

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ОВОЧІВНИЦТВА І БАШТАННИЦТВА

ІВЧЕНКО ТЕТЯНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК: 631.527:635.1/7:631.147

НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ МЕТОДІВ БІОТЕХНОЛОГІЇ
В СЕЛЕКЦІЇ ТА НАСІННИЦТВІ ОВОЧЕВИХ РОСЛИН РОДИН *SOLANACEAE*
GALS., *ALLIACEAE L.*, *ASTERACEAE DUMORT.*, *APIACEAE LINDL.*,
CUCURBITACEAE JUSS.

06.01.05 – селекція і насінництво

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня доктора
сільськогосподарських наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті овочівництва і баштанництва НААН впродовж 2003-2015 рр.

Науковий консультант:

доктор сільськогосподарських наук, доцент
Корнієнко Сергій Іванович,
Інститут овочівництва і баштанництва НААН,
директор

Офіційні опоненти:

доктор сільськогосподарських наук, професор,
член-кореспондент НААН
Петренкова Віра Павлівна,
Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН,
керівник відділу теоретичних досліджень в
рослинництві та генетичних ресурсів рослин

доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник
Орлов Станіслав Дмитрович,
Інститут біоенергетичних культур і цукрових
буряків НААН, завідувач відділу селекції і
насінництва зернових і зернобобових культур

доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник
Балашова Галина Станіславівна,
Інститут зрошуваного землеробства НААН,
завідувач лабораторії біотехнології картоплі

Захист відбудеться «6» грудня 2016 року о 9⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 65.357.01 при Інституті овочівництва і баштанництва НААН за адресою: 62478, вул. Інститутська, 1, сел. Селекційне, Харківський р-н., Харківська обл.; тел.: (057) 748-91-91, факс: (057) 748-91-91; e-mail:ovoch.iob@gmail.com

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Інституту овочівництва і баштанництва НААН за адресою: 62478, вул. Інститутська, 1, сел. Селекційне, Харківський р-н, Харківська обл.

Автореферат розіслано « 4 » листопада 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

О. В. Сергієнко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Незважаючи на досить високу насиченість світових ринків овочевою продукцією, її середня врожайність у багатьох країнах, у тому числі й в Україні, невисока. До того ж, рівень її виробництва щорічно обмежується втратами 12 – 30 % продукції через хвороби та екстремальні погодні умови, які спричиняють значні економічні збитки та дестабілізацію цін на овочі на внутрішніх і зовнішніх ринках. Для збільшення надходження овочів, та розширення асортименту адаптивних до біотичних і абіотичних факторів генотипів постає необхідність постійного удосконалення селекційного процесу. Нині культура тканин й органів *in vitro* перетворилась у складну та широкомасштабну галузь експериментальної біології, направлену перш за все на вивчення закономірностей індукції морфогенезу в клітинах і тканинах, які відбуваються під впливом різних екзо- й ендогенних факторів. В той же час селекція потребує створення нових ефективних систем покращання цінних господарських ознак генотипів овочевих культур в перспективних напрямках.

Актуальність і пріоритетність досліджень за темою дисертаційної роботи обумовлені вирішенням проблеми інтенсифікації процесу створення та розмноження висококонкурентних генотипів овочевих культур новою технологією селекційного процесу з використанням біотехнологічної ланки під час створення, розмноження і ідентифікації вихідного матеріалу овочевих родин *Solanaceae* Gals., *Alliaceae* L. , *Asteraceae* Dumort., *Apiaceae* Lindl, *Cucurbitaceae* Juss. та підтверджені завданнями державних і галузевих наукових програм.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження за темою дисертаційної роботи виконано впродовж 2003-2015 рр. відповідно до завдань тематичного плану науково-дослідних робіт Інституту овочівництва і баштанництва НААН згідно НТП “Генетичні ресурси“ 2003-2005 рр. за завданням: “Координація та ведення системи генетичних ресурсів овочевих і баштанних рослин, інтродукція зразків“ (номер державної реєстрації 010U009046); 2006–2010 рр. – 08.01/057 “Розробити методикку тривалого зберігання *in vitro* колекції *Allium sativum* L. та способи відновлення “старого” насіння овочевих рослин за допомогою методів біотехнології“ (номер державної реєстрації 0106U003670); НТП “Сільськогосподарська біотехнологія“ на 2006–2010 рр., за завданнями: “Розробити новітні та удосконалити існуючі біотехнології одержання екологічно пластичного оздоровленого лінійного матеріалу цибулевих рослин для прискореної гетерозисної селекції» (номер державної реєстрації 0106U003668), “Для оптимізації трансгресивної і інтрогресивної селекції дослідити закономірності морфогенезу в культурі ізольованих пиляків культурних форм та віддалених гібридних зародків томата *in vitro*“ (номер державної реєстрації 0106U003666), “Розробити способи створення нових форм моркви та томата, стійких до абіотичних та біотичних факторів середовища за допомогою клітинної селекції

in vitro“ (номер державної реєстрації 0106U003667), НТП “Овочівництво“ 2006–2010 рр. “Створити лінійний матеріал дворічних овочевих рослин (моркви, цибулі ріпчастої та капусти головчастої) на основі експериментальної гаплоїдії, клітинної селекції в культурі *in vitro* для прискореної гетерозисної селекції, розробити математико-статистичні моделі прогнозу основних господарсько-цінних ознак“ (номер державної реєстрації 0106U003669); ПНД 23 “Сільськогосподарська біотехнологія“ 2011-2015 рр., за завданнями: “Біолого-імунологічне забезпечення селекційного процесу пасльонових культур з визначенням нових генетичних джерел для створення стійких гетерозисних гібридів, сортів“ (номер державної реєстрації 0111U005086), “За рахунок застосування методів ізольованих тканин і клітин та молекулярного маркування розробити способи створення покращених форм дворічних овочевих рослин (моркви, капусти головчастої, цибулі ріпчастої) для гетерозисної селекції (номер державної реєстрації 0111U005093); ПНД 17 “Овочеві і баштанні культури“ 2014-2015 рр. “Оптимізація біотехнологічних прийомів для створення клітинних ліній пасльонових, гарбузових і баштанних видів рослин“ (номер державної реєстрації 0114U002398).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – теоретичне обґрунтування закономірностей морфогенезу в культурі ізольованих клітин і тканин *in vitro* та розробка методів прискореного створення конкурентоздатних високоадаптивних, стійких до хвороб нових генотипів овочевих рослин родин *Solanaceae* Gals. (томат, перець, баклажан), *Alliaceae* L. (часник, цибуля шалот, цибуля ріпчаста), *Asteraceae* Dumort. (якон), *Apiaceae* Lindl. (морква), *Cucurbitaceae* Juss. (огірок, гарбуз, кавун) та їх ідентифікація молекулярно-генетичними методами.

Для досягнення поставленої мети вирішували такі завдання:

- розробити способи подолання органічного спокою насіння колекційних зразків томата, перцю та баклажана в культурі *in vitro*;
- розробити методичні підходи використання клітинних технологій *in vitro* для інтродукції нових видів овочевих культур із вегетативним типом розмноження;
- встановити оптимальні умови короткострокового та тривалого зберігання колекційних зразків і дослідити вплив застосованих прийомів на варіювання кількісних ознак пробіркових клонів в умовах *in vitro* й *ex vitro*;
- розробити методичні підходи використання методу ембріокультури в культурі *in vitro* для подолання постгамної несумісності за міжвидової гібридизації томата, гарбуза та баклажана;
- визначити умови створення та розмноження тетраплоїдних форм кавуна в культурі *in vitro*;
- розробити експрес-методи оцінки та добору джерел стійкості до альтернаріозу (томат, морква) і фузаріозного в’янення (огірок, томат, баклажан); визначити кореляційні параметрами розвитку експлантатів (калюсів, верхівок пагонів, рослин-регенерантів) і морфологічними й агробіологічними ознаками

отриманих з них рослин у польових умовах;

– оптимізувати способи створення подвоєних гаплоїдів методами андрогенезу та гіногенезу (умови вирощування донорського матеріалу, поживні середовища) та визначити ефективні концентрації селективних агентів для добору регенерантів із перспективними для селекції ознаками;

– оптимізувати та стандартизувати методики клонального мікророзмноження в культурі *in vitro* для прискороного розмноження перспективних генотипів овочевих культур із високим коефіцієнтом розмноження та поліпшеними параметрами якості пробіркового матеріалу;

– оцінити перспективи застосування мікросателітних маркерів для ДНК-паспортизації генотипів овочевих культур і стандартизувати технологію її проведення;

– дати господарську оцінку дібраному та розмноженому біотехнологічними методами вихідному матеріалу, виділити перспективні джерела та розрахувати економічний ефект від упровадження в селекційний процес нових біотехнологічних способів.

Об'єкт досліджень – клітинні та ДНК-технології в селекції та насінництві овочевих культур.

Предмет досліджень – закономірності та мінливість цінних господарських ознак зразків овочевих культур у культурі *in vitro*, удосконалення селекційних схем, методів оцінки, добору й ідентифікації, виділення та розмноження вихідного матеріалу для сортової та гібридної селекції.

Методи досліджень: методи культури органів і тканин – культура соматичних тканин і клітин, ембріокультура, клональне мікророзмноження, мутагенез, андрогенез, гіногенез, клітинна селекція *in vitro*; метод ПЛР з використанням МС-маркерів; *польові* – морфо-біологічна оцінка селекційного матеріалу овочевих рослин; *вимірювально-ваговий* – визначення урожайності овочевих видів рослин і фізичних властивостей насіння; *біохімічні* – оцінка біохімічного складу овочевих рослин; *розрахункові* – обчислення економічної ефективності; *математико-статистичні* – виявлення мінливості цінних господарських ознак колекційних і селекційних зразків овочевих видів рослин, кореляційних зв'язків між якісними та кількісними ознаками, оцінка достовірності отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у вирішенні важливої наукової проблеми щодо інтенсифікації процесу створення та розмноження висококонкурентних генотипів овочевих культур новою технологією селекційного процесу з використанням біотехнологічної ланки.

Вперше в Україні встановлено оптимальні умови для клонального мікророзмноження, калюсогенезу та морфогенезу овочевих рослин родин *Solanaceae* Gals., *Alliaceae* L., *Asteraceae* Dumort, *Apiaceae* Lindl., *Cucurbitaceae* Juss. і, враховуючи біологічні особливості кожної культури розроблено протоколи поживних середовищ, які забезпечують високий коефіцієнт регенерації в культурі *in vitro* перспективних для селекції та насінництва

генотипів. Розроблено наукові підходи до використання культури ізольованих тканин і клітин *in vitro* для подолання органічного спокою колекційних зразків насіння томата, перцю, баклажана, який полягає в екзогормональній стимуляції проростання зрілих зародків на поживних середовищах. Визначено ефективність включення процесу депонування клонів пробіркових рослин *in vitro* (склад поживних середовищ, температурні режими культивування) до системи середньострокового зберігання генетичних колекцій. Встановлено параметри способу тривалого зберігання меристем колекційних зразків часнику в умовах криогенних температур. Доведено можливість використання колекції пробіркових рослин для інтродукції нових овочевих культур із вегетативним типом розмноження на прикладі культури якона (*Polymnia sonchifolia*). Визначено ефективні концентрації культуральних фільтратів і схеми клітинної селекції для скринінгу та добору джерел стійкості огірка, томата, баклажана до грибів роду *Fusarium*, томата і моркви – до грибів роду *Alternaria*. Встановлено зв'язки між параметрами експлантатів в ізольованій культурі на селективних середовищах та отриманих із них рослин покоління R₁ у польових умовах. Визначено умови культивування недорозвинених зиготичних зародків міжвидових гібридів томата, гарбуза, баклажана методом ембріокультури, оптимальний склад поживних середовищ для їх збереження, розмноження та маркерні ознаки для діагностики гібридності пробіркового матеріалу. Доведено ефективність використання клітинних технологій *in vitro* для розмноження тетраплоїдних форм кавуна.

Розроблено нові схеми застосування біотехнологічних методів у селекційному процесі, які забезпечили створення 45 клітинних ліній та 4 сортів.

Удосконалено методичні підходи щодо розмноження цінного селекційного матеріалу в культурі *in vitro* та умов адаптації пробіркових рослин у кокосовому субстраті, який забезпечує оптимальні умови для пристосування вкорінених рослин-регенерантів із культури *in vitro* до умов *in vivo*.

Набули подальшого розвитку наукові положення про оптимізацію складових процесу отримання подвоєних гаплоїдів моркви методом гіногенезу, томата – андрогенезу.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено та впроваджено в наукові дослідження 10 способів, серед яких п'ять способів використовуються у селекції стійких до біотичних факторів генотипів: “Спосіб одержання клітинних ліній овочевих рослин родини *Solanaceae* L. в культурі *in vitro*“ (патент на корисну модель № 81587); “Спосіб створення фузаріозостійкого вихідного матеріалу пасльонових овочевих культур (томат, баклажан, перець)“ (патент на корисну модель № 89518); “Спосіб створення фузаріозостійкого вихідного матеріалу огірка“ (патент на корисну модель № 106769); “Спосіб створення стійких до альтернаріозу вихідних селекційних форм томата“ (патент на корисну модель № 62592); “Спосіб створення стійких проти альтернаріозу форм моркви у культурі *in vitro*“ (патент на корисну модель № 91923), які прискорюють тривалість добору джерел стійкості до хвороб генотипів у 2-3 рази.

Ще два способи: “Спосіб створення інбредних ліній цибулі ріпчастої“ (патент на корисну модель № 79688) та “Спосіб індукції новоутворень у культурі насіннєзародків моркви *in vitro*“ (патент на корисну модель № 30285), використовуються в гетерозисній селекції для прискорення генетичної стабілізації лінійного матеріалу дворічних овочевих культур. Для створення нових вихідних форм для селекції розроблено “Спосіб одержання гібридних рослин несумісних видів баклажана роду *Solanum L.*“ (патент на корисну модель № 79677), який дозволяє отримати на 80 % більше рослин міжвидових гібридів. Для підвищення ефективності клонального мікророзмноження розроблено “Спосіб підвищення адаптації до умов *in vivo* клонально мікророзмножених *in vitro* пробіркових рослин картоплі та цибулі ріпчастої“ (патент на винахід № 83840). Один спосіб “Спосіб кріоконсервування методом вітрифікації меристем часнику сорту Мерэф’янський білий“ (патент на корисну модель № 22540) розроблено для зберігання колекційних зразків в умовах криогенних температур.

Розроблені та впроваджені у селекційний процес овочевих культур методичні підходи сприяють збереженню генофонду, створенню нових високо адаптивних джерел, відтворюваності і якості проведених біотехнологічних досліджень на етапах генетичної стабілізації, ідентифікації і розмноження, які дозволили створити цінні для селекції лінії та високоврожайні сорти. Результати досліджень висвітлено у двох монографіях та дев’яти методичних рекомендаціях: “Методика досліджень в культурі ізольованих тканин овочевих рослин”, 2004; “Методичні рекомендації з середньотривалого зберігання колекційних зразків часнику в умовах *in vitro*”, 2010; “Науково-практичні підходи до ведення селекції і насінництва часнику звичайного (*Allium sativum L.*)”, 2010; “Молекулярно-генетичний метод ідентифікації сортів і гібридів томата”, 2010; “Методичні рекомендації з одержання і розмноження в культурі *in vitro* рослин міжвидових гібридів томата”, 2010; “Клітинні технології створення вихідного селекційного матеріалу основних овочевих рослин в культурі *in vitro*”, 2013; “Збереження насіння пасльонових культур у стані життєздатності та генетичної автентичності”, 2013; “Біотехнологічний спосіб створення поліплоїдних форм кавуна”, 2015; “Біотехнологічний спосіб подолання постгамної несумісності під час міжвидової гібридизації гарбуза в культурі *in vitro*”, 2015. Розроблені методичні рекомендації впроваджено в навчальний процес Харківського національного аграрного університету ім. В. В. Докучаєва, Державного вищого навчального закладу «Український державний хіміко-технологічний університет», Полтавської державної аграрної академії, Південного філіалу Національного університету біоресурсів і природокористування для підготовки студентів та аспірантів, а також у науковій роботі викладачів кафедр..

