

ПРОБЛЕМИ ОЗДОРОВЛЕННЯ КАРТОПЛІ МЕТОДАМИ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Демчук І.В., Зарицький М.М.

Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН,
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна
E-mail: demchuk-inga@rambler.ru

Наведено результати багаторічних досліджень з оздоровлення сортів картоплі методом культури меристем у поєднанні з хіміотерапією. Показано, що особливого значення в процесі оздоровлення і прискореного розмноження матеріалу, який є вихідним для відтворення еліти, набуває вірусологічний контроль. Висвітлено проблему збереження в оздоровленому меристемному матеріалі морфологічних та продуктивних ознак сортів. Підкреслюється необхідність ефективного добору сортополіпшувальних ліній для первинного насінництва картоплі.

Ключові слова: картопля, віруси, оздоровлення, первинне насінництво, культура меристем.

Якісний насінневий матеріал картоплі є одним з вагомих чинників реалізації генетичних можливостей культури. З явищем виродження картоплі, що посилюється з кожною бульбовою репродукцією, у Західній Європі зіткнулися ще у XVIII столітті, задовго до відкриття вірусів. У 60-ті роки минулого століття було встановлено, що однією з основних причин виродження сортів картоплі є ураження вірусними хворобами. Кількість описаних збудників вірусних хвороб рослин стрімко зростає. На сьогодні на картоплі описано понад 50 вірусів із 22 родів, біля 30 з них відіграють більшу чи меншу роль у світовому картоплярстві [1]. За даними співробітників Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, суттєвої шкоди картоплярству в Україні завдають Y, M, S, X-віруси картоплі. Крім того, у насадженнях виявляють A-вірус картоплі, вірус скручування листків картоплі, вірус аукуба мозаїки картоплі, а також збудник строкатої смугастості стебел картоплі (раттл вірус тютюну). Формуванню нових патологічних зв'язків сприяє широка інтродукція сортів іноземної селекції, послаблення їх стійкості впливом інших умов вирощування та місцевих штамів вірусів [2]. Втрати урожаю від вірусних хвороб у залежності від виду

вірусу, кліматичних умов вирощування, сортових особливостей культури та якості посадкового матеріалу можуть сягати 50-80 % [3].

Існує ряд шляхів підтримання високої продуктивності культури картоплі. Серед них – створення сортів, стійких до вірусних хвороб (методами традиційної селекції та генетичної інженерії), та здійснення негенетичного поліпшення існуючих сортів, тобто біотехнологічне оздоровлення в комплексі з захисними фітосанітарними заходами. Створення сортів, стійких до окремих вірусів, не вирішує проблеми, а одержання ідеального сорту, стійкого до всіх вірусних хвороб, теоретично і практично є нереальним. Досить швидко нові сорти втрачають свою стійкість через виникнення більш вірулентних штамів вірусів. Крім того, жоден сорт, навіть найстійкіший, не може існувати без ефективної системи його насінництва, яка включає всі необхідні профілактичні заходи контролю та захисту від інфекцій [4].

Одним з важливих шляхів одержання високоякісного садивного матеріалу картоплі лишається масштабне оздоровлення районованих та перспективних сортів методом культури меристем та прискорене розмноження вихідного безвірусного матеріалу. В той же час, як показує практика, використання оздоровленого насінневого матеріалу без його активного захисту призводить до повного перезараження.

Ефективному використанню можливостей біотехнологічних методів негенетичного поліпшення якості сортів заважає невірність багатьох проблемних питань безвірусного насінництва картоплі і суперечливість поглядів учених і практиків. До цих проблем відносять: високі ризики масового інфікування рослин *in vivo* внаслідок невиявленої інфекції у меристемному матеріалі, збереження ідентичності сорту, а також збереження в оздоровленому меристемному матеріалі врожайних властивостей на рівні генетичного потенціалу сорту [4-7].

