

УДК 635.21:581.143.6

РОЗРОБКА ЕЛЕМЕНТІВ ТЕХНОЛОГІЇ IN VITRO ДОБОРУ ПОСУХОСТІЙКИХ РЕГЕНЕРАНТІВ КАРТОПЛІ

Т.М. ОЛІЙНИК, Н.А. ЗАХАРЧУК

*Інститут картоплярства Національної академії аграрних наук України
07853 смт Немішаєве, Чкалова, 22, Бородянський р-н, Київська обл.
e-mail: oliyniktm@gmail.com; e-mail: vs_potato@meta.ua*

Висвітлено результати розробки елементів технології in vitro з добору посухостійких рослин-регенерантів картоплі. Визначено летальні значення селективних чинників (осмотично активної речовини — поліетиленгліколю — в поєднанні з високими температурами повітря). Встановлено робочу концентрацію (5 %) поліетиленгліколю за ступінчастого його введення в поживне середовище на стадії калусної тканини та активну проліферацію калусів за температури 40—45 °С. В результаті добору отримано рослини-регенеранти, резистентні до високої температури (50 °С). В умовах захищеного ґрунту виявлено морфологічні зміни в температуростійких рослин за діаметром стебел, забарвленням стебел і листків (від темно-зеленого до антоціанового). Листки цих рослин були товстішими й більш опушеними. Створені лінії мали менше на 0,4—3,8 шт. бульб на рослину залежно від сорту, проте у 14 ліній загальна їх маса була на 30,5—63,2 г/кущ більшою, ніж у контролі. За вмістом води у температуростійких регенерантів в умовах посухи (штучно створеної в умовах захищеного ґрунту) встановлено, що у стійких ліній цей показник на 23 % вищий порівняно з контролем. У міру посилення водного дефіциту (посухи) у цих рослин чітко простежувалась толерантність до зневоднення і високих температур.

Ключові слова: картопля, клітинна селекція, посухостійкість, рослини-регенеранти, калус.

На території України близько 15 млн га орних земель знаходиться в зонах недостатнього зволоження [8]. Відомо, що навіть незначне порушення водного балансу змінює нормальний хід метаболічних процесів і це негативно позначається на продуктивності рослин [2, 3, 8].

Головним обмежувальним чинником урожайності сільськогосподарських культур в Україні є дефіцит опадів [8]. Посуха негативно позначається на оптимальному перебігу фотосинтезу, транспорті асимілятів рослиною і гормональному балансі. Внаслідок зміни ліпідного комплексу, денатурації та агрегації білків пошкоджуються мембрани клітин, посилюється інтенсивність дихання за зниження його енергетичної ефективності, збільшується вміст фітогормонів інгібувального характеру, пригнічуються поділ і ріст клітин [2, 7, 9, 10].

Класичні селекційно-генетичні методи створення посухостійких сортів, засновані на традиційних схрещуваннях, обмежені полігеним контролем ознаки, потребують опрацювання великих обсягів вихідного селекційного матеріалу, затратні й часто малоефективні. Разом із тим генетична детермінація ознаки посухостійкості та її прояв на різних рівнях організації, в тому числі й на клітинному, уможливує застосування біотехнологічних підходів, заснованих на технологіях *in vitro*. З одного боку, це дає можливість використовувати нетрадиційні інструменти розширення генетичного різноманіття рослин шляхом безпосереднього впливу на генетичний апарат соматичної клітини, з іншого — створювати ефективні системи оцінювання і прямого добору стійких генотипів у лабораторних умовах на селективних середовищах *in vitro*.

За технологією клітинної селекції *in vitro* можна проводити випробування і добір на клітинному рівні в обсягах, що багаторазово перевищують традиційні (на рівні рослин). Такий підхід дає можливість створити принципово новий посухостійкий вихідний селекційний матеріал за коротший період і тим самим скоротити терміни створення високопродуктивних сортів, пристосованих до вирощування в стресових кліматичних умовах [1].

Перспективним напрямом клітинної селекції є добір стресостійкого матеріалу на селективних середовищах з осмотичними речовинами, що моделюють водний дефіцит [4, 15].