Розроблено 2 державних стандарти: ДСТУ 7645:2014 “Культури овочеві. Метод вегетативного розмноження “; ДСТУ 8667:2016 “Культури овочеві. Ідентифікація сортів і гібридів. Молекулярно-генетичний метод “.

Створено комплексно-цінні лінії томата, баклажана, огірка, перцю, які поповнили генофонд цих культур в Україні; лінії зареєстровано в НЦГРРУ та є складовими об'єктами національного наукового надбання України. Створений вихідний матеріал (45 клітинних ліній) упроваджено у селекційні програми ІОБ НААН, Дніпропетровської та Донецької дослідних станцій ІОБ НААН, Уманського національного університету садівництва, що підтверджується відповідними актами. На основі розроблених методичних підходів виведено нові, адаптовані до умов Лісостепу сорти томата Гурман, Севен, Будда, сорт цибулі шалот Ліра.

Особистий внесок. Безпосередньо автором проаналізовано сучасний стан проблеми, розроблено теоретичні та практичні напрями власних досліджень, розроблено їх програму, виконано лабораторні та польові дослідження, опрацьовано, узагальнено та проаналізовано одержані дані, підготовлено матеріали до друку. Друковані праці за темою дисертації підготовлено самостійно та у співавторстві. В роботах, опублікованих у співавторстві, частка автора складає 20-90 % і полягає у плануванні, виконанні експериментальних досліджень, узагальненні отриманих результатів. У розроблених способах частка авторства складає 30-50 %, у створенні вихідного матеріалу для селекції (джерела цінних ознак, лінії, сорти) – 5 -20 %.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень схвалено на засіданнях вченої ради, методичної комісії відділу селекції ІОБ НААН (Мерефа, 2003–2016). Висновки роботи оприлюднено на Міжнародній науково-практичній конференції «Генетичні ресурси для адаптивного рослинництва: мобілізація, інвентаризація, збереження і використання» (Оброшино, 2005); Міжнародній науково-практичній конференції «Иновационные технологии в селекции и семеноводстве сельскохозяйственных культур» (Москва, 2006); Міжнародній науковій конференції «Accelerating technology transfer in Central and East European onion production» (Харків, 2006); II Міжнародній конференції «Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке. Состояние, проблемы и перспективы» (Санкт-Петербург, 2007); Міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Екологізація сталого розвитку і ноосферна перспектива інформаційного суспільства» (Харків, 2008); V Міжнародній конференції «Геном рослин» (Одеса, 2008); Міжнародній конференції «Насінництво: теорія і практика прогнозування продуктивності сортів і гібридів за якістю насіння та садивного матеріалу» (Київ, 2009); Міжнародній науково-практичній конференції «Підвищення стійкості рослин до хвороб і екстремальних умов середовища в зв'язку із задачами селекції» (Харків, 2013); Міжнародній науково-практичній конференції «Селекційні і технологічні інновації в овочівництві, резерви збільшення виробництва продукції та насіння» (Харків, 2013); I Международной научно-практической конференции «Генофонд и селекция растений» (Новосибирск, 2013); Міжнародній науково-практичній конференції «Створення генофонду овочевих і баштанних культур з високим адаптивним потенціалом та виробництво

екологічно чистої продукції (Олександрівка, 2014); Міжнародній науковій конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів» (Чернівці, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Теоретичні основи оптимізації селекційного процесу основних видів сільськогосподарських рослин» (Харків, 2015); засіданнях координаційно-методичних рад у Селекційно-генетичному інституті – Національному центрі насіннезнавства та сортовивчення НААН (Одеса, 2006-2013) та НЦГРРУ (Харків, 2003-2010).

Публікації. Основні положення дисертації опубліковано в 65 наукових працях, серед яких дві монографії, 19 статей у наукових фахових виданнях України, чотири статті в інших наукових виданнях України, шість статей в наукових іноземних виданнях, один патент на винахід, дев'ять патентів на корисні моделі, дев'ять методичних рекомендацій, 2 ДСТУ, 12 тез доповідей, 1 авторське свідоцтво на сорт, 3 свідоцтва на реєстрацію зразків генофонду рослин України.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 453 сторінках комп'ютерного тексту, в тому числі основного тексту – 333 сторінки, включає 91 таблицю, 55 рисунків. Містить вступ, 8 розділів, висновки, рекомендації для селекційної практики, 17 додатків. Список використаних джерел налічує 475 найменувань, у тому числі 226 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СЕЛЕКЦІЇ ТА НАСІННИЦТВА РІЗНИХ ВИДІВ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР І ШЛЯХИ ЇХ ВИРІШЕННЯ МЕТОДАМИ БІОТЕХНОЛОГІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

У результаті аналізу сучасних літературних джерел визначено завдання й обґрунтовано шляхи вирішення проблеми інтенсифікації процесу створення та розмноження висококонкурентних генотипів овочевих культур за новою технологією селекційного процесу з використанням біотехнологічної ланки під час створення, розмноження й ідентифікації вихідного матеріалу для селекції. Існують проблемні питання, котрі стосуються теоретичного обґрунтування використання методів біотехнології в селекційній практиці та насінництві овочевих рослин родин *Solanaceae* Gals. (томат, перець, баклажан), *Alliaceae* L. (часник, цибуля шалот, цибуля ріпчаста), *Asteraceae* Dumort. (якон), *Apiaceae* Lindl. (морква), *Cucurbitaceae* Juss. (огірок, гарбуз, кавун), вирішення яких і було завданням наших досліджень, націлених на пошук прийомів, які дозволять створити генотипи з високими параметрами продуктивності, якості, особливо в контексті вирішення проблем, пов'язаних із глобальними змінами клімату. Тому розробка наукового обґрунтування використання комплексу оптимізованих методів біотехнології в селекції та насінництві овочевих видів рослин була основним завданням наших досліджень.

МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКА Й УМОВИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріали та методика. Дослідження виконано впродовж 2003-2015 рр. у лабораторії генетики, генетичних ресурсів і біотехнології Інституту овочівництва і баштанництва НААН у лабораторних і ґрунтових умовах (відкритому і захищеному ґрунті).

Дослідним матеріалом слугували 259 колекційних та 259 селекційних зразків поколінь F₁-F₇, 44 мутантних та 5 стерильних форм, 1 пробірковий клон, 22 міжвидових гібриди овочевих культур, 4 дикорослих вида.

Під час проведення досліджень у культурі *in vitro* керувалися стандартними та авторськими методиками. Для отримання експлантатів у рослин як донорські органи використовували насіння, недозрілі зародки, стерильні проростки ювенільних експлантатів, молоді листки, суцвіття та коренеплоди, для стерилізації яких використовували 1 % розчини гіпохлориту натрію або 0,1 % водний розчин хлориду ртуті (II). Модифікуючи склад поживних середовищ MS (Т. Murashige, 1962), В 5 (О. Gamborg, 1968), MSM (К. Masuda, 1981) вивчали вплив регуляторів росту (2,4-Д, НОцК, ІОцК, ІОлК, БАП, кінетину) на калюсогенну та морфогенну здатності різних типів експлантатів у культурі *in vitro*.

Адаптацію розмножених в культурі *in vitro* рослин до ґрунтових умов проводили у субстратах, виготовлених з дернової землі, піску, торфу та кокоґрунту в різних співвідношеннях. Після 3-4 тижнів адаптації рослини покоління R₀ пересаджували в ґрунтові умови (в теплицю чи умови відкритого ґрунту), в оптимальні для кожного виду овочевих рослин строки.

Дослід 1. Для відновлення схожості насіння колекційних зразків томата, перцю, баклажана в культурі ізольованих тканин *in vitro* використовували зразки зі схожістю менше 10 %. На поживні середовища з макро- та мікроелементами за прописом MS (1962), вітамінами, сахарозою, агаром, регуляторами росту (ІОцК, НОцК, кінетином, гібереловою та янтарною кислотою висаджували від 50 до 100 насінин кожного зразка. Усі експерименти проводили у триразовій повторності. Отримані рослини-регенеранти (пагони) додатково розмножували живцюванням та дорощували на рідкому безгормональному живильному середовищі MS за розробленим способом. Всього (2003–2015 рр.) для відновлення схожості із колекції НЦГРУ на поживні середовища висаджено: 165 зразків томата (культурні та дикорослі форми), 105 зразків перцю солодкого, в тому числі 5 дикорослих форм, 45 зразків баклажана.

Дослід 2. Розробка способу кріоконсервування колекційних зразків часнику здійснювалась на апікальних меристемах зубків розміром від 0,5 до 4,0 мм. Перед кріоконсервуванням експлантати попередньо обробляли різними кріопротекторними розчинами: [PVS N (1 М сахарози, 2 М гліцерину та 2,5 М етиленгліколю на поживному середовищі), 1,2 пропандіолу та 1,2 бутандіолу]. Через 5 діб після розморожування збереженість кріоконсервованих меристем оцінювали мікроскопією. Життєздатність допомагали визначати спостереження за розвитком збережених меристем. Одержані результати визначали наприкінці

кожного пасажу – через 50–60 діб культивування.

Дослід 3. Депоновані у культурі *in vitro* рослини-регенеранти часнику пересаджували на поживні середовища MS із різним мінеральним складом (1/2MS і MS) і депонували за температури 4°C у темноті впродовж 3 – 12 міс., на середовищі MS з різними концентраціями сахарози (60, 90 і 120 г/л) за стандартної температури. У контрольному варіанті рослини депонували за стандартної температури (22-24 °C) на середовищі MS з 45 г/л сахарози. Після проходження терміну депонування визначали його вплив на життєздатність рослин-регенерантів.

Дослід 4. Інтродукцію нової овочевої культури якона (*Polymnia sonchifolia* Роерр.) здійснювали із використанням пробіркових рослин, які були отримані за міжнародним обміном. Садивний матеріал якона розмножували активізацією латеральних й апікальних меристем живців рослин-регенерантів на рідких й агаризованих безгормональних поживних середовищах MS, доповнених сахарозою та вітамінами.

Дослід 5. Селективними агентами для добору джерел стійкості до некротрофних патогенів, грибів роду *Alternaria* Nees та *Fusarium* Link. були КФ (культуральний фільтрат) і ГМ (гомогенат міцелію) грибів, отримані за методикою В. Й. Білай (1977). Донорським матеріалом для клітинної селекції використовували такі типи експлантатів: для томата, баклажана – сім'ядолі 7-10-денних стерильних проростків; для моркви – соматичні калюси з коренеплодів; для огірка – апікальні меристеми з проростків насіння. Еталонними зразками в дослідженнях з клітинної селекції слугували гібриди з визначеною високою польовою стійкістю до хвороби. Стійкі до КФ і ГМ збудників хвороб клітинні варіанти добирали за одно- та двоступінчастими схемами. Польову оцінку рівня стійкості у дібраного матеріалу здійснювали на рослинах поколінь R₁-R₂ в умовах жорстких природних або штучних інфекційних фонів за “Методикою дослідної справи в овочівництві і баштанництві“ (2001).

Дослід 6. Подолання постгамної несумісності між культурними та дикорослими видами томата, баклажана та гарбуза здійснювали шляхом використання гібридних комбінацій: томата - 1) *L. esculentum* / *L. peruvianum*; 2) *L. esculentum* / *L. chilense*; 3) *L. esculentum* / *L. pennellii*; гарбуза: 1) *C. maxima* (лінія Кр-РЛ) / *C. pepo* (сорт Маслянка); та *C. maxima* (лінія Кр-РЛ) / *C. moschata* (сорт Бальзам); баклажана: 1) *S. melongena* (сорт Алмаз) / *S. macrocarpon*; 2) *S. melongena* / *S. integrifolium*; 3) *S. melongena* / *S. aethiopicum* gr. Gilo; 4) *S. melongena* / *S. sisimbrifolium*; 5) *S. melongena* / *S. linnaeum*, зародки яких видаляли з недозрілих плодів через 15 – 30 діб після запилення та ініціювали її проростання культивуванням на твердих поживних середовищах MS, модифікованих регуляторами росту. Для спрощення процедури ідентифікації гібридності під час інтрогресивної селекції материнськими формами використовували культурні рослини з маркерними ознаками. Отримані проростки міжвидових гібридів розмножували мікроживцюванням на безгормональному середовищі MS.

Дослід 7. Створення тетраплоїдної материнської форми насіння кавуна проводили обробкою у 0,05 та 0,1 % розчині колхіцину. Дібрані за маркерними

ознаками й ідентифіковані за цитологічним методом тетраплоїдні рослини вирощували розсадним способом. Для розмноження створених тетраплоїдних форм у культурі ізольованих тканин *in vitro* стерилізоване насіння висаджували в пробірки на модифіковане регуляторами росту (БАП і ЮцК) середовище $\frac{1}{4}$ MS.

Дослід 8. Гаплоїдні рослин томата отримували методом андрогенеза з донорських гібридних рослин поколінь F₁-F₃, F₇ селекційного розсадника. Перевагу надавали гібридам з маркеними генами. Регенерацію андроклінних рослин томата здійснювали індукуванням органогенезу.

Гіногенез моркви індукували попереднім культивуванням бутонів на поживному середовищі B5 без гормонів. Для індукції калусогенезу з бутонів виділяли насіннезародки, які культивували на індукційному середовищі B5 з додаванням 2,4-Д, кінетину та гібереліну. Регенерували гіногенні рослини-регенеранти індукцією соматичного ембріогенезу з калусної тканини моркви [на поживному середовищі $\frac{1}{2}$ B5 з концентрацією хлориду кальцію 170,0 мг/л без регуляторів росту].

Дослід 9. Клональне мікророзмноження цибулі шалоту і часнику здійснювали меристемами зубків, цибулинами, повітряними цибулінками та стрілкам суцвіть у фазі закритої обгортки. Для їх активізації біоматеріали висаджували на модифіковані цитокиніном БАП (0,5-4 мг/л) й ауксинами (ЮцК та НОцК – 0,1-2 мг/л) тверді поживні середовища MS. Отримані конгломерати пагонів для додаткового розмноження та підрощування через кожні 4-6 тижнів розділяли та пересаджували на свіже середовище з половинним вмістом регуляторів росту. Для укорінення розмножених мікропагонів біоматеріал висаджували на середовище MS, доповнене ауксинами, або на безгормональне середовище MS. Пробіркові рослини стерильних форм томата розмножували та депонували в культурі *in vitro* живцюванням на рідкому й твердому безгормональному середовищі MS із додаванням вітамінів (по 1 мг/л) і 3 % сахарози.

Дослід 10. ДНК-ідентифікацію генотипів цибулі ріпчастої здійснювали мікросателітним аналізом 8 районованих сортів селекції ІОБ НААН методом ПЛР. Розмір фрагментів ампліфікації визначали за використання комп'ютерної програми GeneAnalyzer (2010), генетичні дистанції визначали та кластерний аналіз здійснювали за програми MEGA 6.0. Філогенетичну дендрограму реконструювали за методом UPGMA. Реєстрували генотип записом формул з відображенням алельного складу 5 локусів.

Дослід 11. Селекційно-господарські ознаки дібраного біотехнологічними методами рослинного матеріалу оцінювали за методичними рекомендаціями і розробками ВІР. Морфо-біологічний опис сортів, ліній та гібридів здійснювали згідно відповідній методиці проведення експертизи сортів на відмітність, однорідність та стабільність (ВОС-тест).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили методом дисперсійного аналізу.

Ґрунтово-кліматичні умови проведення досліджень. Ґрунт дослідних ділянок представлено чорноземами малогумусними середньосуглинковими.

Погодні умови за період проведення досліджень були досить різноманітними, що дало змогу провести об'єктивну оцінку селекційної цінності створеного в культурі *in vitro* матеріалу та виділити високоадаптивні джерела господарських ознак.

КЛІТИННІ ТЕХНОЛОГІЇ В РОЗМНОЖЕННІ ТА ЗБЕРІГАННІ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ОВОЧЕВИХ РОСЛИН РОДИН *SOLANACEAE* *GALS.*, *ALLIACEAE* L. І *ASTERACEAE* DUMORT.

Розробка біотехнологічних способів відновлення схожості насіння колекційних зразків томата (*Lycopersicon* Tourn.), перцю (*Capsicum* Tourn.), баклажана (*Solanum melongena* L.) у культурі ізольованих тканин *in vitro*.