Дані, отримані нами, і дані, отримані з наукових джерел, свідчать про вагомість та актуальність згаданих проблем. В Інституті сільськогосподарської мікробіології УААН дослідження з оздоровлення сортів картоплі методом культури меристем ведуться понад 30 років [8] у напрямі вдосконалення технології і окремих її етапів, вивчення впливу елементів технології на збереження ідентичності ознак оздоровлених регенерантів параметрам

вихідного сорту, збереження продуктивності отриманих мериклонів на рівні генетичного потенціалу сорту, на розробку і застосування системи контролю вірусологічного стану регенерантів на всіх етапах технології одержання оздоровленого вихідного матеріалу (рис. 1). Як видно з представленої схеми, процес оздоровлення є багатоетапним і включає попередню польову оцінку матеріалу сорту, що потребує оздоровлення, двофазну хіміотерапію з використанням природних та штучно синтезованих антивірусних речовин, ізолювання меристем та регенерацію експлантів з кількаразовим електронномікроскопічним тестуванням первинних регенерантів та мікроклонів з них, а також додаткове оцінювання відібраних безвірусних ліній на продуктивність та тотожність сортових ознак. Слід зазначити, що електронномікроскопічні тестування та жорстке бракування уражених рослин є невід'ємною частиною технологічного процесу. Спрощення, пришвидшення будь-яких етапів або помилки призводять до отримання неякісного матеріалу і провокують негативне ставлення до вихідного матеріалу, оздоровленого біотехнологічними методами.



Рис. 1. Схема оздоровлення сортів картоплі, яка застосовується в Інституті сільськогосподарської мікробіології УАН

Проблеми біотехнологів починаються з відбору матеріалу

сортів, що підлягають оздоровленню. Оскільки, на жаль, в Україні ще немає структури, подібної до російського Банку здорових сортів картоплі, ми не маємо змоги відбирати рослини для введення *in vitro* у зоні з найменшим інфекційним навантаженням. Звичайно рослини відбирають на насінницьких посівах культури, де, як показують багаторічні дослідження, ступінь ураження вірусними хворобами не відрізняється від ураженості насаджень товарної картоплі. Так, у 2008 році при аналізі імунологічними методами відібраного на оздоровлення матеріалу 5 сортів встановлено його 100 % ураженість вірусами мозаїчної групи. Електронномікроскопічний аналіз зелених пагонів 70 клонів 7 сортів картоплі у 2009 році виявив ступінь ураження відібраних рослин від 40 до 100 %. Тобто, в роботу надходять хворі рослини.

З часів Ж. Мореля вважається, що меристема – невелика ділянка конусу наростання розміром близько 100 мкм – є практично вільною від вірусів [7]. Дійсно, верхівки пагонів картоплі містять безвірусну зону, величина якої, за різними джерелами, варіює залежно від сорту і виду вірусу від 100 до 500 мкм. Є дані [9], що з апексів розміром 200 мкм 80 % були вільні від А-вірусу картоплі, 50 % – від вірусу скручування листків картоплі, 10 % – від ХВК. Найглибше проникав у меристему SBK. За іншими даними [10], 85-100 % регенерантів, одержаних з меристем розміром 150-200 мкм, були вільними від Y-вірусу картоплі, до 24 % – вільними від ХВК, але не було жодної рослини, вільної від вірусів М та S.

Проведені нами електронномікроскопічні дослідження ультратонких зрізів меристематичних тканин картоплі, враженої М-вірусом картоплі, показали, що цей вірус може локалізуватися у зоні 90 мкм. На фото (рис. 2, 3) показано включення МВК у клітинах меристем картоплі. М-вірус може утворювати включення різних форм та розмірів за типом паракристалів (рис. 3). В результаті проведених досліджень встановлено, що вірусні частки в клітинах меристем локалізуються як і в клітинах паренхіми листків. Накопичення значних вірусних мас свідчить про активний синтез вірусів у меристематичних тканинах.

У серійних зрізах меристем рослин, уражених вірусом S, вірусні включення виявляли в зоні 90-95 мкм. ХВК виявляли в зонах від 130-150 мкм до 200-250 мкм.

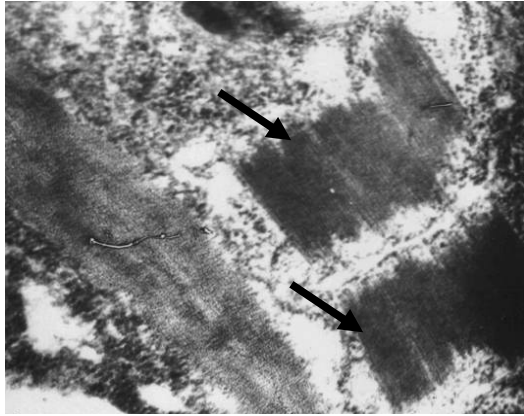


Рис. 2. Включення вірусу М (позначені стрілками) у меристемній клітині картоплі (x47000)