З метою імітації *in vitro* стресового ефекту водного дефіциту можна застосовувати поживні середовища, доповнені осмотично активними речовинами, що знижують зовнішній водний потенціал. Таким селективним агентом для клітинної селекції на стійкість до водного дефіциту слугує поліетиленгліколь (ПЕГ) — осмотично активна речовина, що не проникає в клітину. Перше повідомлення про виділення клітинних ліній тютюну, стійких до стресу, індукованого ПЕГ, з'явилося в 1979 р. [14].

Пізніше для отримання стійких до водного дефіциту рослин томату Брессан та співавт. [13] скористалися клітинними лініями, які піддавали водному стресу за культивування калюсних тканин за наявності ПЕГ 6000 у концентрації 15 %. У результаті дослідів було відібрано стійкі калюсні лінії, проте їх стійкість швидко втрачалася при культивуванні калюсу на середовищі без ПЕГ, що вказує на фізіологічну природу адаптації. Тестування росту калюсних ліній за наявності ПЕГ запропоновано для ідентифікації витривалих до водного дефіциту генотипів сої. Аналізом росту калюсних тканин десяти сортів сої на середовищах із 15 і 20 % ПЕГ 8000 виявлено кореляцію посухостійкості рослин і толерантності до ПЕГ культивованих клітин сої.

На сьогодні досягнуто певного прогресу з клітинної селекції різних культур — створено лінії пшениці, кукурудзи, ячменю, мітлиці, стійкі до посухи, засолення, важких металів [5, 12]. Успішно вивчаються калюсо- й морфогенез за стандартних умов та умов стресу [1, 4]. Однак залишаються проблеми, пов'язані з ідентифікацією резистентних до селективного чинника клітинних клонів, втрату

здатності до регенерації, епігенетичною мінливістю, низьким виходом регенерантів, що зберігають бажану ознаку [4].

Існують різні способи добору стійких до стресу клітинних ліній: 1) пряма селекція з використанням сублетальних концентрацій стресового чинника; 2) м'яка — за адаптивних концентрацій селективного агента; 3) ступінчаста — з поступовим підвищенням концентрації стресового чинника, чергуванням селективних і неселективних умов [15].

Метою нашого дослідження була розробка окремих елементів технології клітинної селекції для отримання стійких до водного дефіциту клітинних ліній і рослин-регенерантів картоплі.

Методика

Об'єктом досліджень були шість сортів картоплі селекції Інституту картоплярства НААН України: Зов, Довіра, Левада, Мелодія, Палітра, Слов'янка. Пухку калюсну тканину отримували з листових і стеблових експлантів, вирощених асептично рослин *in vitro*, суспензійну культуру — перенесенням недиференційованого пухкого калюсу на рідке поживне середовище МС [6] із подальшим вирощуванням на качалці. Щоб отримати клітинні лінії картоплі, суспензійну культуру змішували з агаризованим поживним середовищем у співвідношенні 1 : 5 і висівали в чашки Петрі. На цьому етапі в поживне середовище вводили селективні чинники. З кожним наступним пасажом культури концентрацію селективних чинників збільшували. Колонії пересаджували на середовища для росту, морфогенезу і регенерації. Калюси, які досягали розмірів 8—10 мм, використовували в подальших дослідженнях з клітинної селекції. Кількість висаджених калюсів для кожного сорту — 100 шт. [6].

Експлантати стебла і листків вирощували на середовищі МС за наявності 2,4-Д (2,0—5,0 мг/л). Експлантати культивували у темряві за 25 °С протягом 15 діб. Ліпшим вихідним експлантатом серед досліджених сортів картоплі виявились фрагменти стебла. Вже на 8-му добу культивування інтенсивно наростала калюсна тканина. Добре розвинену пухку калюсну тканину використовували для отримання суспензійної культури [6]. Вирощували культуру клітин у темряві на качалці за температури 25 °С й вологості повітря 80—85 %. Через 3—4 тижні суспензійна культура мала щільність 10^{-4} — 10^{-5} клітин/мл і світле забарвлення. Для стабілізації суспензійної культури її вирощували за 2—3 пасажі на рідких поживних середовищах зі зниженням концентрації 2,4-Д до 0,5 мг/л. Далі суспензійну культуру переносили на агаризоване поживне середовище для росту калюсу. Із середовища вилучали ауксин і вводили БАП у концентраціях 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мг/л (для клітин із стеблових експлантів) та 0,1; 0,5; 1,0 мг/л (для клітин із листових експлантів).