Для відновлення схожості насіння томата, перцю, баклажана з колекції НЦГРРУ, що зберігалось понад 10 років у нерегульованих умовах застосовано стимуляцію проростання зрілих зародків рослин у культурі *in vitro*. Даний метод базується на можливості подолання органічного спокою зародків насінин за рахунок тривалого культивування стерилізованого насіння за оптимальних температурних умов на поживних середовищах. Для відновлення схожості насіння томата встановлено ефективність використання середовища MS без додавання регуляторів росту. Визначено, що насіння томата, термін зберігання якого перевищує 15 років, втрачає здатність до проростання як у ґрунтових умовах, так і в культурі *in vitro*. Використання культури гіпокотильного калюсу під час відновлення схожості насіння цінних мутантних зразків томата дозволило нам додатково отримувати до 23 шт. рослин-регенерантів з однієї насінини, що надзвичайно цінно у випадках розмноження колекції мутантних зразків із мінімальної кількості насіння. Живцювання в культурі *in vitro* стерильних паростків із пророслих насінин колекційних зразків мутантних форм томата забезпечило стабільне розмноження цінного матеріалу для використання в генетико-селекційних фундаментальних дослідженнях.

За використання біотехнологічних методів відновлено схожість дикорослих видів томата та створено колекцію пробіркових рослин *S. pennellii* Cogn. та *L. minutum* Rick., яку впродовж 2008-2010 рр. використовували у фундаментальних наукових розробках із культурою томата.

Для відновлення схожості насіння колекційних зразків перцю *Capsicum* Tourn. оптимізацію поживних середовищ здійснювали за рахунок їх модифікації екзогенними регуляторами росту та янтарною кислотою, застосування яких у поживних середовищах вплинуло на регуляторні механізми, пов'язані з порушенням органічного спокою зрілих зародків. Найкращі показники пророслого насіння забезпечили середовища: MS, модифіковане ГК₃ (0,1 мг/л) і кінетином (3 мг/л) – 38,7; та MS, модифіковане янтарною кислотою (3 мг/л) – 35,8, тоді як на контрольному варіанті цей показник становив 28,2 %.

Пророщування стерилізованого колекційного насіння баклажана на безгормональному поживному середовищі MS за температури 25С° забезпечило формування від 1 до 4 % проростків у 27 % висаджених генотипів. Під час культивування аналогічних колекційних зразків баклажана за змінних

температур відсоток пророслого насіння збільшувався до 8, 8 % у 84 % зразків. Всього за роки проведення досліджень відновлено схожість 118 зразків насіння з колекції НЦГРРУ, в тому числі: 68 колекційних зразків томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.), у тому числі 36 мутантних зразків та 2 дикорослих види томата (*S. pennellii*.Cor. і *L. minutum* Rick); 28 зразків перцю солодкого (*Capsicum annum* L.) і 2 дикорослих види (*Capsicum pubescens*, *Capsicum frutescens*); 20 зразків баклажана (*Solanum melongena* L.). Насіння всіх зразків передано до лабораторії генетичних ресурсів рослин ІОБ НААН для подальшого використання в науковій роботі.

Зберігання колекційних зразків часнику (*Allium sativum* L.) в умовах кріогенних температур. Удосконалено спосіб тривалого зберігання колекційних зразків часнику, які мають високий рівень популяційного поліморфізму і є цінним джерелом генетичного різноманіття в умовах ультранизьких температур. Даний спосіб відпрацьовано під час використання в якості донорського матеріалу апікальних меристем часнику.

З метою зменшення пошкодження клітин після їх насичення кріопротекторними розчинами досліджено ефективність використання однокомпонентних (1,2-пропандіолу і 1,3-бутандіолу) і багатокомпонентних (розчин PVS N – 2М гліцерину+1М сахарози+2,5М етиленгліколю) кріозахисних речовин. Життєздатність меристем ярого часнику після обробки їх кріопротекторним розчином PVS N становила 37,5 %, тоді як в абсолютному контролі (обробка кріопротекторами без заморожування) – 100 %, що засвідчує низький цитотоксичний ефект розчину для обробки меристем перед кріозаморожуванням (табл.1). Найвищий показник збереженості меристем

Таблиця 1 – Вплив кріопротекторних речовин на життєздатність і ріст апікальних меристем часнику ярого сорту Мануйлівський після 55 діб культивування (середнє за 2007-2009 рр.)

Кріопротекторна речовина, тип контейнера	Кількість життєздатних меристем, %	Довжина, мм	
		пагона	Кореня
Без заморожування і без обробки кріопротекторами (абсолютний контроль)	100	54,3±4,1	19,5±3,9
15 % водний розчин 1,2-ПД (контроль 1)	100	41,0±3,8	10,8±2,7
1,2-ПД-пк*	14,3±3,5	7,8±2,1	0
1,2-ПД-ак**	44,0±5,3	36,1±4,5	7,5±2,5
PVS N (2М гліцерину+1М сахарози+2,5М етиленгліколь на середовищі MS (контроль 2)	100	39,7±3,2	21,2±4,0
PVS N-пк*	37,5±5,1	7,7±1,9	0
PVS N-ак**	75,3±6,7	32,3±5,3	15,0±3,3
15% водний розчин 1,3 БД (контроль 3)	100	48,0±4,8	17,5±4,2
1,3-БД-пк*	0	-	-
1,3-БД-ак**	0	-	-

Примітка. * Пк – поліетиленові контейнери;

**ак – алюмінієві тонкостінні контейнери.

часнику (75,3 %) вдалось отримати за рахунок більш швидкого охолодження матеріалу (до 1000°C за хвилину). Його забезпечило використання алюмінієвих контейнерів місткістю 0,1мм³. Використання 15 % водного розчину 1,2-пропандіолу забезпечило задовільні результати – 44,0 % життєздатних меристем після кріозаморожування. Обробка меристем 15 % водним розчином 1,3-бутандіолу виявилось не ефективною.

Визначено, що культивувати деконсервовані меристеми часнику доцільно на поживному середовищі MS, модифікованому 0,5 мг/л кінетину, що дозволяє одержати кращі морфометричні показники регенованих рослин.

Після кріоконсервування методом вітрифікації найбільшу життєздатність мали меристеми часнику розміром 2-3 мм (60-70 %). У меристем 3,5-4 мм був високий регенераційний потенціал, але низька життєздатність (менш ніж 25 %), оскільки вони гірше насичувалися вітрифікуючим розчином і гинули під час заморожування в рідкому азоті. У меристем розміром 0,5 мм за даних умов дослідження регенераційний потенціал був відсутній через сильну цитотоксичну дію від кріопротектора.

Визначення умов тривалого депонування активних *in vitro* колекцій.

На прикладі культури часнику оцінено ефективність різних способів депонування зразків пробіркових колекцій. Застосовані прийоми сприяли уповільненню ростових процесів у депонованому матеріалі та збереженню рослин протягом 12 місяців без пересаджень. Через 12 місяців депонування максимальну збереженість життєздатних клонів пробіркових рослин забезпечило культивування за температури 4 °C на середовищі ½ MS – 96,4±11,2% та за температури 22 °C на середовищі MS, доповненому 120 г/л – 84,9±4,7 % (рис. 1). Мінеральний склад поживних середовищ для депонування

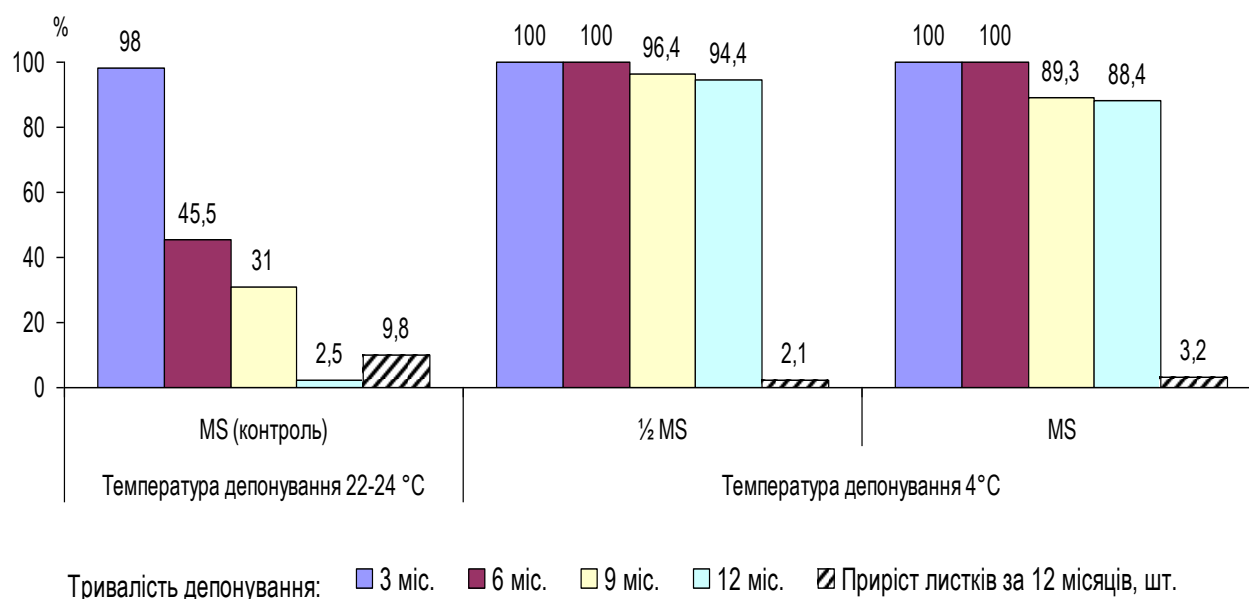


Рис. 1 Вплив умов тривалого депонування на життєздатність пробіркових рослин часнику озимого сорту Дюшес, % (2006-2009 рр.).

не чинив суттєвого впливу на життєздатність рослин і приріст листків. На поживному середовищі MS вона становила $88,4 \pm 1,8$ %. Гідратованих рослин у цих варіантах не зафіксовано. Мінімальна збереженість життєздатних клонів – $2,5 \pm 1,1$ % була в контрольному варіанті культивування біоматеріалу за температури 22 °C на середовищі MS, модифікованому 45 г/л сахарози. Максимальну кількість гідратованих рослин забезпечив цей варіант – $7,7 \pm 1,6$ %. Під час подальшого культивування рослини, депоновані за температури 4 °C, за силою росту поступалися рослинам, депонованим на середовищі MS, доповненому 120 г/л сахарози.

Різні способи підтримання колекцій пробіркових рослин часнику свідчать, що безпересадкове їх деponування впродовж 12 міс. за температури 4 °C на поживному середовищі $\frac{1}{2}$ MS дозволяє зменшити основні витрати порівняно із стандартним культивуванням (температура $22 - 24$ °C, пасажування кожні 4 тижні) на 63% , за деponування за стандартної температури на середовищах із високим вмістом сахарози – на 73% .

Порівняльна оцінка рівня збереження генетичної стабільності ознак колекційних зразків часнику покоління R_2 сорту Дюшес, розмножених і деponованих методами біотехнології, порівняно зі рослинами аналогічного генотипу, вирощеними за стандартною технологією в польових умовах, суттєвих морфологічних відмінностей у розмноженого в культурі *in vitro* генотипів не виявила. Це уможливорює включення процесу деponування в культурі *in vitro* клонів пробіркових рослин до системи середньострокового зберігання генетичних колекцій овочевих рослин з переважно вегетативним типом розмноження.

Інтродукція нової овочевої культури якона (*Polymnia sonchifolia* Роерр.). Нами розроблено нові підходи щодо інтродукції нових видів овочевих культур з високим вмістом біологічно цінних компонентів, представлених у вигляді пробіркових клонів.

Основне завдання первинного інтродукційного випробування – отримання життєздатного садивного матеріалу рослин-інтродуцентів здійснювали активізацією латеральних й апікальних меристем живців рослин-регенерантів на рідких й агаризованих безгормональних поживних середовищах MS, доповнених 3 % сахарози та вітамінами. Визначено, що на етапі масового розмноження рослин-регенерантів якона (січень-квітень) доцільно використовувати рідке безгормональне середовище MS, у квітні-грудні – агаризоване безгормональне середовище. Застосування останнього на етапі деponування сприяє зниженню швидкості росту латеральних меристем на 23% , дозволяє подовжити тривалість пасажу з 45 до 60 діб і забезпечує стабільне розмноження пробіркового клону зі збереженням високих показників його росту.

Високу ефективність забезпечив коко-грунт під час адаптації пробіркових рослин якона завдяки стерильності, високій повітроємності, водоутримувальній здатності та гідрофільності – уможливив отримувати до 98 % приживлених рослин і високі показники розвитку пробіркового матеріалу для проведення первинної інтродукції нової овочевої культури з вегетативним типом розмноження.

Первинне інтродукційне випробування якона в агрокліматичних умовах Східного Лісостепу України виявилось прийнятним для вирощування культури у відкритому ґрунті. Лімітованими факторами, які впливають на продуктивність рослин роду *Polymnia*, є тривалість вегетаційного періоду (не терпить низьких температур), та схема вирощування рослин.

Аналіз біометричних ознак рослин пробіркових клонів якона у польових умовах не виявив суттєвих відмінностей між рослинами, що свідчить про внутрішньоклонову однорідність матеріалу. Рослини пробіркового клону рослин-регенерантів якона постійно підтримуються у життєздатному стані в лабораторії генетики, генетичних ресурсів і біотехнології ІОБ НААН, ще їх надано для використання в наукових дослідженнях Уманського національного університету садівництва та Національного фармацевтичного університету.

СТВОРЕННЯ ДЖЕРЕЛ СТІЙКОСТІ ДО НЕКРОТРОФНИХ ПАТОГЕНІВ ГРИБІВ РОДУ *ALTERNARIA* NEES ТА *FUSARIUM* LINK. У КУЛЬТУРІ ІЗОЛЬОВАНИХ КЛІТИН І ТКАНИН *IN VITRO*

Розробка способів одержання джерел стійкості томата (*Lycopersicon esculentum* Mil) і моркви (*Daucus carota* L.) до грибів роду *Alternaria* Nees. Використання клітинних технологій для розширення генетичного різноманіття вихідних селекційних форм здійснено за рахунок різних селективних систем. Для проведення робіт з отримання стійких до біотичних стресових чинників рослин біотехнологічним способом спочатку розробили ефективні регенераційні системи *in vitro*. Модифікація поживного середовища MS регуляторами росту (2мг/л БАП + 4 мг/л ІОЦК) забезпечувала стабільні показники регенерації у генотипів різного походження, дозволила в двічі скоротити тривалість культивування рослин (від уведення в культуру *in vitro* до моменту одержання клітинних ліній), забезпечила до сьомого пасажу високі показники морфогенезу у великої кількості використаних експлантатів різних генотипів томата, за рахунок чого уможливила суттєво збільшити сумарний вихід пробіркових рослин (патент № 81587).

Виявлено існування залежності параметрів життєздатності сім'ядольних експлантатів томата від вмісту в середовищі селективних агентів. На середовищі з КФ у концентраціях 40 і 60 % відбувалось пригнічення калюсогенезу з сім'ядольних листків у більшості генотипів, тоді як на середовищі, доповненому 1 і 5 % ГМ, зниження його було слабовираженим. У чутливих до дії культурального фільтрату генотипів життєздатність на 40 % КФ становила 0–33 %, на середовищі з 60 % КФ – 0–18,3 %. У толерантних до селективних факторів генотипів, серед яких були зразки з визначеною польовою стійкістю до альтернаріозу, життєздатність сім'ядольних експлантатів становила 55,6–76,9 % на 40 % КФ і 50,0–61,5 % на середовищі з 60 % КФ (рис. 2).

