazmozu. *Mikrobiolohichniy zhurnal*. 73(32).
13. Solohub, O. S., Zelya, A. H., Melnyk, P. O. & Kostyshyn S. S. (2006). Biochemical identification of potato cancer pathotypes *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival. [Biokhimichna identyfikatsiia patotypiv raku kartopli *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival]. *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal*, 78 (6), 99-104.
 14. Ali, A., Alexandersson, E., Sandin, M., Resjö, S., Lenman, M., Hedley, P., Levander, F., & Andreasson E. (2014). Quantitative proteomics and transcriptomics of potato in response to *Phytophthora infestans* in compatible and incompatible interactions. *BMC Genom*, 15:497. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-497>
 15. Baayen, R. P., Cochius, G., Hendriks, H., Meffert, J. P., Bakker, J., Bekker, M., Van den Boogert, P.H.J.F., Stachewicz, H., & Van Leeuwen, G.C.M. (2006). History of potato wart disease in Europe—a proposal for harmonisation in defining pathotypes. *European Journal Plant Pathology*, 116, 21–31. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9039-y>
 16. Boberg J., & Björklund N. *Synchytrium endobioticum* – pathotypes, resistance of *Solanum tuberosum* and management. Report by Unit for Risk Assessment of Plant Pests at the Swedish University of Agricultural Sciences. URL: https://www.slu.se/globalassets/ew/org/centrb/riskv/pub/rapport-synchytrium-endobioticum_21sept2018.pdf
 17. Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.*, 72(1- 2), 248–254.
 18. Çakir, E., & Demirci F. (2017). A new pathotype of *Synchytrium endobioticum* in Turkey: Pathotype 2. *Bitki koruma bulteni*, 57(4), 415–422. <https://doi.org/10.16955/bitkorb.34044>.
 19. EPPO (2022). EPPO Global Database (available online). URL: <https://gd.eppo.int>
 20. EPPO Standard PM 7/28/1 *Synchytrium endobioticum*. (2004). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 34(2), 213–218.
 21. EPPO Standard PM 7/28/2 *Synchytrium endobioticum*. (2017). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 47(3), 420–440.
 22. Fang, X., Chen, J., Dai, L., Ma, H., Zhang, H., Yan, J., Wang, F., & Chengqi, Y. (2015) Proteomic dissection of plant responses to various pathogens. *Journal Proteomics*, 15, 1525–1543. <https://doi.org/10.1002/pmic.20140038>
 23. Fiers, M., Chatot, C., Edel-Hermann, V., & Le Hingrat Y. (2012). Potato soil-borne diseases. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 93–132. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0035-z>
 24. Ghogheridze, S., Sikharulidze, Z., Tsetskhladze, Ts., Sikharulidze, K., Gargiladze, L., & Papunidze V. (2020). Occurrence of the Pathotype 38 of *Synchytrium Endobioticum* in Khulo Municipality of Georgia. *Bulletin of the Georgian national academy of science*, 14(1), 114-119.
 25. González-Fernández, R, Prats, E, & Jorrín-Novo, J.V. (2010). Proteomics of plant pathogenic fungi. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, <https://doi.org/10.1155/2010/932527> (Art. ID 932527)
 26. Mayer, A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 67, 2318–2331. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.08.006>
 27. Potato news today. (2023). <https://www.potatonewstoday.com/2023/01/21/global-potato-statistics-latest-fao-data-published>
 28. Przetakiewicz, J. (2015). First report of new pathotype 39 (P1) of *Synchytrium endobioticum* causing potato wart disease in Poland. *Plant Disease*, 99 (2), 285.2. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-14-0636-PDN>
 29. Przetakiewicz, J. & Plich, J. (2017). Assessment of the resistance to potato wart disease and pathotype identification *Synchytrium endobioticum* (Schilb) Perc. in Poland. *Plant Breeding and Seed Science*, 78, 37-43. <https://doi.org/10.1515/plass-2017-00019>
 30. Resjö, S., Brus, M., Ali, A., Meijer, HJG, Sandin, M., Govers, F., Levander, F., Grenville-Briggs, L., Andreasson, E. (2017). Proteomic analysis of *Phytophthora infestans* reveals the importance of cell wall proteins in pathogenicity. *Mol Cell Proteom*, 16, 1958–1971. <https://doi.org/10.1074/mcp.M116.065656>
 31. Röhrs, I., Linde, M., Przetakiewicz, J., Zelya, A., Zelya, G., Pucher, A., Tlapák, H., & Debener, T. (2023). Potato Wart Isolates from Europe and North America Form Distinct Clusters of Genetic Variation. *Life*, 13,1883. Basel, Switzerland. <https://doi.org/10.3390/life13091883>
 32. Szajko, K., Plich, J., Przetakiewicz, J., Soltis-Kalyna, D., & Marczewsky W. (2020). Comparative proteomic analysis of resistant and susceptible potato cultivars during *Synchytrium endobioticum* infestation. *Planta*, 251. 4. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03306-z>
 33. Tsivinska, M. V., Antonyuk, V. O., & Stoika R.S. (2015). Isolation and properties of polyphenol oxidase from basidiocarps of *Lactarius pergamenus* Fr. (fr.) fungi. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 87(2), 56-65. doi: <http://dx.doi.org/10.15407/ubj87.02.056>
 34. Van de Vossenbergh, B. T. L. H., Prodhomme, C., Vossen, J. H., & Van der Lee, T. A. (2022). *Synchytrium endobioticum*, the potato wart disease pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 23(4). 461-474. <https://doi.org/10.1111/mpp.13183>