Регенерацію рослин проводили в два етапи на кількох варіантах середовища. На першому етапі регенерації використовували середовище МС, яке містило сахарозу — 2,5 %, манітол — 3 %, гідролізат казеїну — 50 мг/л, α -НОК — 1 мг/л, 6-БАП — 0,5 мг/л, нікотинову кислоту — 1 мг/л, піридоксин — 1,0 мг/л, на другому — модифіко-

ване нами середовище: 6-БАП був замінений на зеатин — 0,5 мг/л, β-ІОК — 1 мг/л.

Культивували рослинний матеріал у кліматичній кімнаті за температури +24 °С, світлового періоду 16 год, освітленості 3000—5000 лк, вологості 75—80 %. Рослини-регенеранти вивчали в умовах захищеного ґрунту. Вміст води та водовідновлювальну здатність оцінювали в лабораторних умовах. Використано публікації «Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею» [6] та «Спосіб оцінки стійкості сортів картоплі до посухи» [11].

Результати та обговорення

Клітинну селекцію розпочинали з відпрацювання селективних концентрацій ПЕГ, у межах яких виявилась різна життєздатність клітин картоплі. ПЕГ із молекулярною масою 8000 вводили в поживне середовище в концентраціях 0,5—5 %. Слід зазначити, що низькі концентрації ПЕГ стимулювали приріст маси калюсної тканини, підвищені — спричинювали некроз і пригнічення росту. Селективний агент вводили в середовище, поступово збільшуючи концентрацію в кожному або через один пасаж на 0,5 %. Так добивались стабілізації росту калюсної культури з наступним селективним доббором (табл. 1).

Дія селективного чинника виявилась через 8 діб після висаджування калюсів. Її оцінювали за шкалою: «—» — реакція відсутня, «+» — слабка, «++» — середня, «+++» — сильна, «++++» — дуже сильна реакція.

Дія різних концентрацій ПЕГ і високих температур виявлялась у побурінні калюсної тканини, зменшенні кількості життєздатних клітин, зменшенні або відсутності приросту біомаси. У контролі (без селективного чинника) калюси мали забарвлення від блілого до зеленого і гладеньку структуровану поверхню, приріст калюсної тканини становив до 5 мм в діаметрі.

Дослідивши різні концентрації ПЕГ, ми дійшли висновку про доцільність поступового введення селективного чинника. Робочою концентрацією для калюсної тканини є 5 %. Після стабілізації культури протягом пасажу без селективного чинника ми додатково почали піддавати калюсну тканину дії високих температур (40, 45, 50 °С).

За дії температурного стресу на калюсогенез і ріст калюсних тканин вдалось отримати велике різноманіття калюсів, що відрізнялись за кольором і характером росту (табл. 2).

В результаті виконаної серії експериментів отримано ембріогенні калюси з різним типом морфогенезу (ризогенез, гемогенез) і пагоноутворення на 20-ту добу.

Рослини, отримані з калюсних ліній *in vitro*, розмножували живцюванням і вирощували у кліматичній кімнаті за температури +24 °С, світлового періоду 16 год, освітленості 3000—5000 лк, вологості 75—80 %. Стійкість отриманих регенерантів до високої температури оцінювали на рівні пробіркових рослин. Для цього випробовували по 40 пробіркових рослин кожного сорту, які переносили в камеру з температурою +50 °С і витримували протягом 24 год за освітленості 5000 лк. Після цього всі рослини переносили в звичайні умови ви-

ТАБЛИЦЯ 1. Дія селективного чинника на калюсну тканину різних сортів картоплі

Концентрація ПЕГ, % + +висока температура	Ступінь вияву впливу на 8-му добу					
	Сорт					
	Зов	Довіра	Левада	Мелодія	Палітра	Слов'янка
0,5	—	—	—	—	—	—
1	—	+	—	+	—	—
1,5	+	+	+	+	+	—
2	+	+	+	++	+	+
2,5	++	++	+	+	+	+
3	++	++	++	++	++	+
3,5	+++	+++	++	++	++	++
4	+++	+++	+++	++	+++	++
4,5	+++	++++	+++	++++	+++	++
5	++++	++++	++++	++++	+++	+++
5 + 25 °C	—	—	—	—	—	—
5 + 30 °C	+	—	—	—	—	—
5 + 35 °C	++	+	+	+	+	—
5 + 40 °C	++	++	++	++	++	+
5 + 45 °C	+++	++++	+++	++++	+++	++
5 + 50 °C	++++	++++	++++	++++	++++	++++