У сприйнятливих до ранньої сухої плямистості генотипів зі збільшенням концентрації КФ і кратності добору упродовж репродукування істотно зменшувалася інтенсивність приросту об'єму калюсу та показників морфогенезу. У контрольному варіанті середовища (без селективного агента)

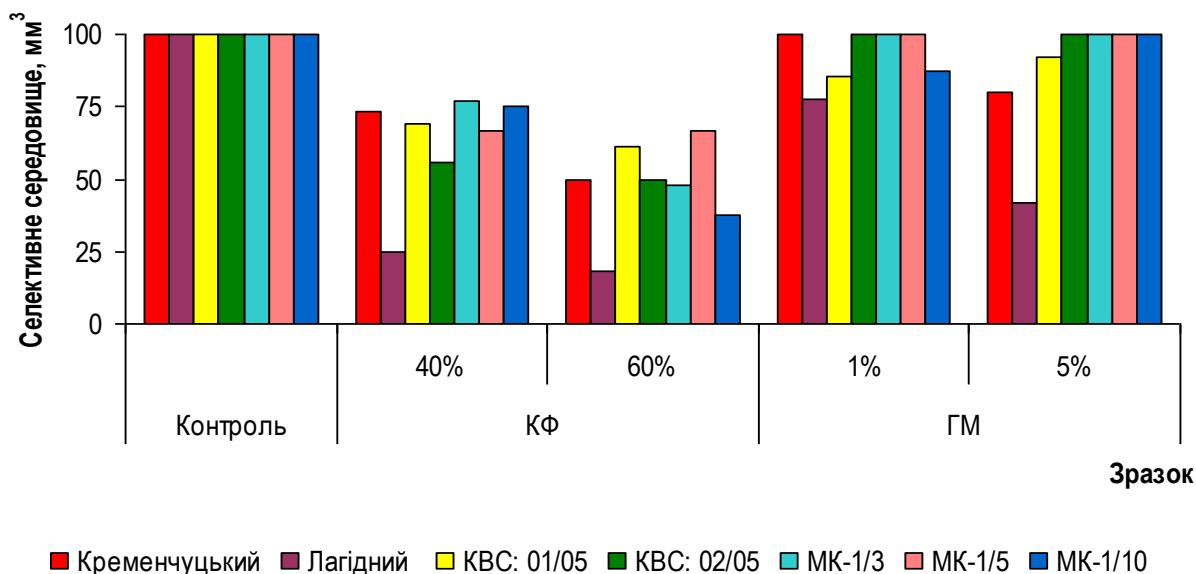


Рис. 2 Вплив різних концентрацій КФ і ГМ гриба *A. solani* на життєздатність сім'ядольних експлантатів томата в культурі *in vitro*, % (середнє за 2007-2010 рр.)

з калюсів отримано від 5,7 до 5,9 шт. регенерантів упродовж одного пасажу. На селективному середовищі з 40 % КФ регенеровано пагонів 2,3 – 3,4 шт. за 1-разового добору та 3,7 – 3,8 шт. – за 2-разового. На середовищі з 60 % КФ гриба *A. solani* на калюсах даних генотипів утворювалося за 1-разового добору 2,0 – 3,9 шт. за 2-разового – 1,4 – 2,0 шт. пагонів. Найвищі коефіцієнти регенерації з дібраних на селективних середовищах калюсів належали зразкам МК-1/1, МК-1/3, МК-1/5 і МК-1/10, створеним нами шляхом регенерації в культурі ізолюваних пиляків, а також сорту Кременчуцький.

Рослини-регенеранти томата покоління R_2 , які пройшли етап клітинного добору на стійкість до гриба *Alternaria solani* в природних умовах, мали різну чутливість дібраного в культурі *in vitro* матеріалу на ураження патогенною інфекцією. Це свідчить про генетичну мінливість клітинних ліній, дібраних на селективних середовищах. До групи з середньою стійкістю (5 балів) віднесено 19 зразків – 56%, ураженість яких становила 15,1 – 35%. До групи низькостійких (3 бали) потрапило 11 зразків – 32 %, ураженість яких грибом *A. solani* за природних умов дорівнювала 35,1–50 %. До групи високостійких (бал 7 за 9-бальною шкалою) потрапили 4 зразка – МК 1/1.17, МК 1/1.15, МК 1/5.30, МК 1/5.31, або 12 %, ураженість яких ранньою сухою плямистістю не перевищувала 15 % (табл. 2).

До групи сприйнятливих до хвороби варіантів увійшов лише один зразок томата, який дібрали на селективному середовищі з використанням КФ. Інші, дібрані на середовищах з КФ, зразки характеризувалися середнім і високим рівнями стійкості до альтернаріозу. Зразки, дібрані на середовищах з 1 і 5 % ГМ, мали невисоку стійкість.

Таблиця 2 – Ефективність отримання стійкого до *Alternaria solani* вихідного селекційного матеріалу томата цілеспрямованим багаторазовим індивідуальним добором у культурах *in vitro* й *in vivo* з мікроклонів R₂ сприйнятливих зразків андрогенного походження (середнє за 2010-2012 pp.)

Схема клітинної селекції	Клітинна лінія							
	МКА 1/15		МКА 1/17		МКА 1/530		МКА 1/531	
	Інтенсивність ураження хворобою							
	%	балів	%	Балів	%	балів	%	балів
Без добору (контроль)	63,7	3	79,2	1	83,9	1	81,7	1
1-разовий добір на 40 % КФ	42,2	5	52,2	3	50,0	5	62,7	3
2-разовий добір на 40 % КФ	31,2	5	31,0	5	33,8	5	37,8	5
2 разовий добір на 40 % КФ + добір після інокуляції в теплиці	20,0	7	20,5	7	12,0	7	24,7	7

Дібрані на селективних середовищах форми свідчать, що цілеспрямований багаторазовий індивідуальний добір стійких генотипів методами клітинної селекції з використанням фільтрату культуральної рідини ефективний для добору джерел стійкості до гриба *A. solani* (патент України № 62592). Завдяки швидкості й об'єктивності оцінки рівня стійкості він дозволяє за рік провести добори альтернативно стійкого вихідного матеріалу. Крім того, вказаний спосіб дозволяє зберегти цінний селекційний матеріал, отримувати з нього насіння і сприяє прискоренню процесу добору стійких форм у культурі *in vitro*.

За результатами клітинної селекції (використання 2-разового добору калюсів на селективному середовищі з 40 % КФ і добору у весняній плівковій теплиці після інокуляції міцеліально-споровою суспензією *A. solani*) виділено перспективні клітинні лінії МКА 1/15, МКА 1/17, МКА 1/530, МКА 1/531. Їх передано до НЦГРРУ та впроваджено в селекції. На лінію МКА -1/17 одержано свідоцтво Національного центру генетичних ресурсів № 1169.

Встановлено ефективність застосування клітинної селекції для підвищення стійкості до гриба *Alternaria radicina* M.D. et E. у створених методом гіногенезу в культурі *in vitro* інбредних ліній моркви зі зниженими імунними властивостями. Розроблена нами ефективна система розмноження моркви методом соматичного ембріогенезу уможливила отримувати калюсну культуру з соматичних і гіногенних тканин у достатній для проведення доборів кількості. Ефективною концентрацією для добору стійких до чорної гнилі генотипів моркви виявилась 30-40 % КФ гриба *A. radicina* M.D. et E., застосування якої за ступінчастої схеми 2-разового добору на селективних середовищах забезпечило достатні умови для

добору резистентних до токсинів гриба калюсних клонів, перспективних для створення джерел стійкості.

Встановлено, що 30 та 50 % КФ гриба *A. radicina* M.D. et E істотно пригнічували ріст соматичних калюсів, сформованих з тканин коренеплодів моркви. Так, середній за генотипами об'єм калюсів на середовищі з 30 % КФ становив 43,5%, (у 2,3 раза менше порівняно з контрольним), на середовищі з 50 % КФ – 27,4 % (у 3,6 раза менше).

Підтверджено негативний вплив попереднього культивування на селективному середовищі та генотипу моркви на регенерацію ембріодів з калюсів методом соматичного ембріогенезу. Культивування дібраних після 2-разового культивування на селективному середовищі з 30 % КФ калюсів на регенераційному середовищі уможливило регенерацію пробіркових рослин. Слід зазначити, що калюси загалом проявили низьку здатність до ембріогенезу. Так, середній вихід ембріодів становив 1 ембр./калюс. З калюсів зразка D.c.306/2 утворення ембріодів взагалі не спостерігали. Максимальну ембріогенну здатність (2,8 ембр./калюс) зафіксовано у дібраних методом клітинної селекції калюсів D.c.309/2. З дібраних на 30 % КФ калюсів регенерація не відбувалась.

Перше самозапилене після імунологічного дослідження покоління R₁ з регенерантів зразків D.c.306/1 і D.c.309/2, дібраних у культурі *in vitro* на 30 % КФ, забезпечило мінімальне ураження чорною гниллю після зимового зберігання – 14,3 і 8,0 % відповідно. У їх вихідних ліній (2/5 I₃, 4/5 чф I₃) інтенсивність ураження альтернаріозом становила 53,6 та 33,6 % відповідно.

Розроблений спосіб створення стійких до альтернаріозу форм моркви (патент України № 91923) у культурі *in vitro* уможливив скоротити тривалість отримання клітинних популяцій, стійких до комплексу токсинів КФ гриба *Alternaria radicina* M. D. et E, з 215 до 120 діб. Він не потребує складного обладнання, заощаджує енерговитрати, дозволяє вже за перший рік отримати стійкі до альтернаріозу генотипи моркви (фаза розвитку рослин – коренеплід), наступного року – насіння для селекційної роботи. Створені джерела стійкості (коренеплоди та насіння) до чорної гнилі впроваджено в лабораторії селекції коренеплідних культур ІОБ НААН.

Клітинна селекція огірка (*Cucumis sativus* L.), томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.), баклажана (*Solanum melongena* L.) на стійкість до грибів роду *Fusarium* Link. Однією з найбільш шкочинних хвороб овочевих культур в умовах відкритого і захищеного ґрунту в Україні є фузаріозне в'янення, основним збудником якого є гриби роду *Fusarium* Link. Поширеність хвороби останнім часом складає 37-69 % і призводить до істотних (30-50 %) втрат урожаю. Традиційні методи селекції на стійкість до фузаріозу результативні, але трудомісткі й тривалі.

Для вирішення питання біотехнологічного супроводу селекційних досліджень пасльонових культур (томата, баклажана), збагачення арсеналу лабораторних методів для прискорення процесу зі створення стійкого

вихідного матеріалу обґрунтовано ефективність добору стійких до *F. oxysporum* клітинних ліній баклажана і томата у культурі *in vitro* на селективних середовищах з КФ грибів.

Розроблений нами спосіб складається з 5 етапів (табл. 2).

Таблиця 2 – Послідовність етапів оцінки та добору за один рік фузаріозостійкого вихідного матеріалу томата в культурах *in vitro* та *in vivo* (середнє за 2011-2013 рр.)

Етап добору	Вихідний матеріал	Вихідні параметри	Тривалість процесу	Вартість, грн.
1 етап - добір у культурі <i>in vivo</i>	30-денна розсада баклажана та детермінантних генотипів томата, свіжо- зрізані пасинки томата індетермінантного типу	Перевірка всіх зразків на стійкість до КФ грибів <i>F. oxysporum</i> , вибракування нестійких генотипів	2 доби	748,09
2 етап - скринінг рівня стійкості в культурі <i>in vitro</i>	7-10-денні сім'ядольні листки стерильних паростків	Оцінка рівня стійкості генотипів до КФ грибів <i>F. oxysporum</i> у порівнянні з еталонами стійкості та сприйнятливості за 5-бальною шкалою	6 тижнів	1430,29
3 етап - добір у культурі <i>in vivo</i> стійких калюсних варіантів	Морфогенні калюси	Добір стійких клітинних варіантів, їх розмноження в культурі <i>in vitro</i> живцюванням	20 тижнів	2408,60
4 етап – додаткова імунологічна перевірка дібраних в культурі <i>in vitro</i> варіантів	Адаптовані пробіркові рослини покоління R ₀	Перевірка всіх зразків за стійкістю до КФ грибів, вибракування нестійких генотипів	2 доби	3064,83
5 етап - селекційна оцінка відібраних генотипів	Рослини покоління R ₁ -R ₂	Оцінка стійкості зразків в умовах природного інфекційного фону, добори, отримання насіння	20 тижнів	693,00

Всього 8344,82

За рахунок застосування розробленого способу (патент України № 89518) термін створення джерел стійкості томата становив за запропонованого способу 2 роки.

Ефективність розроблених схем клітинної селекції підтверджено під час польової оцінки дібраних на селективних середовищах джерел стійкості баклажана та томата до фузаріозного в'янення. Найвищою стійкістю до хвороби (7 за 9-ти бальною шкалою) характеризувалися генотипи баклажана – *S. m. 62*, *S. m. 40*, *S. S. m. 63*, дібрані на селективних середовищах із 40 % КФ, і клітинні лінії томата – *S.l. 11/3*, *S.l. 46/1* на селективних середовищах із 30-50 % КФ. Окрім стійкості до хвороби вони також перевищували контрольні варіанти та вихідні генотипи за основними кількісними показниками: висотою рослини, кількістю та масою плодів, продуктивністю, товарністю плодів. За урожайністю плодів клітинні лінії баклажана перевищували стандартний – сорт Алмаз від 29,6 до 44,2 %. Дібрані сумісним використанням біотехнологічних, імунологічних і селекційних методів лінії томата перевищували за урожайністю плодів стандартний генотип UL0200662 від 33,3 до 37,3%. На лінії баклажана *S. m. 62* і *S. m. 40* одержано свідоцтво Національного центру генетичних ресурсів.

Порівняльний аналіз витрат на технологічний процес добору джерел стійкості пасльонових культур лабораторними методами в культурах *in vitro* та *in vivo* підтвердив високу ефективність розробленого нами способу створення джерел стійкості до хвороб томата і баклажана, оскільки за його застосування витрати знижуються на 86,8 %.

Особливістю створення фузаріозостійкого вихідного матеріалу огірка було використання для добору джерел стійкості диференційованих експлантатів – апікальних меристем і насінневих проростків. Використання 40 % КФ *F. oxysporum* дозволило диференціювати досліджувані генотипи за параметрами росту апікальних меристем у культурі *in vitro* та добирати перспективні джерела для селекції, які за індексом резистентності RI (відношення довжини пагона (кореня) після 4 тижнів культивування на селективному середовищі до довжини пагона (кореня) у контрольному варіанті, виражене у відсотках) перевищують еталонні зразки.

З погляду на розвиток апікальних меристем огірка, на селективних середовищах генотипи розділяли на три групи за реакцією на культивування на селективних середовищах з КФ: 1 – зниження ростових параметрів – 64 %; 2 – розвиток на рівні контролю – 21 %; 3 – перевищення параметрів росту регенерантів відносно контролю – 21 %. Найвищу стійкість на середовищі із 40 % КФ *F. oxysporum* проявили зразки С.с. 23 (гібрид F₁ (F₅I₅ Голубчик x F₁I₃ Кузнечик)), С.с. 27 (гібрид F₁ (F₁I₄ Маринда x F₃I₄ Кузнечик)) і С.с. 29 (гібрид F₁ АХ 0339), які за індексом резистентності пагона (від 60,0 до 84,2 %) та кореня (80,0-94,5 %) перевищували еталонні генотипи – гібриди Каміла F₁ та Amant F₁ (56,5-60,5 % та 67,6-68,6 % відповідно).

Паралельно з добором у культурі *in vitro* джерел стійкості огірка до фузаріозного в'янення, в лабораторних умовах оцінено ростові реакції насіння огірка на дію токсичних метаболітів гриба *Fusarium oxysporum*. З'ясовано, що

насіння генотипів С.с. 23, С.с. 27, С.с. 29, які забезпечили кращі параметри росту під час проведення клітинної селекції, в даному експерименті мали найменше зниження схожості після обробки 40% суспензією КФ – 1-2 % і були на рівні еталонних зразків.

Отже, існує залежність між ростовими параметрами впродовж культивування апікальних меристем огірка на селективному середовищі MS, модифікованому 40 % КФ показниками схожості й лінійними параметрами проростків під час пророщування насіння на КФ гриба *F. oxysporum* у лабораторних умовах (патент України № 106769), за якого можна диференціювати зразки за чутливістю до дії токсичних метаболітів грибів роду *Fusarium* Link. і за 9 місяців виділити перспективні джерела для селекції.

Зв'язки між параметрами овочевих культур у культурі *in vitro* та *in vivo* підтвердили ефективність проведення клітинної селекції на селективному середовищі з 40 % КФ грибів роду *F. oxysporum* f. sp. (табл. 3).

Таблиця 3 – Особливості взаємозв'язків основних показників овочевих культур на селективних середовищах з КФ грибів роду *Fusarium* у культурах *in vitro* й *in vivo* та ознаками рослин у польових умовах * (середнє за 2012-2015 рр).