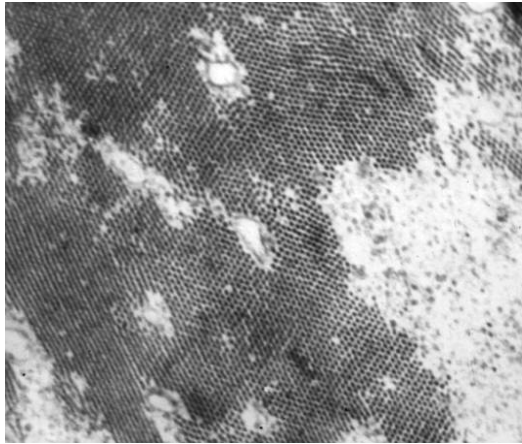


Рис. 3. Зріз через паракристал MBK (x62000)

Аналіз багаторічних даних дає підставу стверджувати, що тільки меристеми розміром до 100 мкм дають близько 50 % безвірусних регенерантів. Проте, слід зауважити, що експланти такого розміру дуже погано приживаються на поживних середовищах. Тому, як правило, в практичній роботі при оздоровленні сортів картоплі біотехнологічними методами використовують експланти більшого розміру – верхівкові та пазухові меристеми розміром 100-300 мкм із зелених або етиологованих пагонів [3, 8, 11]. Термін «меристема» в цьому випадку є умовним, оскільки в роботі

використовується гранично препарована брунька або апекс – меристематичний купол з одним або двома примордіями.

Отже, спроможність методу культури меристем у одержанні безвірусних рослин дещо перебільшується, тому особливого значення набуває вірусологічний контроль в процесі оздоровлення і прискореного розмноження матеріалу, який є вихідним для відтворення еліти. На прикладі даних електронномікроскопічного тестування первинних регенерантів 5 сортів (табл. 1) видно, що в рутинній роботі негативний результат, тобто відсутність вірусних часток у нативних препаратах з соку рослин, виявляється в середньому у 14 % отриманих регенерантів. При наступних тестуваннях частка клонових ліній, що є вільними від вірусів, ще зменшується, оскільки віруси могли бути присутніми і в первинних регенерантах у низьких концентраціях та не виявлятися під час аналізу. Впродовж клонування рослин-регенерантів концентрація вірусних часток зростає, що дає позитивний результат, тобто, такі мікроклони вибраковуються.

Таблиця 1. Ефективність оздоровлення за результатами електронномікроскопічного аналізу, 2009 р.

Сорти	Виділено експлантів	Отримано регенерантів		З них безвірусних	
		од.	%	од.	%
Карлик 04	82	56	68,3	10	17,9
Жиран	96	43	44,8	7	16,3
Дубравка	79	29	36,7	0	0
Тетерів	67	25	37,3	5	20,0
Поран	70	41	58,6	6	14,6
Всього:	394	194	49,2	28	14,4

Електронномікроскопічне та імунологічне тестування оздоровлених ліній проводиться впродовж усього періоду клонування мікроклонів *in vitro*, оскільки не завжди вдається виявити інфекцію в рік оздоровлення; за багаторічними даними простежується закономірність прояву вірусної інфекції в рослинах залежно від часу перебування ліній *in vitro* (табл. 2).

Як правило, інфіковані рослини *in vitro* візуально не відрізняються від здорових і добре ростуть як на поживних середовищах, так і у ґрунті. Але, на відміну від здорових, продуктивність хворих рослин при репродукуванні в ґрунті дуже

швидко знижується. Так, продуктивність інфікованої клонової лінії сорту Беллароза впродовж трьох років досліджень у порівнянні з вихідними неоздоровленими клонами, що слугували контролем, знижувалась від 139,8 % до 83,3 %.

Таблиця 2. Результати вірусологічного аналізу колекційних ліній сортів картоплі

Лінії	Рік введення <i>in vitro</i>	Результати тестування				
		2000	2002	2003	2004	2005
Фреско (Ф)	1988	–	–	+		
Гатчинська (10)	1982	–	–	+		
Зарево (60)	1984	–	–	+		
Слов'янка (174)	2000	–	+			
Поляна (199)	2001		–	+		
Поляна (200)	2001		–	+		
Багряна (33)	2001		–	+		
Санте (С-е)	1981	–	–	+	+	
Санте (19)	2000	–	–	–	+	
Санте (53)	2001		–	+		
Чарівниця (Ч)	2000	–	–	–	+	
Циганка (Ц)	2000	–	–	–	+	
Памир (П)	2001		–	–	+	
Дубравка (Д)	1999	–	–	–	+	
Леді Розетта (185)	2002		–	–	–	+