рощування на 6 діб. За таких умов обробки високою температурою майже всі рослини втрачали життєздатність і починали всихати з верхівки. У 18 випадках у пробіркових рослин нижня частина стебла залишалась зеленкуватою. Із цих ділянок стебла упродовж 10—12 наступних діб починали з'являтися вторинні стебла з листочками. Ми їх пересаджували живцюванням на свіже поживне середовище й визначили як температуростійкі (ТС-рослини). Ці рослини вивчали в умовах захищеного ґрунту щодо стійкості до посухи і високих температур.

18 рослин, отриманих із сортів Довіра, Левада, Слов'янка, Палітра, розживцювали й об'єднали в лінії. Пробіркові рослини переводили у ґрунтову культуру через касетну розсадку. В теплицю ви-

ТАБЛИЦЯ 2. Вплив високих температур на ріст калюсів (20-добова культура, усереднено за сортами)

Варіант	Діаметр калюсів, мм	Діаметр калюсів, % контролю	Колір тканини
Контроль, 25 °C	10,2±0,21	100±0,0	Сіро-зелена
40 °C	8,7±0,27	85,3±0,0	Світло-зелена
45 °C	6,1±0,17	59,8±0,0	Жовтувато-біла
50 °C	3,2±0,12	31,4±0,0	Темно-зелено-коричнева

ТАБЛИЦЯ 3. Морфологічні особливості температуростійких рослин картоплі (в умовах захищеного ґрунту)

Походження	Висота стебла, см	Кількість розвинених листків, шт.	Кількість бульб, шт.	Середня маса бульб з куща, г
Ст. Довіра	35,5±2,2	9±0,0	10,2	359,0±19,4
ТС-1Дов/ст	25,5±1,3	6±0,0	8,2	374,0±19,5
ТС-2Дов/ст	28,1±1,0	7±0,0	9,6	391,2±20,7
ТС-3Дов/ст	27,3±2,3	7±0,3	9,3	395,0±22,3
Ст. Левада	28,5±0,3	7±0,5	8,6	338,8± 21,8
ТС-4Лев/ст	23,5±0,6	5±0,2	6,6	369,7±20,3
ТС-5Лев/ст	24,7±0,2	5±0,4	6,9	371,6±21,0
ТС-6Лев/ст	26,0±0,5	6±0,0	7,4	389,0±19,6
ТС-7Лев/ст	22,1±1,2	5±0,0	4,8	290,8±25,0
ТС-8Лев/ст	24,5±0,6	5±0,3	5,9	334,2±22,1
Ст. Слов'янка	48,5±0,8	14±0,8	12,3	504,3±18,2
ТС-9Сл/ст	38,5±1,1	11±0,0	10,8	550,0±21,8
ТС-10Сл/ст	37,2±0,8	10±0,0	10,1	532,4±20,6
ТС-11Сл/ст	38,1±1,6	10±0,5	10,2	541,0±22,8
ТС-12Сл/ст	40,4±0,3	12±0,2	11,5	561,0±23,2
ТС-13Сл/ст	42,7±1,0	12±0,5	11,6	564,2±23,0
ТС-14Сл/ст	39,9±0,8	9±0,4	11,3	558,9±21,7
ТС-15Сл/ст	43,5±1,3	12±0,8	11,9	567,5±21,7
ТС-16Сл/ст	36,5±2,1	9±0,0	9,3	560,7±23,2
Ст. Палітра	32,8±1,5	8±0,0	7,8	233,0±33,0
ТС-17Пал/ст	28,5±0,3	6±0,7	6,5	263,5±28,8
ТС-18Пал/ст	30,4±0,6	7±0,6	6,0	252,4±28,1

саджували по 20 рослин кожної лінії. Досліджувані лінії порівнювали з контрольними рослинами. Через 7—10 діб адаптації касетної розсади спостерігали за приживленням. Істотної відмінності у приживленні контрольних і температуростійких рослин не помічено. Приживлення ліній усіх сортів становило 90—95 %. Після 50 діб культивування в умовах захищеного ґрунту вимірювали висоту стебла, підраховували кількість листків. Наприкінці вегетації (100 діб вирощування) визначали кількість і масу бульб. Результати досліджень наведено в табл. 3.