Ознака	Культура <i>in vitro</i>		Культура <i>in vivo</i>		Польові умови	
	життєзда- тність	кількість морфоген- них зон	довжина проростка пагона	кореня	загальна урожайність	ступінь ураження
Баклажан						
Об'єм калюсу	Дуже слабкий	Тісний**	Слабкий	Слабкий	Тісний	Зворотній дуже слабкий
Життєздатність	-	Зворотній дуже слабкий	Середній	Середній	Тісний **	Зворотній тісний
Томат						
Об'єм калюсу	Середній	Тісний	-	-	Дуже Слабкий	Слабкий
Життєздатність	-	Слабкий	-	-	Зворотний дуже Слабкий	Зворотний тісний
Огірок						
Довжина : пагона регенеранта	-	-	Слабкий	Тісний **	-	-
кореня регенеранта	-	-	Слабкий	Тісний **	-	-

Примітка. *Для аналізу кореляційного зв'язку між парами ознак застосовували наступну шкалу: 0,0 – 0,19 – дуже слабкий; 0,2 – 0,39 – слабкий; 0,40 – 0,59 – середній; 0,60 – 0,79 – тісний; 0,80 – 1,0 – дуже тісний.

** Коефіцієнт кореляції суттєвий на 0,05-му рівні.

У клітинних ліній баклажана покоління R₂ виявлено тісні зв'язки між парами ознак: об'єм калюсу–загальна урожайність, об'єм калюсу–кількість морфогенних зон. Зворотний тісний зв'язок під час клітинної селекції баклажана та томата виявили також між ознаками життєздатності калюсних клонів та ступеня ураження фузаріозним в'яненням в умовах природного інфекційного фону. В дослідях з клітинної селекції огірка до грибів роду фузаріум встановлено дуже тісний прямий кореляційний зв'язок між довжиною пагона *in vitro* та довжиною кореня *in vitro*, тісний – між довжиною пагона *in vitro* та довжиною кореня проростка, довжиною кореня *in vitro* та довжиною кореня проростка.

Ефективність розроблених схем клітинної селекції підтверджено під час польової оцінки дібраних на селективних середовищах клітинних варіантів. Порівняльний аналіз витрат на технологічний процес добору джерел стійкості пасльонових культур лабораторними методами в культурах *in vitro* та *in vivo* до хворб підтвердив доцільність розробленого нами способу, оскільки за його застосування витрати знижуються на 86,8 %.

СТВОРЕННЯ НОВОГО ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР РОДИН SOLANACEAE GALS. ТА CUCURBITACEAE JUSS. ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ ТЕХНОЛОГІЙ IN VITRO

Використання клітинних технологій з культивування зиготичних зародків для подолання постгамної несумісності під час міжвидової гібридизації томата (*Lycopersicon* Tourn.), баклажана (*Solanum melongena* L.), гарбуза (*Cucurbita* L.). Доведено що можливість розмноження гібридів несумісних видів родини *Solanaceae* L. на поживних середовищах у культурі *in vitro* залежить від генотипу та стадії розвитку гібридного зародка на момент його виділення з плода. Щодо культури томата, формування повноцінних рослин-регенерантів із нормально розвиненими сім'ядолями та кореневою системою відбувалось з 50-65 % висаджених після введення в культуру *in vitro* гібридних зародків через 30 і 40 діб після запилення (фаза торпедовидного ембріода) в гібридній комбінації *L. esculentum* Mill (Mo 500) / *L. chilense* на безгормональному базовому поживному середовищі MS, з найважливішими макро- та мікроелементами і задовольняє вимогам, необхідним для збереження їх життєздатності. Висаджені на поживні середовища через 20-26 діб після запилення (глобулярна та сердечкоподібна стадії) зародки не змогли утворити проростки, проте значний їх відсоток формував калюс на поживному середовищі MS + 0,1 мг/л кінетину+0,01 мг/л НОцК.

Високою виявилась ефективність отримання життєздатних зиготичних проростків, виділених із достиглих плодів міжвидових гібридів томата; 55,6 % усіх висаджених насінин міжвидового гібрида *L. esculentum* Mill (Mo 500) / *L. chilense*, утворили на рідкому й агаризованому безгормональному середовищах MS проростки як нормального фенотипу (розвинені пагін і корінці), так і аномального.

Прояв маркерних ознак у використаних як материнська форма мутантних форм дозволив нам ідентифікувати гібридність у фазі проростків за антоціановим

забарвленням сім'ядоль і гіпокотилія. Пізніше наявність їх у рослин досліджуваних гібридних комбінацій підтверджено формою листків регенерантів (у гібридних рослин був відсутнім прояв рецесивного гена *c*, властивого мутантному зразку *L. esculentum* (Мо 638)). З плодів, які мали понад 5 шт. насінин, усі пробіркові рослини також належали до материнського фенотипу. Плоди, отримані від гібридних комбінацій *L. esculentum* (Мо 638) / *L. peruvianum* та *L. esculentum* (Мо 638) / *L. chilense*, містили не більше двох насінин діаметром від 1 до 3,5 мм.

Гібридні зародки відзначались також тривалішим періодом спокою. Так, висаджена на штучне поживне середовище насінина *L. esculentum* (Мо 638) / *L. chilense* діаметром 3,5 мм проростала через 35-40 діб, а негібридне насіння – вже через 5-10 діб культивування.

До ідентифікованих за маркерними ознаками гібридних проростків томата в подальшому застосовували метод клонального мікророзмноження, який забезпечив розмноження цінних міжвидових гібридів томата, рослини яких упроваджено для проведення селекційно-генетичних досліджень у ІОБ НААН.

Підтверджено ефективність біотехнологічного способу для розмноження міжвидових гібридів баклажана – між культурною формою (*S. melongena* L.) і дикорослими видами *S. aethiopicum* gr. Gilo та *S. integrifolium* Poir. На поживному середовищі MS, модифікованому регуляторами росту (0,1 мг/л НОцК та 0,1 мг/л ГК₃), 97,7 % зародків гібрида *S. melongena* L. / *S. aethiopicum* gr. Gilo та 90,9 % гібрида *S. melongena* L. / *S. integrifolium* Poir., висаджених на середовища через 20-25 діб після запилення (стадія “торпеди”), формували в культурі *in vitro* проростки. Тоді як на безгормональному середовищі пророслих зародків цієї стадії не спостерігалось (рис. 3). У зародків, висаджених на середовища через 15 діб після запилення (стадії “глобули” і “сердечка”) проросло 33,3 % у комбінації *S. melongena* / *S. aethiopicum* gr. Gilo, та 27,3 % – у комбінації *S. melongena* L. / *S. integrifolium* Poir., що підтверджує визначну роль стадії ізоляції гібридного зародка для розвитку у штучних умовах. Тобто із збільшенням рівня диференціації зиготичних зародків до стадії “торпеди” підвищується відсоток збережених проростків міжвидових гібридів баклажана.

У зародків, видалених з насіння через 30 діб після запилення, насіннева шкірка вже достатньо щільна, тому виділити зародки із насінин без їх травмування неможливо. Через такі особливості лише 50,0 % зародків гібрида *S. melongena* L. / *S. aethiopicum* gr. Gilo. та 54,5 % гібрида *S. melongena* L. / *S. integrifolium* Poir. сформували в культурі *in vitro* проростки на модифікованому регуляторами росту середовищі MS. На безгормональному варіанті поживного середовища проростків не зафіксовано. Отримані в культурі *in vitro* рослини-регенеранти із недозрілих зародків в комбінаціях схрещувань *S. melongena* L. / *S. aethiopicum* gr. Gilo та *S. melongena* L. / *S. integrifolium* Poir. додатково розмножували живцюванням на рідкому безгормональному середовищі MS. Їх після адаптації впроваджено в селекційний процес.

Розроблений “Спосіб одержання гібридних рослин несумісних видів баклажана роду *Solanum* L.” (патент України № 79677) характеризується

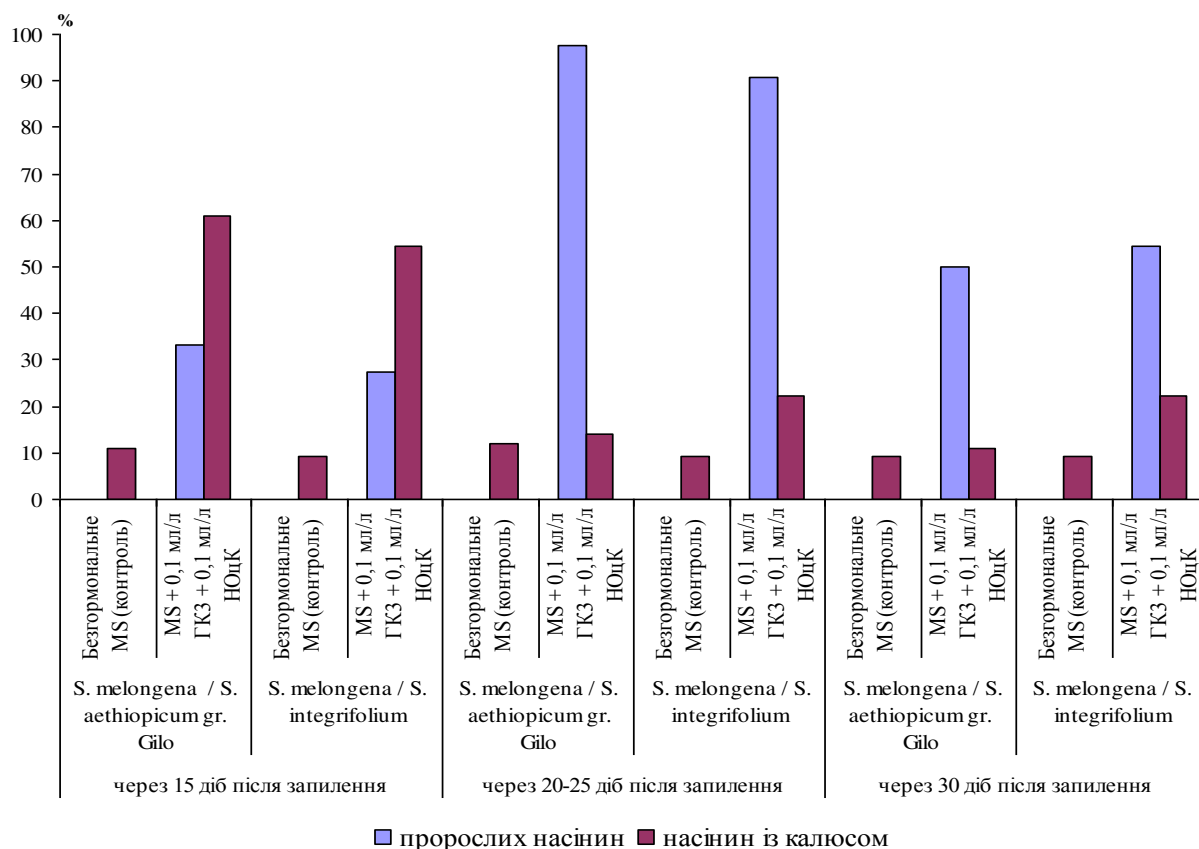


Рис. 3 Вплив поживного середовища та віку ізольованих насінин на проростання зиготичних зародків міжвидових гібридів баклажана в культурі *in vitro* (середнє за 2011-2013 рр.)

суттєвими перевагами над традиційним методом дорощування гібридних зародків *in planta*. Його основні положення використані нами під час розмноження гібридних рослин отриманих між трьома культурними видами гарбуза – гарбузом звичайним (*Cucurbita pepo* L.), гарбузом великоплідним (*Cucurbita maxima* Duch.) і гарбузом мускатним (*Cucurbita moschata* Duch. ex Poir).

Створення та розмноження тетраплоїдних форм кавуна (*Citrullus lanatus* Thunb.). Істотно підвищити економічну ефективність вирощування кавуна можна за рахунок упровадження триплоїдних (безнасінневих) гібридів. Згідно традиційній селекційній технології, триплоїдні гібриди створюють гібридизацією тетраплоїдної материнської лінії з диплоїдною батьківською. Вперше запропоновано модель для ведення селекції триплоїдного кавуна та розроблено схему сумісного використання методів експериментального мутагенезу та культури ізольованих тканин *in vitro*, застосування яких вирішує існуючі складності і дозволяє значно прискорити селекційний процес. Для створення тетраплоїдної материнської форми кавуна застосовано метод хімічного мутагенезу. Тетраплоїдні форми кавуна у фазі проростка ідентифікували за зовнішнім виглядом потовщених сім'ядоль, за викривленою або асиметричною формою, темно-зеленим кольором і потовщеним підсім'ядольним коліном, повільнішими темпами росту; у фазі розсади – за

меншою довжиною та кількістю листків на рослині та укороченим міжвузлям.

Для розмноження тетраплоїдних форм кавуна, з характерним низьким рівнем схожості й енергії проростання здійснено розробку ефективної регенераційної системи в культурі ізольованих тканин *in vitro*. Донорським матеріалом використовували тетраплоїдні форми кавуна, створені нами обробкою насіння районованого сорту Макс плюс 0,01% розчином колхіцину.

За рахунок культивування сім'ядоль тетраплоїдних форм кавуна на індукційному поживному середовищі MS, модифікованому регуляторами росту, можна розмножувати цінні з селекційної точки зору форми. Оптимальною концентрацією регуляторів росту в індукційному середовищі MS для регенерації адвентивних пагонів із сім'ядоль тетраплоїдних форм кавуна є 3 мг/л БАП. На середовищі такого складу зафіксовано максимальний в досліді показник індукції калюсогенезу – 100 % та найвищі параметри розвитку калюсної тканини – $480,4 \pm 66,0$ мм³. Сформований на даному середовищі калюс за подальшого культивування характеризувався високою регенераційною здатністю – 55 %. Культивування на ньому прямим органогенезом забезпечило $7,0 \pm 0,6$ шт./калюс рослин-регенерантів, які розмножили в умовах *in vitro* на безгормональному середовищі MS протягом 2 пасажів. Додаткове введення до складу поживного середовища ауксинів дозволило мати високий показник калюсогенезу ($480,4 \pm 66,0$ мм³), але негативно впливало на індукцію органогенезу. Збільшення вмісту в поживному середовищі цитокінінів до 4 мг/л також негативно впливало на розвиток калюсів і на формування адвентивних пагонів. Культивування сформованих мікропагонів на середовищі MS, модифікованому 0,5 мг/л ауксину ЮцК, забезпечило укорінення рослин-регенерантів на 85 %. Отримані рослини-регенеранти адаптовано та передано до лабораторії селекції гарбузових культур ІОБ НААН для наступного використання в селекції триплоїдних гібридів.

МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ОТРИМАННЯ ГАПЛОЇДІВ ОВОЧЕВИХ РОСЛИН ВИДІВ *DAUCUS CAROTA L.* І *LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL. ДЛЯ СТВОРЕННЯ ЛІНІЙНОГО МАТЕРІАЛУ

Гіногенез моркви в культурі *in vitro*. Встановлено ефективність гіногенезу в культурі *in vitro* для прискореного розмноження ЧС-ліній моркви вітчизняною конкурентоздатною технологією, ефективною для застосування на генотипах, задіяних у дослідженнях національних селекційних програм, яка уможливорює створення стерильної лінії за 2 роки, що на 5 років прискорює одержання гомозиготного матеріалу. Оптимальні умови для вирощування вихідного донорського матеріалу моркви має захищений ґрунт, але цей метод досить затратний. Для здешевлення вартості створення подвоєних гіногенних гаплоїдів визначено режим стерилізації донорського матеріалу – 0,1 % розчин HgCl₂ за експозиції 15-20 хв., який забезпечує стерильність бутонів моркви на рівні 50,1-75,5 %, життєздатність – 34,6-43,5 % й уможливорює добирати вихідний матеріал із заданими ознаками безпосередньо в польових розсадниках, де їх властивості проявляються у відповідних ґрунтово-кліматичних умовах.

Нашими розробками оптимізовано спосіб створення в культурі *in vitro* гіногенних гаплоїдів (патент України № 30285). Попереднє культивування бутонів моркви на безгормональному середовищі впродовж двох тижнів перед виділенням насіннєзародків забезпечує їх мінімальне травмування та легке виділення, за рахунок чого вихід новоутворень із насіннєзародків (калюсів чи ембріодів) підвищується на 25 %.