Примітка: «–» – не виявлено вірусів; «+» – виявлено вірусне ураження

Отже, ці дані як приклад та багаторічний досвід співробітників відділу вірусології Інституту доводять особливе значення ретельного вірусологічного контролю регенерантів під час оздоровлення. Помилки на етапі тестування регенерантів призводять до спалахів хвороб на ділянках первинного насінництва та до дискредитації методу біотехнологічного оздоровлення. Одна невиявлена інфікована пробіркова рослина під час мікроклонування та подальшого розмноження перетворюється у десятки тисяч уражених клонів на ділянках супер-супереліти. На нашу думку, саме цим можна пояснити розповсюдження М-вірусу картоплі, що спостерігається в останні роки у картоплярстві України та наших найближчих сусідів. Дослідженнями татарських вчених показано

[3], що основним джерелом інфікування насінницьких насаджень картоплі у відкритому ґрунті є внутрішнє ураження. Внутрішнім джерелом інфекції є сорти, які після проходження всіх етапів оздоровлення методом апікальної меристеми лишилися хворими. Показано, що за результатами перевірки методом ІФА та ПЛР з колекції *in vitro*, представленої 165 клоновими лініями 70 сортів, було вибракувано 85 ліній, інфікованих Y, M, X, S-вірусами картоплі та вірусом скручування листків картоплі. Після розроблення та впровадження у виробництво вдосконаленої технології отримання оздоровленої супереліти з низьким рівнем скритої інфекції урожайність картоплі у Республіці Татарстан зросла з 11 т/га у 2002 році до 23 т/га у 2008 [3]. Отже, дослідженнями вчених як Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, так і інших [3, 12], показано, що суттєвого значення набув шлях розповсюдження вірусів під час прискореного розмноження ураженого насінного матеріалу сортів картоплі.

Наступним питанням, що викликає неоднозначне ставлення вчених та практиків, є проблема збереження в оздоровленому меристемному матеріалі морфологічних та продуктивних ознак сортів [5, 7, 13, 14]. Вивченню цього питання в Інституті сільськогосподарської мікробіології УААН було приділено значну увагу [15]. Метою оздоровлення і клонального розмноження *in vitro* є отримання фізіологічно оновленого безвірусного матеріалу, що зберігає повну тотожність генотипу вихідних сортів. Як правило, в більшості випадків при оздоровленні регенерація відбувається шляхом прямого органогенезу, без дедиференціації клітин. Проте, може відбуватись утворення морфогенного калюсу з меристеми внаслідок її сильного поранення при виділенні або при деяких співвідношеннях фітогормонів в середовищі, або з інших причин (табл. 3, рис. 4).

Тобто, при роботі з культурою тканин при оздоровленні і мікроклональному розмноженні не виключені ситуації, які призводять до появи регенерантів, що мають змінений генотип, а це, в свою чергу, – до загрози біологічного забруднення сортів, що оздоровлювались. У діючих нормативних документах відсутні вимоги щодо контролю отриманих оздоровлених ліній на типовість і продуктивність [30, 31]. Тому метою наших досліджень було визначення розмаху внутрішньосортової мінливості клонових ліній картоплі при оздоровленні біотехнологічними методами

за морфологічними, біохімічними і продуктивними ознаками порівняно з вихідними материнськими рослинами, які підтримували добороом клонів, а також розробка методики оцінки отриманих клонових ліній.

Таблиця 3. Причини мінливості клонових ліній картоплі при оздоровленні сортів методами культури меристем