Згідно з даними таблиці, рослини, отримані методом клітинної селекції, морфологічно різні. Порівняно з контролем вони дещо нижчі, мають меншу кількість листків. Відрізнялись вони й за діаметром стебел, забарвленням стебел і листків (від темно-зеленого до антоціанового). Їх листки були товстішими й більш опушеними. Створені лінії мали менше бульб на рослину, проте у 14 ліній загальна маса бульб була більшою за контрольну.

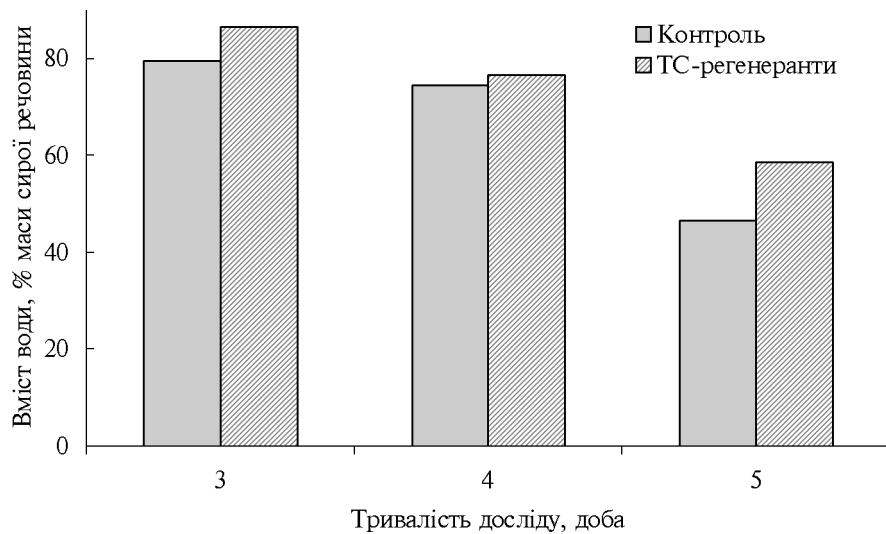


Рис. 1. Вміст води в листках рослин картоплі за дії посухи

Отже, лінії, отримані методом клітинної селекції, істотно різнились за морфологічними ознаками та урожайністю.

По 40 ліній кожного сорту було висаджено аналогічно в теплицю для вивчення їх посухостійкості. На 50—55-ту добу висаджені лінії й рослини контрольного варіанта почали формувати бутони. У цей період створювали умови штучної посухи (припиненням поливу). Грунтова-торфяна суміш підсихала і на 5-ту добу вміст води в ній становив 25,0—29,5 % (розрахунок на масу сухого ґрунту). В контрольних варіантах (стандарти і ТС-лінії) обводненість ґрунту підтримували на рівні 75—78 % шляхом постійних поливів.

Як видно з наведених на рис. 1 даних, в умовах достатнього водозабезпечення вихідні рослини і рослини-регенеранти майже не відрізнялися за вмістом води в листках. У міру створення штучної посухи листки рослин втрачали менше води протягом випробувань на 3-, 4- і 5-ту доби посухи. Обводненість листків рослин-регенерантів перевищувала цей показник порівняно з контролем на 24 %.

В умовах посухи вивчали водоутримувальну здатність листків рослин картоплі (рис. 2). Встановлено, що в умовах достатнього водозабезпечення вона була практично однаковою, а в умовах посухи водоутримувальна здатність ліній була вищою, ніж у контрольних рослин. Згідно з отриманими результатами, в міру посилення водного дефіциту (посухи) у рослин-регенерантів чітко простежувалась толерантність до зневоднення і високих температур.

Таким чином, у результаті виконаних досліджень визначено летальні концентрації селективних речовин. Робочою концентрацією для калюсної тканини картоплі є 5 % ПЕГ за поступового введення селективного чинника в поживне середовище.

Встановлено активну проліферацію калюсів у контрольному варіанті і калюсів, що утворилися за температури 40—45 °С. Після перенесення їх на середовище для регенерації в усіх варіантах на 20-ту добу з'являлись ембріогенні калюси.