Розвиток гіногенних рослин-регенерантів покоління R_1 у відкритому ґрунті свідчить про різний рівень варіювання кількісних ознак в адаптованих до ґрунтових умов рослин. За ознаками висота рослини, ширина і довжина листкової пластинки він був на рівні 15,1 – 16,7 %, а за параметрами коренеплодів (маса і діаметр) – 30,1-32,7 %. Насіннєві рослини R_1 генотипу мали низьке (<10 %) варіювання за такими ознаками, як висота рослини, діаметр зонтика, довжина і ширина листкової пластинки.

За розробленою новою схемою селекції із застосуванням експериментальної гаплоїдії в культурі *in vitro* одержано ЧС-лінію Райдуга Нантського сортотипу, F_1 гібрид якої (РайдугаЧС / Кримчанка) за врожайністю і товарністю істотно переважав стандарт Веста F_1 .

Андрогенез томата. Встановлено ефективність використання мутантних форм томата для перепрограмування на поживних середовищах експлантатів з гаметофітного шляху на сапрофітний, який реалізовано за рахунок генотипів 65,5% виявили калусогенну здатність на модифікованому регуляторами росту (2мг/л БАП + 4 мг/л ІОцК) середовищі MS. Ця ж модифікація підтвердила індуктивні властивості щодо андрогенезу в культурі пиляків генотипу 495-2/2 (F_1 [F_5 (Morigo 20) / La 3744]) – носія мутантних генів *ms*, *rin*, *sp*, *hp*, *u*. Для більшості генотипів із виявленою здатністю до органогенезу в культурі ізольованих пиляків для отримання регенерації потрібен був тривалий (2-5 місяців) термін культивування їх на індукційних середовищах. Зі 113 генотипів уведених у стерильну культуру, шість (5,3 %) виявили здатність до регенерації з калюсів томата андрогенного походження.

Інтенсивність наростання калюсу не пов'язана з високою здатністю до морфогенетичної активності калусної біомаси в культурі ізольованих пиляків томата. Регенераційною здатністю характеризувались як генотипи з високою здатністю до проліферації калюсу (582-2/14, 327-1/2, 335-2/3), так і з середньою (495-2/2, Mo500 / CX-4, 589-1/13). Найвищу здатність до проліферації калюсу виявив генотип 498-1/3 (F_1 [F_5 (dy / Дружба) / La 3262]) носій мутантних генів *B*, *dy*, *j-z*, *o*, *del*, *ug*. На середовищі Бі 2 середній об'єм калюсу цього генотипу за п'ять пасажів склав 1600 мм³, проте регенераційної здатності у нього не виявлено. У 50 % здатних до органогенезу генотипів одним із батьків був генотип Неваляшка, що уможливило зробити висновок про його гаплопродукційні властивості. Підвищеною здатністю до андрогенезу характеризувались і генотипи томата з морфологічними відхиленнями від нормальної будови квітки, з різними типами функціональної чоловічої стерильності (ФЧС), обумовленими мутантними генами (*ps* – 2, *ex*, *ex* – 2). Шість із восьми (75 %) використаних у дослідженнях генотипів з ФЧС, виявили

здатність до калюсогенезу.

У субкультивованих на безгормональному середовищі калюсах свої морфогенні властивості щодо гомогенезу зберегли 50 % генотипів, у середньому за пасаж отримано пагонів 3,8 шт./калюс. Кращим для індукції адвентивних бруньок визначено середовище БІ 2, яке забезпечувало утворення максимальної кількості рослин-регенерантів (4,1 шт./калюс) у 83,3% генотипів. З культивованих на середовищі БІ 5 андрогенних калюсів у 50 % генотипів утворювалось від 3,8 до 4,0 шт./калюс органогенних мікропагонів.

Депоновані калюси, які не виявили органогенних властивостей у 1-4 пасажах, не виявили їх і в усіх наступних досліджуваних варіантах середовищ. Органогенні калюси вивчених нами генотипів зберігали високу проліфераційну активність впродовж 6-8 пасажів, проте їх морфогенний потенціал порівнянно з першими чотирма постійно знижувався, а у 9-10 пасажах взагалі призупинився.

Рослини-регенеранти пробіркових рослин андрогенних клонів МК-1, МК-3, МК-5 і МК-10 успішно перевели в умови *in vivo* за розробленим нами способом (патент на винахід № 81097), який забезпечив високий рівень (94,75%) приживлення в субстраті, до складу якого входив коко-грунт. Адаптований матеріал висаджували в умови захищеного ґрунту для отримання насіння R₁. Його впроваджено в селекційний процес в ІОБ НААН, а також використано в дослідях з клітинної селекції для добору джерел стійкості до ранньої сухої плямистості. Такий підхід до використання створених методом андрогенезу ліній дозволяє не тільки за 1 рік отримати лінійний матеріал, а й добирати серед рослин андрогенних клонів лінії з цінними господарськими ознаками.

ВИКОРИСТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ У НАСІННИЦТВІ ОВОЧЕВИХ КУЛЬТУР

Оптимізація способів прискореного розмноження генотипів овочевих рослин у культурі *in vitro*. З метою оптимізації умов клонального мікророзмноження овочевих культур із переважно вегетативним типом розмноження (часник, цибуля шалот) вивчено п'ять послідовних етапів клонування, першим з яких є добір експлантатів здатних забезпечувати масову регенерацію в культурі *in vitro* однорідних за морфологічними ознаками потомств. Підтверджено, що виділені із зубків і повітряних цибулинок апікальні меристеми є найкращим матеріалом для мікроклонування часнику, бо вони генетично сталі, здебільшого звільнені від вірусної інфекції та вирізняються високою морфогенною здатністю. Показано, що для масового розмноження цибулевих рослин *in vitro* можна використовувати індукцію пазушних пагонів із меристематичних тканин денця зубків і повітряних цибулинок та стрілки суцвіть у фазі закритої обгортки.

Молоді суцвіття забезпечують високий коефіцієнт розмноження – $37,1 \pm 0,9$ шт. регенерантів з одного суцвіття часнику і $9,3 \pm 0,45$ шт. регенерантів цибулі шалот. Перед цвітінням цибулевих рослин в їх генеративних органах має місце утворення значної кількості ендогенних гормонів. З цієї причини навіть незначні концентрації регуляторів росту уможливають зміну розвитку

на штучних поживних середовищах із генеративного на вегетативний напрям. Недолік даного біоматеріалу – обмежений (7-15 діб) термін уведення даного типу експлантатів у культуру *in vitro* і неможливість застосування його для форм, які не стрілюють.

Високефективним було використання в якості донорського матеріалу донець повітряних цибулинок часнику, термін застосування яких становить 10 місяців. Повітряні цибулинки формуються в надземній частині рослини і тому менш забруднені, ніж зубки, які формуються в ґрунті. Найбільшу кількість пагонів із меристематичних зон донець повітряних цибулинок отримано на середовищі MS із додаванням 4 мг/л БАП і 2 мг/л ІОцК – $10,9 \pm 0,7$ шт.

Для масового розмноження нестрілюючих форм доведено ефективність використання тканин денця зубків. Максимальний показник регенерації – $16,0 \pm 1,0$ шт./експлантат отримували за використання розробленої нами модифікації середовища MS (3мг/л БАП+0,5мг/г ІОцК), яка забезпечує стабільну індукцію мікропагонів на різних генотипах часнику. Її можна рекомендувати для прискороного клонального мікророзмноження комерційних генотипів, оскільки тривалість застосування цього експлантату становить 5-8 місяців.

Для генетичної стабілізації матеріалу перехрестнозапилювальних форм та зниження негативних наслідків автостерильності на самозапилюваних рослинах розроблено спосіб створення інбредних ліній цибулі ріпчастої (патент України № 79688). Процедура клонального мікророзмноження цибулі ріпчастої активізацією адвентивних пагонів донець у культурі *in vitro* за 6 місяців культивування дозволяє отримати $7,2 \pm 4,4$ – $11,2 \pm 3,5$ шт. рослин-регенерантів з цибулини та цибулини покоління R₁ зі стабільним індексом форми й вирівняністю 97,5 – 97,7 %.

Підтверджено високу ефективність клонального розмноження *in vitro* для розмноження стерильних генотипів. Активізація апікальних і латеральних меристем на безгормональному поживному середовищі MS уможливила зберігати та розмножувати в культурі *in vitro* 87,5% уведених стерильних зразків томата.

Використання мікросателітних ДНК-маркерів для генетичної ідентифікації сортів цибулі ріпчастої. За допомогою ПЛР-аналізу шістьох мікросателітних локусів досліджено поліморфізм 8 сортів цибулі ріпчастої української селекції. Детектовано 12 алелів (від 1 до 3) на локус, що уможливило проведення диференціації районованих сортів селекції ІОБ НААН і отримати вихідні дані для створення бази даних ДНК-паспортів.

З метою графічної візуалізації відмінностей між генотипами побудовано дендрограму (рис. 4) і здійснено кластарізацію сортів. Сформовані основні кластери співпали з етапами проведеної в ІОБ НААН з 1967 по 2006 р. селекційної роботи з цибулею ріпчастою. Так, сорти Біляночка та Амфора, створено під керівництвом О. В. Шабети з використанням колекції НЦГРРУ (1990–2004) увійшли до першого кластера. До другого віднесено сорти селекційної школи Ф. А. Ткаченка. Цей кластер, у свою чергу, розподілився на дві групи: перша – сорти, створенні за часів плідної наукової праці Ф. А.

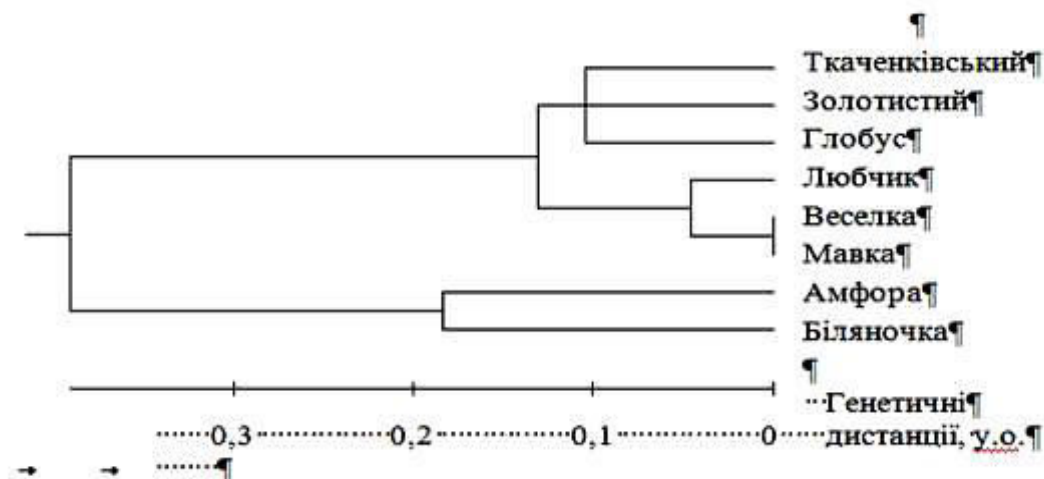


Рис. 4 Дендрограма сортів цибулі ріпчастої за даними мікросателітного аналізу.

Ткаченка (1967–1997) з місцевих форм (Ткаченківська, Золотиста); друга – сорти, створені його учнями: В. М. Тимчуком та О. М. Біленькою (1991–2006) із залученням гермоплазми з країн Центральної Європи. Отримані результати засвідчують високу ефективність використання МС-маркерів для оцінки генетичного різноманіття й генотипування сортів цибулі ріпчастої української селекції і мають важливе значення для захисту авторських прав.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ РОЗРОБЛЕНИХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ У СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ

Стандартизація способів прискореного розмноження й ідентифікації генотипів овочевих культур. Високі вимоги в насінництві до розмноженого в культурі *in vitro* біоматеріалу передбачають застосування в практичній роботі стандартизованих методик, які є найактуальнішими елементами сучасного механізму управління якістю виконання робіт, оптимального ресурсозбереження за дотримання необхідних умов і вимог техніки безпеки та захисту навколишнього середовища. У розробленому нами ДСТУ 7645:2014 “Культури овочеві. Метод вегетативного розмноження“, який є чинним з 1.01.2015 р., встановленні оптимальні вимоги до методу прискореного вегетативного розмноження овочевих рослин (часнику, різних видів цибулевих та ін.) у культурі *in vitro*. Впровадження його в селекційні та насінницькі процеси забезпечує вирішення важливих проблемних питань: оздоровлення рослин від бактеріальної, грибною та вірусної інфекцій; щорічне одержання 10^5 - 10^6 меристемних клонів від однієї рослини; зменшення площ, заощадження трудових і матеріальних витрат для їх вирощування. Застосування в овочівництві стандартизованого методу прискореного розмноження рослин у культурі *in vitro* уможливить ведення селекційної та насінницької роботи з вітчизняними сортами, розмножуваними відповідно до загальноприйнятих світових стандартів, і може бути використаний під час роботи з усіма овочевими вегетативно розмножуваними рослинами.

З метою активного використання результатів біотехнологічних досліджень у селекційній та насінницькій роботі з культурою часнику нами визначено ефективність використання методів біотехнології для прискореного розмноження місцевих його форм та розроблено інноваційну схему одержання оздоровленого садивного матеріалу (рис. 5). Як наслідок, розроблено “Інноваційний бізнес-проект отримання оздоровленого садивного матеріалу часнику” та подано до Міністерства аграрної політики і продовольства України.

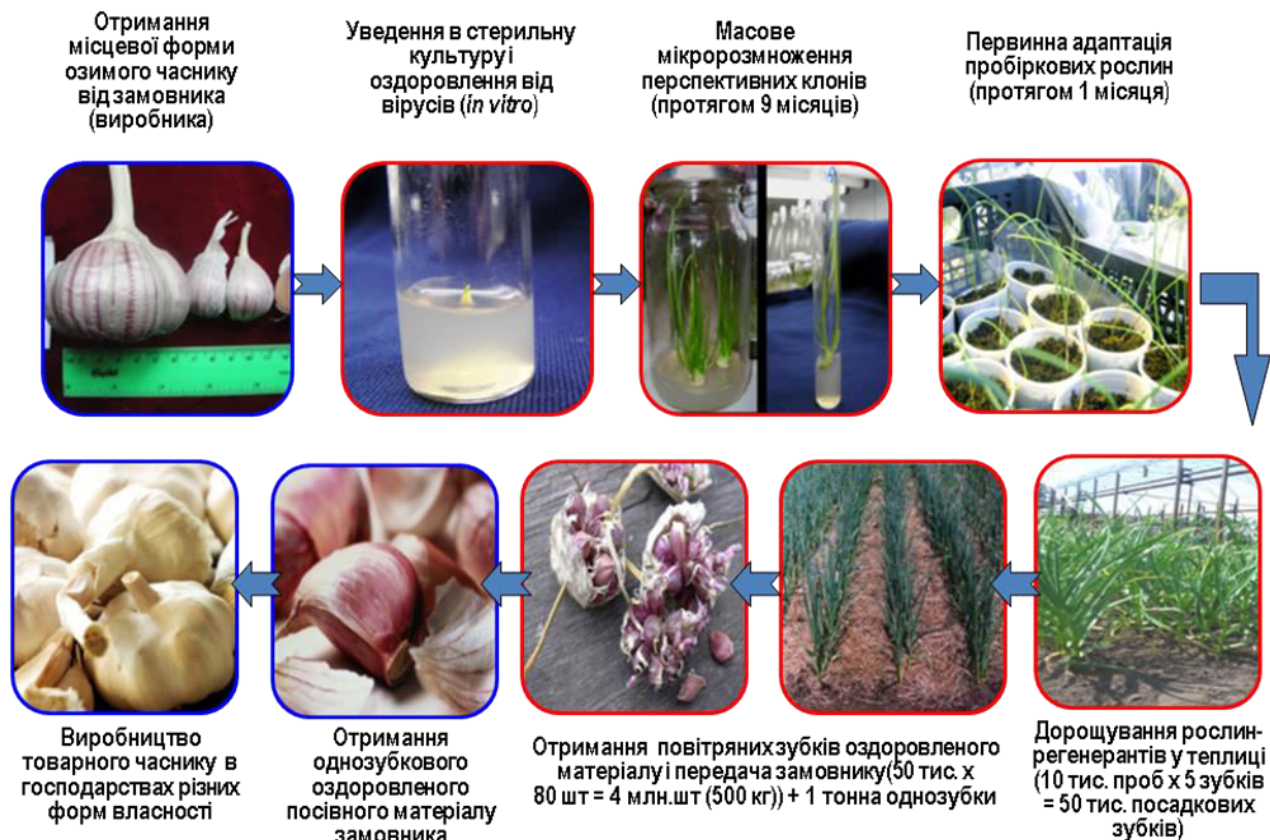


Рис. 5 Інноваційна схема одержання оздоровленого садивного матеріалу часнику на основі методів біотехнології.