Причини мінливості регенерантів	Літературне джерело
Генотип вихідної рослини, ступінь її окультурювання	Хромова Л.М., 1984 [16]; Бутенко Р. Г., 1990 [17]; Бурень В.М., 1990 [18]; Кушнір Г.П., Сарнацька В.В, 2005 [11]
Гетерогенність вихідних експлантів	Яшина И.М., 1984 [19]; Хромова Л.М., 1984 [16]; Сидоров В.А., 1990 [20]
Спонтанна тканинна мінливість, химерність	Асеева Т.В., Яшина И.М., 1968 [21]; Яшина И.М., 1984 [19]; Тринклер Ю.Г., 1985 [22]; Меличенко Г.И., Ланева И. И., 1993 [23]; Кунах В.А., 2001 [24]; Фоменко Т.И. и др., 2003 [25]
Ефект поранення	Кунах В.А., 2001 [24]
Зникнення організуючої ролі тканин під час ізоляції та регенерації експланта	Кунах В.А., 2001 [24]; Хромова Л.М., 1984 [16]; Тринклер Ю.Г., 1985 [22]; Бурень В.М., 1990 [18]; Ежова Т.А., 2003 [26]
Умови культивування <i>in vitro</i> , в тому числі штучно створене співвідношення поживних речовин і екзогенних рістрегулюючих речовин	Бутенко Р.Г., 1990 [17]; Кунах В.А., 2001 [24]; Яшина И.М., 1984 [19]; Хромова Л.М., 1984 [16]; Сидоров В. А., 1990 [20]; Кучко А.А., Олійник Т. М., 1998 [27]; Марченко А.О., 1997 [28]; Ежова Т.А., 2003 [26]
Швидкість і тип регенерації експлантата	Хромова Л.М., 1984 [16]; Сидоров В. А., 1990 [20]; Кунах В.А., 2001 [24]; фото (рис. 4)
Стрес ініціації культури <i>in vitro</i>	Хромова Л.М., 1984 [16]; Кунах В.А., 2001 [24]
Спосіб мікроклонального розмноження (пазухові і адвентивні бруньки, непрямий морфогенез)	Меличенко Г.И., Ланева И.И., 1993 [23]
Тривалість культивування ліній <i>in vitro</i>	Шарафутдинова Г.Г. и др., 2001 [29]



Рис. 4. Пробірки з одночасно висадженими експлантатами сорту Аріель, які через п'ять місяців культивування in vitro перебувають на різних етапах морфогенезу

Комплексне оцінювання 38 оздоровлених ліній 7 сортів картоплі показало, що процес біотехнологічного оздоровлення істотно впливає на властивості отриманих ліній. Оздоровлені лінії значно відрізняються від вихідних материнських клонів за елементами структури урожаю (маса клонів, кількість і маса бульб), біохімічними показниками якості (вміст крохмалю, редукуючих цукрів та сирого протеїну), а також, у меншій мірі, за морфологічними ознаками рослин і бульб. Встановлено, що внутрішньосортова мінливість оздоровлених клонових ліній у перших трьох-чотирьох бульбових поколіннях є статистично достовірною. Причому, оздоровлені низькопродуктивні лінії формували урожай у межах 63-91 % урожайності вихідних материнських клонів, а високопродуктивні – 111-177 %. Нами було встановлено вплив оздоровлення на продуктивні властивості отриманих ліній – визначено частку фізіологічних змін, індукованих процесом оздоровлення, серед інших факторів, що впливають на формування урожаю рослин оздоровлених клонових ліній.

Відомо, що загальний план закономірного розвитку організму в онтогенезі обумовлюється спадковістю, тобто залежить

від генетичної програми розвитку і відтворюється з покоління в покоління. Разом з тим, конкретне втілення організму, що розвивається, у фенотипі, залежить не тільки від його спадкової інформації, але й від зовнішніх умов [32]. Вегетативне розмноження картоплі обумовлює її особливість, тобто модель росту і розвитку окремої рослини картоплі є складовою генетичної спадковості, фізіологічних змін під впливом факторів навколишнього середовища в ході формування та зберігання материнської бульби, а також фізіологічних змін у період вегетативного розвитку [33]. Для оздоровлених ліній всіх сортозразків модель росту і розвитку рослин лінії у першому бульбовому поколінні є складовою генетичної спадковості вихідного сорту, фізіологічних змін, індукованих процесом оздоровлення, та фізіологічних змін, обумовлених агрокліматичними умовами вегетаційного періоду. У наступних бульбових поколіннях в цю модель додається складова «фізіологічні зміни під впливом факторів навколишнього середовища в ході формування та зберігання материнської бульби». Результат росту і розвитку рослин у бульбових поколіннях, який можна виміряти та обрахувати – урожай. Оскільки перша (генетична – фактор сорту) та третя (умови вегетаційного періоду) складові для всіх клонових ліній в межах сортів однакові, різниця в продуктивності ліній кожного сортозразка обумовлюється величиною частки фізіологічних змін, індукованих процесом оздоровлення (фактор походження лінії), яку можна вичленити за використання однофакторного дисперсійного аналізу. Отже, маса клонів оздоровлених ліній досліджених сортів у першому бульбовому поколінні на 59,6-80,4 % обумовлюється фізіологічними змінами, індукованими у процесі оздоровлення сортів, у другому – на 52-70 % та у третьому – на 25-46 %, залежно від сорту. Досить цікавими, на наш погляд, є результати порівнянь урожайних даних різних репродукцій одних і тих же клонових ліній в умовах одного вегетаційного сезону, що дає можливість вичленити також інші фактори (рис. 5, 6).