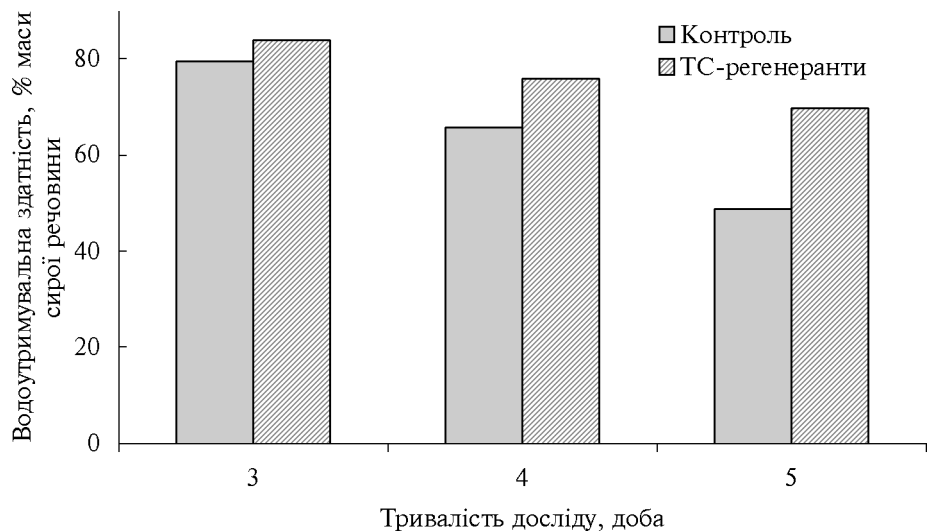


Рис. 2. Водоутримувальна здатність рослин картоплі за дії посухи

У результаті добору отримано рослини-регенеранти, серед яких виділено резистентні до високої температури (50 °C). Температуростійкі рослини в умовах захищеного ґрунту різнились за діаметром стебел, забарвленням стебел і листків, їх листки були товстішими й більш опушеними. У створених ліній було на 0,4—3,8 шт. менше бульб на рослину залежно від сорту, проте у 14 ліній загальна їх маса перевищувала контрольну на 30,5—63,2 г/кущ.

Вміст води у тканинах температуростійких рослин в умовах посухи (штучно створеної в умовах захищеного ґрунту) був вищим (на 23 %), в міру посилення водного дефіциту (посухи) у рослин чітко простежувалась толерантність до зневоднення і високих температур.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Аль-Холани Х.Ф.М., Тоайма В.И.М., Долгих Ю.И. Получение растений кукурузы с повышенной устойчивостью к засухе путем клеточной селекции на среде с маннитом. *Биотехнология*. 2010. № 1. С. 60—67.
2. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. Москва: Наука, 1982. 279 с.
3. Кожушко Н.С., Пискун Г.І., Колядко І.І., Сахожко М.М., Савченко П.В. Ефективність селекції картоплі на посухостійкість. *Вісн. Сумського нац. аграр. ун-ту. Сер. Агрономія і біологія*. 2014. Вип. 3. С. 227—233.
4. Любченко О.І., Рябовол Л.О., Любченко А.І. Використання культури in vitro в адаптивній селекції рослин (огляд літератури). *Збірник наукових праць Уманського нац. ун-ту садівництва. Сільськогосподарські науки*. Умань, 2016. Вип. 88, ч. 1. С. 126—139.
5. Маленька У., Кобилецька М., Терек О. Вплив саліцилової кислоти на вміст вільних амінокислот і проліну в рослинах пшениці та кукурудзи за умов посухи. *Біологічні студії*. 2014. 8, № 2. С. 123—132.
6. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею. Немішаєве: Інтас, 2002. 182 с.
7. Нижник Т.П. Фізіологічні основи та способи підвищення стійкості картоплі до посухи: Автореф. дис. ... канд. біол. наук/Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. Київ, 2001. 19 с.