PECULIARITIES OF PATHOGENESIS DUE TO INFECTION OF POTATOES BY PATHOTYPES OF WART SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM (SCHILBERSKY) PERCIVAL

A. G. Zelya, T.Yo. Makar, G. V. Zelya

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

The process of infection of potato varieties with different resistance to wart by zoospores of the causative agent of the disease was studied. Experiments carried out in laboratory conditions in artificial infectious background for the damage of the Poliska rozheva potato variety (susceptible to all pathotypes of potato wart) and Slovyanka (resistant to the common pathotype and susceptible to all pathotypes of the causative agent of potato wart existing in Ukraine by summer zoospores of the pathotypes of the causative agent of the disease). Determination of the content of total proteins was carried out according to the Marion Bradford's method. Determination of peroxidase and polyphenoloxidase activity was determined according to the method of Kabar A. M., Zaiko G. A., Liholat T. Yu. et Tsivinska M. V., Antonyuk V. O., Stoika R.S. As a result of studies conducted to determine the pathogenesis of potato wart in the plant-host-pathogen system, in Poliska rozheva potato variety (susceptible to all wart pathotypes), soruses with zoospores of the wart pathogen observed on the affected sprouts, in potato variety Slovyanka, soruses with zoospores observed for lesions of aggressive pathotypes. When affected by the common pathotype of the causative agent of wart, soruses of the pathogen absent. Cells of the epidermis are necrotic. In the case of damage to susceptible potato varieties by pathotypes of the causative agent of wart, the content of total proteins increased. It varied between 0.221-0.262 mg/ml for the Poliska rozheva variety and 0.225-0.260 for the Slavyanka variety. The activity of peroxidase redox enzymes during affection by pathotypes was 0.046-0.053 $\mu\text{mol per minute}$, polyphenoloxidase – 0.050-0.057.

Thus, in the pathogenesis of the plant-host-pathogen for damage to potatoes by pathotypes of the potato wart pathogen Synchytrium endobioticum (Schilbersky) Percival, deviations in the development of structural proteins of the epidermis and different activity of oxidative enzymes were found. Based on these biochemical indicators, biochemical methods of identification of potato cancer pathotypes that exist in Ukraine have been developed and patented.

Key words: potato, wart, pathogenesis, protein composition, redox enzymes, activity, identification, pathotypes

Отримано редколегією 12.03.2024 р.

ORCID ID

Аврелія Зеля: <https://orcid.org/0000-0002-1470-7707>

Таїсія Макар: <https://orcid.org/0000-0001-5432-2759>

Георгій Зеля: <https://orcid.org/0000-0001-7040-1908>