Отже, вплив оздоровлення на продуктивні властивості отриманих клонових ліній є вагомим та статистично достовірним. Мінливість клонових ліній, які походять з меристем, є епігенетичною, вона зберігається в бульбових поколіннях і, за відсутності відповідної оцінки та відбору клонових ліній, зумовлює невіривняність вихідного матеріалу картоплі, оздоровленого біотехнологічним методом.

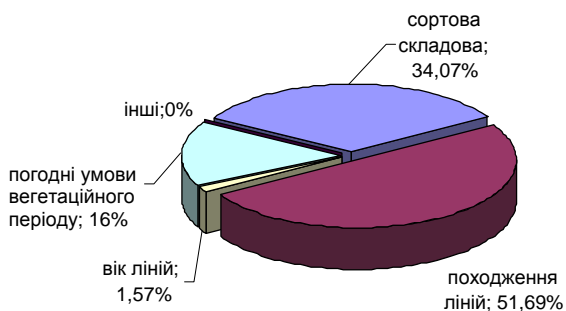


Рис. 5. Фактори, що впливали на формування урожаю оздоровлених ліній сорту Беллароза у другому бульбовому поколінні

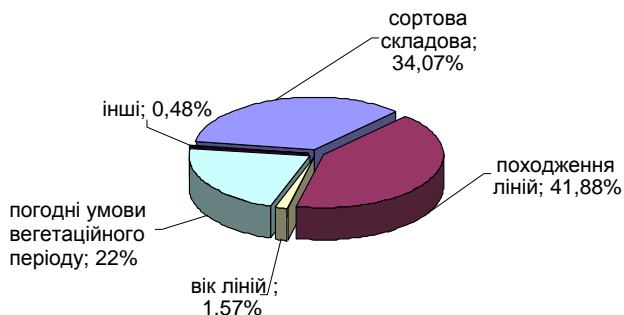


Рис. 6. Фактори, що впливали на формування урожаю оздоровлених ліній сорту Беллароза у третьому бульбовому поколінні

Природу мінливості отриманих оздоровлених ліній потрібно встановлювати за використання молекулярно-генетичних методів у кожному випадку окремо, оскільки мінливість ліній, які мають меристемно-калюсне походження, є генетичною і при мікророзмноженні та наступному репродукуванні оздоровленого матеріалу дійсно може бути джерелом біологічного забруднення сортів картоплі.

Отже, враховуючи те, що віруси в оздоровленому матеріалі можуть знаходитись у концентрації, нижчій чутливості методів електронної мікроскопії та імуноферментного аналізу, необхідно проводити всебічну діагностику рослин-регенерантів із залученням сучасних молекулярно-генетичних методів і тільки після того переводити їх до колекції оздоровлених сортів.

Комплексна оцінка та відбір високопродуктивних безвірусних

ліній, які не мають відхилень від вихідного фенотипу, можуть суттєво поліпшити якість вихідного матеріалу при оздоровленні сортів картоплі біотехнологічними методами.

1. Рабенштейн Ф. Проблемы идентификации штаммов Y-вируса картофеля /Рабенштейн Ф., Шуберт Ж., Шпаар Д. //Биоресурси і віруси: IV міжнар. конф.: тези доп. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2004. – С. 94.

2. Блоцкая Ж.В. Особенности патогенеза вирусных болезней картофеля в республике Беларусь /Ж.В. Блоцкая, О.Н. Зубкевич, Е.Е. Берлинчик //Биоресурси і віруси: II міжнар. конф.: тези доп. – К.: Фітосоціоцентр, 1998. – С. 70.

3. Замалиева Ф.Ф. Биологическое обоснование защиты от заражения вирусами оздоровленного семенного картофеля в Республике Татарстан: автореф. дисс... доктора с.-х. наук: спец. 06.01.11, 06.01.05 «Защита растений», «Селекция и семеноводство» /Замалиева Фания Файзрахмановна; Всерос. НИИ защиты растений. – СПб. – Пушкин, 2009. – 44 с.

4. Трускинов Э.В. Современная стратегия и тактика борьбы с вирусными болезнями картофеля /Э.В. Трускинов //Картофелеводство: результаты исследований, инновации, практический опыт: сб. науч. тр. /Рос. акад. с.-х. наук, Всерос. НИИ картоф. хоз-ва; под ред. Е.А. Симакова. – М., 2008. – Т. 2. – С. 26-33.