8. Олійник Т.М., Сідакова О.В., Захарчук Н.А., Симоненко Н.В. Вивчення потенціалу вихідного матеріалу картоплі для селекції на посухостійкість. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2017. **13**, № 4. С. 361—366.
9. Россихіна Г.С., Попов В.Я. Систематизація та вдосконалення методологічного забезпечення дослідження посухостійкості рослин. *Вісн. Дніпропетровського ун-ту. Біологія. Екологія*. 2009. Вип. 17, **1**. С. 199—204.
10. Росіцька Н. В. Адаптивна реакція рослин різних життєвих форм за умов посухи: Автореф. дис. ... канд. біол. наук/Інститут агроєкології та природокористування НААН України. Київ, 2015. 24 с.
11. Спосіб оцінки стійкості сортів картоплі до посухи: пат. 45055 А, Україна МПК A01G7/00(2006.01), заявл. 18.04.2001. Опубл. 15.03.2002.
12. Adamovskaya V. G., Molodchenkova O. O. The formation of biochemical resistance to biotic and abiotic stress in cereals. *Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors: Current Potential and Future Demands: Proc. 3rd Int. Symp. on Plant Protection and Plant Health in Europe* (Berlin—Dahlem, Germany, 14—16 May 2009). Berlin, 2009. P. 452—454.
13. Bressan R.A., Hasegawa P.M., Handa A.K. Resistance of cultured higher plant cells to polyethylene glycol-induced water stress. *Plant Sci Lett*. 1981. **21**. P. 23—30.
14. Heyser J.W., Nabors M.W. Osmotic adjustment of tobacco cells and plants to penetrating and non-penetrating solutes. *Plant Physiol*. 1979. **63**. P. 5—77.
15. Dragiiska R., Djilianov D., Denchev P., Atanassov A. In vitro selection for osmotic tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Bulg. J. Plant Physiol*. 1996. **22**(3—4). P. 30—39.

Отримано 13.07.2018

REFERENCES

1. Al-Kholany, Kh.F.M., Toaima, V.Y.M. & Dolhykh, Yu.Y. (2010). Production of corn plants with increased resistance to drought by cell selection on medium with mannitol. *Byotekhnolohyia*, 1, pp. 60-67 [in Russian].
2. Genkel, P.A. (1982). *Physiology of Heat and Drought Resistance of Plants*. Moscow: Nauka [in Russian].
3. Kozhushko, N.S., Pyskun, H.I., Koliadko, I.I., Sakhoshko, M.M. & Savchenko, P.V. (2014). Efficiency of potato breeding for drought resistance. *Visnik Sums'kogo nacional'nogo agrarnogo universitetu. Agronomiya and biologyia*, 3, pp. 227-233 [in Ukrainian].
4. Liubchenko, O.I., Riabovol, L.O. & Liubchenko, A.I. (2016). Vykorystannia kultury in vitro v adaptivnii seleksii roslin (ohliad literatury). *Zbirnyk naukovykh prats Umanskoho natsionalnoho universytetu sadivnytstva*, 88 (1), pp. 126-139 [in Ukrainian].
5. Malenka, U., Kobyletska, M., & Terek, O. (2014). Influence of salicylic acid on the content of free amino acids and proline in plants of wheat and corn under drought conditions. *Biol. Studii*, 8(2), pp. 123-132 [in Ukrainian].
6. Methodical recommendations on potato investigation (2002). Nemishaieva: Intas [in Ukrainian].
7. Nyzhnyk, T. P. (2001). *Physiological basis and methods of increasing potato resistance to drought* (Unpublished candidate thesis). Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS, Kyiv, Ukraine [in Ukrainian].
8. Oliynyk, T.N., Sidakova, O.V., Zakharchuk, N.A. & Symonenko, N.V. (2017). Studying the potential of the initial potato material with the aim of breeding for drought resistance. *Plant Varieties Studying and Protection*, 13(4), pp. 361-366. doi: <https://doi.org/10.21498/2518-1017.13.4.2017.117733> [in Ukrainian].
9. Rossykhina, H. S. & Popov, V. Ya. (2009). Systematization and improvement of methodological support of plants drought-resistance investigation. *Visnik Dnipropetrov'skogo Univ. Ser. Biol. Ekol.*, 17(1), pp. 199-204. doi: 10.15421/010930 [in Ukrainian].
10. Rositska, N. V. (2015). *Adaptive response of plants of various forms of life under drought conditions* (Unpublished candidate thesis). Institute of Agroecology and Environmental Management, Kyiv, Ukraine [in Ukrainian].
11. Pat. 45055 А, МПК A01G7/00(2006.01) A method for assessing the stability of potato varieties to drought. Hryhoriuk, I.P., Tkachov, V.I., Nyzhnyk, T.P., Mytsko, V. M. & Voitseshyna, N. I. Publ. 2006 [in Ukrainian].