Проектом передбачається організація виробництва оздоровленого матеріалу часнику в органічному субстраті, з виходом понад 4 млн шт. повітряних цибулин уродовж 3-х років. Оцінка ефективності реалізації запропонованого проекту свідчить, що термін його окупності становитиме один рік, починаючи з третього року освоєння. Індекс прибутковості – 1,5.

Для впровадження в селекцію та насінництво сучасного методу ідентифікації, здатного сприяти ефективному юридичному захисту селекційними установами прав на сорти та гібриди, спростити й удосконалити контроль за якістю насіння, розроблено та впроваджено в Україні національний стандарт ДСТУ 8667:2016 “Культури овочеві. Молекулярно-генетичний метод ідентифікації сортів і гібридів”, який набуде чинності з січня 2017 р. Поки що впровадження в селекцію та насінництво овочевих культур прогресивної біотехнології молекулярно-генетичної ідентифікації основних овочевих рослин (моркви, цибулі ріпчастої, огірка, томата) за допомогою техніки полімеразної

ланцюгової реакції з використанням SSR-праймерів стримувалось через відсутність уніфікованого та стандартизованого способу, який уможливить розробляти генетичні паспорти в різних установах за єдиною методикою. Застосування стандартизованих методик дозволить мати об'єктивні дані про структуру сорту, гібрида, лінії. За робленим ДСТУ встановлено послідовність створення ДНК-паспортів овочевих культур, яку представлено на прикладі складання формули сорту цибулі ріпчастої Глобус.

Створення нового матеріалу для селекції. Використання комплексу оптимізованих біотехнологічних методів і способів дозволило безпосередньо здобувачу створити сорт цибулі шалот Ліра, сорти томата Севен, Будда, Гурман. Визначено економічну ефективність нових сортів, рентабельність вирощування нового сорту цибулі шалот Ліра становила 157 %, економічна ефективність – 28750 грн/га, томата сорту Севен – 53 % і 171528 грн/га відповідно. Рівень рентабельності вирощування томата сорту Гурман становив 85 %, економічна ефективність 11211 грн/1000 м². Стосовно сорту Будда, рентабельність і економічна ефективність дорівнювали 84 % і 11207 грн/1000 м² відповідно, що уможлиблює рекомендувати обидва сорти з плодами екзотичного кольору для вирощування в господарствах населення для споживання у свіжому вигляді.

ВИСНОВКИ

У результаті багаторічних досліджень вперше в Україні викладено теоретичне узагальнення та нове вирішення проблеми інтенсифікації процесу створення та розмноження висококонкурентних генотипів овочевих культур шляхом розробки нової технології селекційного процесу з використанням біотехнологічної ланки під час створення, розмноження й ідентифікації вихідного матеріалу для селекції овочевих рослин родин *Solanaceae* Gals. (томат, перець, баклажан), *Alliaceae* L. (часник, цибуля шалот, цибуля ріпчаста), *Asteraceae* Dumort. (якон), *Apiaceae* Lindl. (морква), *Cucurbitaceae* Juss. (огірок, гарбуз, кавун), що забезпечило розробку нових та удосконалення існуючих методичних підходів та способів створення нових ліній і сортів овочевих культур, що має важливе значення для селекції і насінництва, аграрної науки і АПК України в цілому.

1. З урахуванням біологічних відмінностей обґрунтовано теоретичні підходи до прискорення селекційного процесу та його інтенсифікації за рахунок застосування клітинних технологій *in vitro* і сприяло генетичній стабілізації та розмноженню нового матеріалу.

2. Розроблено сучасні експериментальні прийоми щодо збереження генофонду овочевих культур *ex situ* методами біотехнології. Запропоновано експериментальний спосіб відновлення втрачених сортозразків колекції генбанку овочевих культур, який полягає в порушенні органічного спокою екзогормональною стимуляцією проростання зрілих зародків рослин на поживних середовищах у культурі *in vitro*. За цим способом відновлено схожість 118 зразків насіння з колекції НЦГРРУ. Живцювання в культурі *in vitro* стерильних паростків із пророслих насінин забезпечило стабільне

розмноження цінного матеріалу для використання в генетико-селекційних фундаментальних дослідженнях.

3. Встановлено ефективність використання методу вітрифікації для тривалого зберігання в умовах криогенних температур (-196°C) апікальних меристем часнику. Після криоконсервування найбільшу життєздатність мали меристеми розміром 2-3 мм (60-70 %). Прискорена швидкість заморожування (до 1000°C за 1 хв.) меристем часнику в алюмінієвих контейнерах місткістю $0,1\text{мм}^3$, відігрівання та застосування криозахисного розчину PVS N (1 М сахарози+2 М гліцерину+2,5 М), уможливило зменшити концентрації криопротекторів у криозахисному середовищі та забезпечити високу збереженість меристем часнику після криозберігання ($75,3\pm 6,7\%$).

4. Обґрунтовано можливість включення процесу депонування в культурі *in vitro* клонів пробіркових рослин у систему середньострокового зберігання генетичних колекцій часнику. Максимальну збереженість життєздатних клонів пробіркових рослин забезпечило культивування за температури 4°C на середовищі $\frac{1}{2}$ MS і за температури 22°C на середовищі MS, доповненому 120 г/л сахарози. Застосовані прийоми сприяли уповільненню ростових процесів у депонованому впродовж 12 місяців без пересаджень матеріалі, та збереженню його генетичної стабільності.

5. Кращим субстратом для адаптації пробіркових рослин є коко-ґрунт. Його використання завдяки стерильності, високій повітроємності, водоутримувальній здатності та гідрофільності уможливило отримати 98 % приживлених рослин якона (на контрольному варіанті (чорнозем типовий малогумусний) – 55 %) і високі показники розвитку пробіркового матеріалу. Лімітованими факторами, які впливають на продуктивність рослин роду *Polymnia*, є тривалість вегетаційного періоду рослин, обумовлена високою вимогливістю до тепла, та схема вирощування рослин у відкритому ґрунті.

6. Модифікація поживного середовища MS регуляторами росту (2 мг/л БАП та 4 мг/л ІОцК) забезпечує стабільні показники калюсогенезу (67,9 %) і гемогенезу (61, 6 %) у сім'ядольних експлантатів томата різного генетичного походження, дозволяє вдвічі скоротити тривалість культивування рослин (від уведення в культуру *in vitro* до моменту одержання клітинних ліній), забезпечує до сьомого пасажу високі показники морфогенезу у великій кількості використаних експлантатів, за рахунок чого збільшується сумарний вихід пробіркових рослин.

7. Ефективним для добору джерел стійкості томата до гриба *Alternaria solani* виявився 40 % КФ гриба, додавання якого до індукційного середовища знижувала життєздатність сім'ядольних експлантатів у сприйнятливих генотипів з 100 % (контроль, без КФ) до 0–33,0 %, у стійких на 55,6–76,9 %, впливала на інтенсивність наростання калюсної біомаси і його проліфераційну здатність, що дозволили диференціювати зразки за рівнем резистентності до дії селективного чинника і добирати резистентні клітинні варіанти. Застосування ГМ грибів ускладнює об'єктивну ідентифікацію рівня стійкості генотипів до ранньої сухої плямистості томата в культурі *in vitro*.

8. Фітопатологічна оцінка на природному жорсткому фоні дібраних із використанням дворазового добору калюсів на селективних середовищах з 40 і 60 % КФ виявила чотири клітинних ліній томата з високими показниками стійкості (бал 7) за 9-бальною шкалою (МК 1/1.17, МК 1/1.15, МК 1/5.30 і МК1/5.31), ураженість яких ранньою сухою плямистістю не перевищувала 15%.

9. Для підвищення стійкості до хвороб у створених методом гіногенезу в культурі *in vitro* інбредних ліній моркви зі зниженими імунними властивостями ефективно застосування клітинної селекції. Оптимальною концентрацією для добору стійких до чорної гнилі генотипів моркви виявився 30-40 % КФ гриба *A. radicina* M.D. et E. Його застосування за ступінчастої схеми дворазового добору на селективних середовищах забезпечило умови для добору резистентних до токсинів гриба калюсних клонів, перспективних для створення джерел стійкості до чорної гнилі.

10. Використання 40 % КФ *F. oxysporum* дозволяє диференціювати досліджувані генотипи за параметрами росту апікальних меристем у культурі *in vitro* та лінійними параметрами проростків огірка на фільтрувальному папері з КФ і добрати перспективні джерела для селекції, які за індексом резистентності пагона (від 60,0 до 84,2 %) та кореня (80,0-94,5 %) перевищують еталонні генотипи (56,5-60,5 % та 67,6-68,6 % відповідно).

11. Для скорочення терміну отримання стійкого вихідного матеріалу обґрунтовано та експериментально доведено можливість та ефективність біотехнології прискореного створення та експрес-оцінювання стійких до *F. oxysporum* клітинних ліній баклажана та томата, сумісним/комплексним застосуванням методів імунітету, біотехнології та селекції. Запропоновано селективну систему *in vitro*, яка прискорює тривалість добору цінних генотипів у 2-3 рази. Найвищою стійкістю до фузаріозного в'янення (бал 7) за 9-бальною шкалою характеризувались генотипи, дібрані на селективних середовищах із 40 % КФ, томата – на 30 – 50 % КФ.

12. Виявлено зв'язки між ознаками томата, баклажана, огірка в умовах *in vitro* та *in vivo*. Доведено існування зворотної тісної залежності життєздатності калюсних клонів на селективних середовищах з 40 % КФ патогенів від ступеня ураження рослин у польових умовах ($r = - 0,61-0,70$), яка підтверджує можливість добору джерел стійкості методами клітинної селекції.

13. Підтверджено ефективність біотехнологічних методів у подоланні таксономічних бар'єрів несумісності за міжвидової гібридизації. Встановлено залежність ефективності проростання недорозвинених зиготичних зародків міжвидових гібридів від стадії ізоляції їх з плодів і складу поживних середовищ, на яких відбувалось дорощування. Максимальну кількість проростків міжвидових гібридів для культури томата (65,0 %) забезпечувало безгормональне поживне середовище MS, для гарбуза (96,4 %) – середовище MS з додаванням 0,1 мг/л кінетину та 0,01 мг/л ІОцК, для баклажана (97,7 %) – поживне середовище MS, модифіковане 0,1 мг/л НОцК та 0,1 мг/л ГК₃. Використання батьківськими компонентами генотипів-носіїв мутантних генів, що відносяться до модифікації антоціану, форми і розміру листків, хлорофільні модифікації уможлиблює

здійснювати ранню ідентифікацію гібридності рослинного матеріалу в умовах *in vitro* за проявом маркерних фенотипових ознак.

14. Обґрунтовано модель для ведення селекції триплоїдного кавуна та розроблено схему сумісного використання методів експериментального мутагенезу та культури ізольованих тканин *in vitro*. Культивування сім'ядоль тетраплоїдних форм кавуна на індукційному поживному середовищі MS, модифікованому 3мг/л БАП, сприяє розмноженню цінних з селекційної точки зору форм, які утворюються з частотою від 1 до 3 % після обробки насінневих проростків кавуна 0,05 % водним розчином колхіцину з експозицією 24 год.

15. Виявлено ефективність гіногенезу в культурі *in vitro* для прискореного розмноження ЧС-ліній моркви – створення стерильної лінії за 2 роки, що на 5 років прискорює одержання гомозиготного матеріалу. Для здешевлення вартості створення подвоєних гіногенних гаплоїдів визначено режим стерилізації донорського матеріалу – 0,1 % розчин HgCl₂ за експозиції 15-20 хв, який забезпечує стерильність бутонів на рівні 50,1-75,5 %, життєздатність – 34,6-43,5 % і сприяє добору вихідного матеріалу із заданими ознаками безпосередньо в польових розсадниках. За рахунок попереднього культивування бутонів моркви на безгормональному середовищі впродовж двох тижнів підвищується ефективність гіногенезу в культурі *in vitro*, забезпечується більш зручне виділення насіннезародків із бутонів з позитивним результатом у 25 % генотипів.

16. Установлено ефективність використання мутантних форм томата для перепрограмування на поживних середовищах експлантатів з гаметофітного напряму на сапрофітний, яке реалізується за рахунок геморізогенного морфогенезу. Підвищеною здатністю до андрогенезу характеризувались і генотипи томата з морфологічними відхиленнями від нормальної будови квітки, з різними типами функціональної чоловічої стерильності (ФЧС), обумовленими мутантними генами (*ps* – 2, *ex*, *ex* – 2), що свідчить про можливий взаємозв'язок між наявністю вказаних генів і здатністю до морфогенезу в культурі ізольованих пиляків.

17. Аналіз різних типів біоматеріалів (молоді суцвіття, денця зубків і повітряних цибулин) для клонального мікророзмноження уможливив обґрунтування ефективності їх використання у селекційних і насінницьких дослідженнях. Стандартизовано метод клонального мікророзмноження рослин часнику, цибулі шалот, стерильних форм томата. Для розмноження інбредних ліній цибулі ріпчастої визначено ефективність процедури клонального мікророзмноження активізацією адвентивних пагонів донець, яка забезпечує отримання за 6 місяців 7,2±4,4 – 11,2±3,5 шт. рослин-регенерантів. Врівняність цибулин пробіркових клонів покоління R₁ становила 97,5 – 97,7 %, у гібрида F₂ розмножених традиційним способом (контроль) – 90,7 %.

18. Для вирішення завдань ідентифікації та диференціації генотипів за допомогою ПЛР-аналізу шістьох МС локусів досліджено поліморфізм 8 сортів цибулі ріпчастої. Детектовано 12 алелів (від 1 до 3 на локус), що дало змогу диференціювати районовані сорти цибулі ріпчастої селекції ІОБ НААН і отримати вихідні дані для створення бази даних ДНК-паспортів. Кластерний

аналіз із використанням генетичних дистанцій дозволив розподілити сорти на 3 кластери, які співпадають з етапами генезису сортової селекції в ІОБ НААН впродовж 1967-2006 рр.

19. Визначено та доведено економічну ефективність упровадження в агропромисловий комплекс України нових сортів овочевих культур створених із застосування клітинних технологій *in vitro*. Для сорту цибулі шалот Ліра вона становить 28750 грн/га, сорту томата Севен – 171538 грн/га, сортів Гурман і Будда відповідно 11211 і 11207 грн/1000 м².

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Для використання в фундаментальних і прикладних селекційних програмах рекомендуються:

- технології селекційного процесу зі створення вихідного матеріалу овочевих рослин родин *Solanaceae* Gals., *Alliaceae* L., *Apiaceae* Linde, *Cucurbitaceae* Juss з визначеними господарсько-цінними ознаками для отримання сортів і гетерозисних гібридів, які включають біотехнологічні ланки;

- лабораторні методи підтримання та розмноження генофонду овочевих культур в культурі *in vitro* (патент № 22540);

- способи прискороного добору джерел стійкості (патенти №№ 62592, 89518, 91923, 106769);

- спосіб підвищення виходу гаплоїдних матеріалів моркви при застосуванні культури незапліднених насінневих зародків в культурі *in vitro* (патент № 30285);

- спосіб створення інбредних ліній цибулі ріпчастої (патент на корисну модель № 79688);

- стійкі до фузаріозного в'янення лінії баклажана (S.m. 62, S.m. 63, S.m. 79), томата (S.l. 11/3, S.l.46/1), огірка (C.s. 22, C.s. 23); стійкі до альтераріозу лінії томата (МК 1/15, МК 1/17, МК 1/30), моркви (D.c.333, D.c.336); рослини міжвидових гібридів томата (5), баклажана (SM 57, SM 58), гарбуза (C.p. 2/15, C.p. 6/15); пробіркові клони: якона (1), часника (G-25), цибулі ріпчастої (D.s/1, D.s/3, D.s/3, D.s/7); стерильні лінії моркви (D.c.325, D.c.338), томата (S.l.3s/12, S.l.4s/12, S. l.1s/14, S.l.8s/14, S.l.11s/14), тетраплоїдні форми кавуна (W.m. 14, W.m. 16).