5. Тимошенко І.І. Проблеми і перспективи селекції і насінництва картоплі в Західному регіоні /І.І. Тимошенко, П.Д. Завірюха, З.М. Майшук //Вісник аграрної науки. – 2001. – № 9. – С. 73-77.

6. Итоги и перспективы создания безвирусного генобанка картофеля /С.М. Мусин, В.В. Бойко, А.В. Бабоша [и др.] //Вопросы картофелеводства: сб. науч. тр. – М.: ВНИИКХ, 2001. – С. 262-276.

7. Майшук З.Н. Клональне мікророзмноження картоплі *in vitro*. Стан, проблеми, перспективи: навч. посіб. [для студ. вищ. навч. закл.] /З.Н. Майшук. – Л.: Львів. держ. агроуніверситет, 1998. – 96 с.

8. Технология производства исходного безвирусного материала картофеля методом культуры меристемы для первичного семеноводства в СССР: методич. реком. /МСХ УССР, УкрНИИКХ, УкрНИИ с-х микробиологии. – Немешаево, 1975. – 14 с.

9. Оптимизация приемов оздоровления, размножения и защиты семенного картофеля от вирусной инфекции: метод. указ. /[Ж.В. Блоцкая, Н.Н. Тимофеев, О.Н. Зубкевич и др.]; Бел. НИИ защиты растений; Мин-во с-х и прод. Респ. Беларусь. – Минск, 1996. – 16 с.

10. Харченко Л.Т. Сравнительное изучение способов выращивания растений картофеля, свободных от вирусов X, S, M, Y, из тканей

вирозных растений: автореф. дисс. на соискание уч. степени канд. с.-х. наук: 06.01.05 «Селекция и семеноводство» /Л.Т. Харченко; НИИКС. – Коренево, 1971. – 21 с.

11. Кушнір Г.П. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика /Г.П. Кушнір, В.В. Сарнацька. – К.: Наукова думка, 2005. – 270 с.

12. Жукова М.И. Особенности экологии вируса скручивания листьев картофеля в Белоруссии /М.И. Жукова //Біоресурси і віруси: II міжнар. конф.: тези доп. – К.: Фітосоціоцентр, 1998. – С. 81.

13. Дубовик В. І. Вплив репродукування оздоровленої еліти на продуктивність насінневої картоплі: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «Насінництво» /В.І. Дубовик; Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН. – Харків, 2001. – 18 с.

14. Демкович Я.Б. Вплив репродукції насінневого матеріалу на продуктивні та якісні показники картоплі різних сортів /Я.Б. Демкович //Картоплярство. – К.: Довіра, 1999. – Вип. 29. – С. 171-173.

15. Демчук І.В. Властивості клонових ліній сортів картоплі після оздоровлення та культивування *in vitro* : дис... канд. с.-г. наук: 03.00.20 /Інга Володимирівна Демчук. – Чернігів, 2008. – 223 с.

16. Хромова Л.М. Возможности соматоклональной variability генотипов картофеля для улучшения сортов /Л.М. Хромова //Исследования по клеточной селекции: науч. тр. – М., 1984. – С. 68-75.

17. Бутенко Р.Г. Некоторые физиологические проблемы при культивировании *in vitro* картофеля /Р.Г. Бутенко //Регуляция роста и развития картофеля: пробл.-темаг. сб. – М.: Наука, 1990. – С. 88-98.

18. Бурень В.М. Биотехнологические аспекты разработки процессов развития картофеля и формирования его продуктивности /В.М. Бурень //Селекция и семеноводство картофеля на основе биотехнологии: сб. науч. тр. Ленинградского с-х ин-та. – Л., 1990. – С. 5-13.

19. Яшина И.М. Перспективы использования методов культуры клеток и тканей в селекци картофеля /И.М. Яшина //Исследования по клеточной селекции: науч. тр. – М., 1984. – С. 5-13.

20. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция: [монография] /В.А. Сидоров; АН УССР. Отделение клеточной биологии и инженерии Ин-та ботаники им. Н.Г. Холодного – К.: Наукова думка, 1990. – 280 с.

21. Асеева Т.В. Вегетативные мутации картофеля /Т.В. Асеева, И.М. Яшина //Генетика. – 1968. – Т. 4, № 3. – С. 145-164.