12. Adamovskaya, V. G. & Molodchenkova, O. O. (2009). The formation of biochemical resistance to biotic and abiotic stress in cereals. Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors: Current Potential and Future Demands: Proc. 3rd Int. Symp. on Plant Protection and Plant Health in Europe (pp. 452-454). May 14–16, 2009, Berlin—Dahlem, Germany.
13. Bressan, R.A., Hasegawa, P.M. & Handa, A.K. (1981). Resistance of cultured higher plant cells to polyethylene glycol-induced water stress. Plant Sci Lett., 21, pp. 23-30. doi: [https://doi.org/10.1016/0304-4211\(81\)90065-1](https://doi.org/10.1016/0304-4211(81)90065-1)
14. Heyser, J.W. & Nabors, M.W. (1979). Osmotic adjustment of tobacco cells and plants to penetrating and non-penetrating solutes. Plant Physiol., 63, pp. 5-77.
15. Dragiiska, R., Djilianov, D., Denchev, P. & Atanassov, A. (1996). In vitro selection for osmotic tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Bulg. J. Plant Physiol., 22 (3-4), pp. 30-39.

Received 13.07.2018

РАЗРАБОТКА ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ IN VITRO ОТБОРА ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ РЕГЕНЕРАНТОВ КАРТОФЕЛЯ

Т.М. Олейник, Н.А. Захарчук

Институт картофелеводства Национальной академии аграрных наук Украины,
пгт Немешаево Борodianского р-на, Киевской обл.

Освещены результаты разработки элементов технологии in vitro по отбору засухоустойчивых растений-регенерантов картофеля. Определены летальные значения селективных факторов (осмотически активного вещества — полиэтиленгликоля — в сочетании с высокими температурами воздуха). Установлены рабочая концентрация (5 %) полиэтиленгликоля при ступенчатом его введении в питательную среду на стадии каллусной ткани и активная пролиферация каллусов при температуре 40–45 °С. В результате отбора получены растения-регенеранты, резистентные к высокой температуре (50 °С). В условиях защищенного грунта обнаружены морфологические изменения у засухоустойчивых растений по диаметру стеблей, окраске стеблей и листьев (от темно-зеленого до антоцианового). Листья этих растений были более грубыми и опушенными. Созданные линии имели на 0,4–3,8 шт. меньше клубней на растение в зависимости от сорта, однако у 14 линий общая их масса была на 30,5–63,2 г/куст больше, чем в контроле. По содержанию воды у засухоустойчивых регенерантов в условиях засухи (искусственно созданной в условиях защищенного грунта) установлено, что у устойчивых линий этот показатель на 23 % выше по сравнению с контролем. По мере усиления водного дефицита (засухи) у данных растений четко прослеживалась толерантность к обезвоживанию и высоким температурам.

Ключевые слова: картофель, клеточная селекция, засухоустойчивость, растения-регенеранты, каллус.

DEVELOPMENT OF ELEMENTS OF IN VITRO TECHNOLOGY FOR THE SELECTION OF DROUGHT-RESISTANT POTATO REGENERANTS

T.M. Oliynyk, N.A. Zakharchuk

Institute of Potato Research, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
22 Chkalova St., Nemishaieva, Borodianka district, Kyiv region, 07853, Ukraine
e-mail: oliyniktm@gmail.com; vs_potato@meta.ua

The article focuses on the results of research conducted on the development of elements of in vitro technology for the selection of drought-resistant potato regenerant plants. The lethal

means of the selective agents (osmotically active substance — polyethylene glycol in combination with the high air temperature) have been determined. A working concentration (5 %) of polyethylene glycol for gradual introduction into the nutrient medium at the stage of the callus tissue and an active proliferation of the calli at the temperature of 40–45 °C were established. Following a selection there were obtained regenerant plants, resistant to high temperatures (50 °C). In the greenhouse conditions morphological changes in temperature resistant plants on stem diameter, color of the stem and leaves (from dark green to anthocyanin) have been determined. The leaves of these plants are more rough and furry. The lines had less 0.4–3.8 tubers per plant, depending on the variety, but in 14 lines their total weight was by 30.5–63.2 g/bush above the control. By determining the water content in temperature-resistant regenerant plants under drought (artificially created in the greenhouse conditions) it was established that stable lines had this index by 23 % higher compared to the control one. As the drought increases, these plants clearly show tolerance to dehydration and high temperatures.

Key words: potato, culture in vitro, drought tolerance, regenerant plants, callus.