22. Тринклер Ю.Г. Изменчивость регенерантов культуры клеток картофеля /Ю.Г. Тринклер //Современные проблемы семеноводства картофеля на безвирусной основе: пробл. темаг. сб. – Владивосток, 1985. – С. 8-9.

23. Меличенко Г.И. Результаты сравнительного изучения меристемных линий картофеля /Г.И. Меличенко, И.И. Ланева //Актуальные проблемы картофелеводства: науч. тр. ВНИИКХ. – М.: ВНИИКХ, 1993. – С. 12-15.
24. Кунах В.А. Еволюція геному рослин в культурі клітин *in vitro*: особливості, причини, механізми та наслідки //Генетика і селекція на межі тисячоліть: зб. наук. пр. у чотирьох томах. – К.: Логос, 2001. – Т. 1. – С. 53-67.
25. Характеристика регенерантов и сортов картофеля при длительном культивировании *in vitro* /Т.И. Фоменко, И.П. Кондрацкая, И.М. Чумакова [и др.] //The Biology of Plant Cell *In Vitro* and Biotechnology: VIII International Conference (Saratov, September 3-13, 2003). – Саратов: Изд. Саратовской губернской торгово-промышленной палаты, 2003. – С. 102-103.
26. Ежова Т.А. Генетический контроль морфогенеза растительных клеток в культуре *in vitro* /Т.А. Ежова //The Biology of Plant Cell *In Vitro* and Biotechnology: VIII International Conference (Saratov, September 3-13, 2003). – Саратов: Изд. Саратовской губернской торгово-промышленной палаты, 2003. – С. 96-97.
27. Кучко А.А. Соматональна мінливість картоплі /А.А. Кучко, Т.М. Олійник //Картоплярство. – К.: Довіра, 1998. – Вип. 28. – С. 28-36.
28. Марченко А.О. Реализация морфогенетического потенциала растительных организмов /А.О. Марченко //Успехи современной биологии. – 1996. – Т. 116, Вып. 3. – С. 306-319.
29. Шарафутдинова Г.Г. Сравнительный анализ гормонального баланса растений картофеля различной длительности культивирования *in vitro* /Г.Г. Шарафутдинова, А.Г. Мардамшин, А.Р. Мустафина [и др.] //Вестник Башкирского университета. – 2001. – № 2 (II). – С. 133-135.
30. Положення про насінництво картоплі /Міністерство сільського господарства і продовольства України; УААН. – К., 1997. – 28 с. – (Нормативний документ Міністерства сільського господарства і продовольства України).
31. Картофель семенной. Оздоровленный исходный материал. Приемка и методы анализа: ГОСТ 29267-91. – Введ. 01.01.93. – М.: Изд-во стандартов, 1992. – 13 с.
32. Чайлахян М.Х. О терминологии онтогенеза растений /М.Х. Чайлахян, Н.П. Аксенова, В.И. Кефели. – М.: Наука, 1973. – 40 с.
33. Кучко А.А. Фізіологія та біохімія картоплі /Кучко А.А., Власенко М.Ю., Мицько В.М. – К.: Довіра, 1998. – 335 с.

ПРОБЛЕМЫ ОЗДОРОВЛЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ МЕТОДАМИ БИОТЕХНОЛОГИИ

Демчук И.В., Зарицкий Н.М.

Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН,
г. Чернигов

Приводятся результаты многолетних исследований по оздоровлению сортов картофеля методом культуры меристем в сочетании с химиотерапией. Показано, что особое значение в процессе оздоровления и ускоренного размножения исходного материала для воспроизводства элиты приобретает вирусологический контроль. Освещается проблема сохранения в оздоровленном материале морфологических и продуктивных свойств оздоравливаемых сортов. Подчеркивается необходимость эффективного отбора сортоулучшающих линий для первичного семеноводства картофеля.

Ключевые слова: картофель, вирусы, оздоровление, первичное семеноводство, культура меристем.

PROBLEMS OF DISEASE ERADICATION SYSTEMS FOR POTATO CULTIVARS BY BIOTECHNOLOGICAL METHODS

Demchuk I.V., Zaritsky N.M.

Institute of Agricultural Microbiology, UAAS, Chernihiv

The investigation results of disease eradication systems for the initial seed potato material obtained from the meristem culture in combination with chemotherapy are shown. The special role of the virology control in these processes is demonstrated. The maintenance of morphological and productive properties in the initial seed potato material is discussed. The necessity of effective selection of best-characteristic lines for the potato seed initial material is underlined.

Keywords: potato, viruses, disease eradication system, initial seed potato material, meristem culture method.