Для біотехнологічного процесу:

- модифіковані поживні середовища для розмноження, укорінення, формування морфогенного калюсу, отримання регенерантів через органогенез або соматичний ембріодогенез рослин томата, перцю солодкого, баклажана, огірка, кавуна, гарбуза (патент № 815872).

- спосіб підвищення адаптації до умов *in vivo* клонально мікророзмножених *in vitro* пробіркових рослин (патент № 83840);

- біотехнології розмноження в культурі *in vitro* рослин міжвидових гібридів родів *Solanaceae* Gals. та *Cucurbitaceae* Juss. (патент № 79677);

- методичні вказівки для фахівців біотехнологічних лабораторій науково-дослідних інститутів і селекційних станцій, студентів і викладачів навчальних закладів: “Методика досліджень в культурі ізольованих тканин овочевих

рослин”(2004); “Методичні рекомендації з середньотривалого зберігання колекційних зразків часнику в умовах *in vitro*” (2010); “Методичні рекомендації з одержання і розмноження в культурі *in vitro* рослин міжвидових гібридів томата” (2010), “Молекулярно-генетичний метод ідентифікації сортів і гібридів томата” (2010) “Біотехнологічний спосіб створення поліплоїдних форм кавуна” (2015), “Біотехнологічний спосіб подолання погамної несумісності при міжвидовій гібридизації гарбуза в культурі *in vitro*” (2015).

Для фахівців біотехнологічних лабораторій різних форм власності – стандартизований спосіб клонального мікророзмноження вегетативно розмножуваних культур (ДСТУ 7645:2014).

Службам державного сортовипробування – стандартизований спосіб молекулярно-генетичної ідентифікації сортів і гібридів (ДСТУ 8667:2016).

Агрофірмам різних форм власності, фермарам, господарствам населення застосовувати у виробництві нові високопродуктивні сорти: томата – Севен, Гурман, Будда, цибулі шалот – Ліра.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Монографії

1. Kornienko S. Chapter10. Realization of Genetic Potential for Mutant Variability in Tomato Breeding / S. Kornienko, T. Ivchenko, M. Gurin // Mutagenesis: Exploring Novel Genes and Pathways / Book editors N. Tomlekova, I. Kozgar, W. Rafiq / Wageningen Academic Publishers: The Netherlands, 2014. – P. 57-77. (40 % авторства: аналіз та узагальнення експериментальних даних, написання книги та редагування рукопису).

2. Корнієнко С. І. Методологія створення гібридів F₁ моркви на основі ЦЧС / С. І. Корнієнко, Т. К. Горова, Т. І. Івченко та ін. // ІОБ НААН. – Х., 2016. – 80 с. (20 % авторства: аналіз та узагальнення експериментальних даних, написання книги та редагування рукопису).

Статті у наукових фахових виданнях України

3. Івченко Т. В. Использование биотехнологических методов для восстановления всхожести семян овощных растений /Т. В. Івченко, О. Н. Шабетя // Овочівництво і баштанництво : міжвід. темат. наук. зб. / УААН, Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2005. – Вип. 50. – С. 151–157. (80 % авторство, включає проведення досліджень, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення, написання статті).

4. Горова Т. К. Напрямки робіт у насінництві овочевих рослин / Т. К. Горова, В. Й. Гончаренко, О. М. Могільна, Т. В. Івченко // Овочівництво і баштанництво : міжвід. темат. наук. зб. /УААН, Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2006. – Вип. 52. – С. 151–157. (20 % авторство, включає проведення досліджень, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення, написання статті).

5. Івченко Т.В. Клонування рослин *Alliaceae* L., які розмножуються вегетативним способом, в культурі *in vitro* / Т.В. Івченко, Т.І. Віцєня, О. М. Шабетя // Овочівництво і баштанництво : міжвід. темат. наук. зб. /УААН,

Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2007. – Вип. 53. – С. 103–109. (40 % авторства, ідея, аналіз та узагальнення даних, написання статті).

6. Віцень Т. І. Кріозберігання зразків генофонду часнику / Т. І. Віцень, Т. В. Івченко, Т. Ф. Стрибуль, Н. О. Шевченко // НААН, Генетичні ресурси рослин. – Х., 2010. – № 8. – С. 200–208. (30 % авторства, включає аналіз літератури, аналіз експериментальних даних, підготовка статті до друку).

7. Івченко Т. В. Визначення умов інтродукції рослин якоку в умовах Східного Лісостепу України /Т. В. Івченко, Т. І. Віцень // Овочівництво і баштанництво : міжвід. темат. наук. зб. / НААН, Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2011. – Вип. 57. – С. 12–18. (50 % авторства: ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення, написання статті).

8. Івченко Т. В. Оптимізація способів адаптації отриманих в умовах *in vitro* рослин-регенерантів баклажана / Т. В. Івченко, Г. В. Мозговська // Овочівництво і баштанництво: міжвід. темат. наук. зб. / НААН, Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2012. – Вип. 58. – С. 181–188. (40 % авторства: ідея , аналіз та узагальнення експериментальних даних, написання статті).

9. Івченко Т. В. Регенераційний потенціал експлантатів перцю солодкого (*Capsicum annuum*) /Т. В. Івченко, О. Ю. Гарт // Овочівництво і баштанництво: міжвід. темат. наук. зб. / НААН, Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2012. – Вип. 58. – С. 11–17. (60 % авторства: ідея , аналіз та узагальнення експериментальних даних, написання статті).

10. Івченко Т. В. Приготування фільтратів культуральної рідини гриба *Fusarium solani* Sacc. для використання в клітинній селекції баклажана на стійкість проти фузаріозного в'янення / Т. В. Івченко, Г. В. Мозговська // Селекція і насінництво: зб. наук. праць / НААН, ІР ім. В. Я. Юр'єва. – Х., 2013. – С. 23–31 (40 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення даних, написання статті).

11. Івченко Т. В. Використання культури апікальних меристем для прискороного розмноження місцевих форм часнику /Т. В. Івченко, Т. І. Віцень, О. М. Гончаров, Л. М. Урюпіна //Вісник Харківського аграрного університету. – Х., 2013. – № 5. – С. 179–183. (40 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення даних, написання статті).

12. Мірошніченко Т. М. Розмноження стерильних форм томата для гетерозисної селекції за допомогою біотехнологічних методів / Т. М. Мірошніченко, Т. В. Івченко // Овочівництво і баштанництво: міжвід. темат. наук. зб. / НААН, Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2013. – Вип. 59. – С. 212–218. (30 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення даних, написання статті).

13. Ivchenko T. V. The Usage of Cell Selection for Creation of Tomato and Eggplants Breeding Lines with Resistance to *Fusarium* / T. V. Ivchenko, S. I. Kornienko, T. M. Miroshnichenko, H. V. Mozgovska // Agricultural Science and Practice. – К., 2014: – Vol. 1 – № 3 – С. 15–21. (30 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення даних, написання статті).

14. Івченко Т. В. Клітинна селекція овочевих культур на стійкість до біотичних та абіотичних факторів навколишнього середовища / Т. В. Івченко, Н. О. Баштан, Т. І. Віцень та ін. // Вісник аграрної науки. – К., 2014: – Вип. 12 – С. 34–38. (30 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення даних, написання статті).

15. Івченко Т. В. Оцінка стійкості зразків томата проти фузаріозного в'янення в культурі *in vitro* / Т. В. Івченко, Т. М. Мірошніченко, В. Л. Черненко // Овочівництво і баштанництво: міжвід. темат. наук. зб. / НААН, Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2014. – Вип. 60. – С. 193–201. (25 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення даних, написання статті).

16. Мозговська Г. В. Створення перспективного селекційного матеріалу баклажана із використанням біотехнологічних методів / Г. В. Мозговська, Т. В. Івченко, О. М. Шабетя / Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків: зб. наук. праць / НААН, Ін-т біоенергет. культур і цукр. буряків. – К. : ФОРМ Корзун Д. Ю., 2014. – Вип. 21. – С. 161–163 (20 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення даних, написання статті).

17. Івченко Т. В. Використання біотехнологічних методів у створенні вихідного матеріалу для селекції органічних сортів томата / Т. В. Івченко, С. І. Корнієнко, Т. К. Горова, Т. М. Мірошніченко, М. В. Гурін // Фактори експериментальної еволюції / зб. наук. праць – К., 2015. – Т.17. – С. 169–173. (40 % авторства: ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

18. Віценя Т. І. Вплив розміру експлантатів та фітогормонального складу живильного середовища на відновлення меристем часнику після криоконсервування методом вітрифікації / Т. І. Віценя, Т. В. Івченко Т. В, Н. О. Шевченко, Т. Ф. Стрибуль Т. Ф. // Проблеми криобіології и криомедицины. – Х., 2015. – Вип. 25. – № 1. – С. 3–13. (20 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення даних).

19. Івченко Т. В. Використання клітинних технологій *in vitro* для добору стійкого до фузаріозного в'янення (*Fusarium oxysporum*) вихідного матеріалу огірка [Електронний ресурс] / Т. В. Івченко, Т. І. Віценя, О. В. Сергієнко // Наукові доповіді НУБІП, 2016, № 2 (59), – Режим доступу: http://nd.nubip.edu.ua/2016_2/index.html. – 12 с. (50 % авторства: ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

20. Івченко Т. В. Клітинна селекція томата на стійкість до ранньої сухої плямистості (*Alternaria solani Ell*) / Т. В. Івченко, Н. О. Баштан, К. М. Черненко // Вісник Харківського національного аграрного університету ім. В. В. Докучаєва : сер. “Рослинництво, селекція, насінництво, плодоовочівництво”. – Х.; 2016. – Вип. 1. – С. 104–113. (70 % авторства: ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

21. Івченко Т. В. Мікросателітний аналіз сортів цибулі ріпчастої української селекції / Т. В. Івченко, Н. О. Баштан, С. І. Корнієнко // Вісник Центру наукового забезпечення АПВ Харківської області. – 2016. – Вип. 21. – № 2. – С. 155–152. (50 % авторства: ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

Статті у іноземних наукових періодичних виданнях

22. Bilen`ka O. Breeding of onion in Ukraine / O. Bilen`ka, T. Chernyshenko, T. Ivchenko // Vegetable Crops Research Bulletin. – Research institute of vegetables crops Skierniewice, Poland. – 2006. – Vol. 64. – P. 221–223. (20 % авторства: ідея, написання і підготовка статті до друку).

23. Мозговская Г. В. Особенности микроклонального размножения межвидовых гибридов рода *Solanum* и адаптация растений–регенерантов к условиям *in vivo* / А. В. Мозговская, Т. В. Ивченко // Овощеводство : сб. науч. тр. / РУП, Институт овощеводства. – Минск, 2013. – Т. 21. – С. 127–135. (40 % авторства: *ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, написання і підготовка статті до друку*).

24. Ивченко Т. В. Особенности длительного культивирования пробирочных растений отдаленных гибридов томата / Т. Н. Мирошниченко, Т. В. Ивченко, А. П. Самовол // Овощи России – М., 2015. – №1 (26) – С. 20–26. (20 % авторства: *ідея, розробка схем досліджень, аналіз та узагальнення результатів, написання статті*).

25. Ивченко Т. В. Использование технологии *in vitro* для размножения и депонирования коллекционных образцов томата и чеснока / Т. В. Ивченко, Т. И. Вицень, Т. Н. Мирошниченко, О. Н. Шабетя // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. – 2014 – № 3(3). – С. 68–73. (40 % авторства: *ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, написання статті*).

26. Ivchenko T. Sell breeding of vegetable crops on resistance to biotic and abiotic factors of environment / T. Ivchenko, T. Vitsenia, T. Miroshnichenko // Proceedings of Azerbaijan Institute of Crop Husbandry – Baki, 2015. – Vol. XXVI – P. 32–38. (25 % авторства: *ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, написання статті*).

27. Ивченко Т. В. Использование культуры изолированных тканей и клеток *in vitro* для размножения тетраплоидных форм арбуза // Т. В. Ивченко, Н. А. Баштан, Т. К. Горювая // Proceedings of Azerbaijan Institute of Crop Husbandry. – Baki, 2016. – Vol. XXVI – P. 32–38 (40 % авторства: *ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, написання статті*).

Статті у наукових виданнях України

28. Віцень Т. І. Кріоконсервування апікальних меристем часнику / Т. І. Віцень, Т. В. Івченко, Т. Ф. Стрибуль, Н. О. Шевченко // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: Зб. наук. пр. / Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова; ред. кол.: Кунах В. А. та ін. – Київ: Логос, 2007. – С. 463–465 (25 % авторства: *ідея, аналіз та узагальнення результатів, написання статті*).

29. Стрибуль Т. Ф. Зависимость жизнеспособности меристем чеснока от условий криоконсервирования / Т. Ф. Стрибуль, Т. И. Вицень, Т. В. Ивченко, Н. А. Шевченко, Ю. С. Лысак // Проблемы криобиологии. – Харьков, 2008. – № 2. – С. 241 (20 % авторства: *аналіз літератури та ідея, розробка схеми досліджень*).

30. Ивченко Т. В. Удосконалення технології клонального мікророзмноження часнику в культурі *in vitro* / Т. В. Івченко, Т. І. Віцень // Наукові праці Південного філіалу Національного університету біоресурсів і природокористування України «Кримський агротехнічний університет». – Сімферополь, 2009. – Вип.127. – С. 191–194 (50 % авторства: *ідея, аналіз та узагальнення результатів, написання статті*).

31. Ивченко Т. В. Біотехнологічний спосіб створення стійкого до хвороб вихідного селекційного матеріалу овочевих культур /Т. Івченко, Т. Мірошніченко, Т. Віцень, Н. Баштан та ін. // Сільськогосподарська біотехнологія: теоретичні розробки і впровадження в селекцію рослин : збірник наукових праць за

загальною редакцією В. І. Файта. – СГІ –НЦНС. – Одеса: Астропринт, 2016. – С. 148–155. (50 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

Патенти, свідоцтва

32. Пат. № 22540 UA, МПК А01N 3/00 (2007.04) Спосіб кріоконсервування методом вітрифікації меристем часнику сорту Мерэф'янський білий : патент на корисну модель / Віценя Т. І., Івченко Т. В., Стрибуль Т. Ф., Шевченко Н. О., Григоращенко А. І. ; заявник і патентовласник Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. – № u200612465; заяв. 27.11.2006; опубл. 25.04.2007, Бюл. № 5. (30 % авторства: аналіз літератури, отримання експериментальних даних, аналіз і узагальнення, підготовка патенту).

33. Пат. №83840 UA, МПК А01N 27/00, А01N 43/34, А01N 63/04, А01N 3/00, А01N 59/00, А01P 21/00 (2007.12) Спосіб підвищення адаптації до умов *in vivo* клонально мікророзмножених *in vitro* пробіркових рослин картоплі і цибулі ріпчастої: патент на винахід / Дульнєв П.Г., Івченко Т.В., Чернишенко Т. В., Яровий Г. І., Могильна О. М.; заявник і патентовласник Інститут овочівництва і баштанництва НААН. – № u20022108200; заявл. 16.10.2002; опубл. 10.12.2007, бюл. № 20. (40 % авторства: отримання і аналіз експериментальних даних).

34. Пат. № 30285 UA, МПК (2006) А01Н 1/04, С12N 5/00 Спосіб індукції новоутворень у культурі насіннезародків моркви *in vitro*: патент на корисну модель / Сергієнко О. Ф., Івченко Т. В, Яровий Г. І.; заявник та патентовласник Інститут овочівництва і баштанництва НААН. – №m u200709889; заявл. 03.09.2007; опубл. 25.02.2008, Бюл № 4. (20 % авторства: аналіз літератури, отримання експериментальних даних, аналіз і узагальнення).

35. Пат. № 62592 UA, МПК А01Н 1/04 (2006.01) Спосіб створення стійких проти альтернаріозу вихідних селекційних форм томата : патент на корисну модель / Івченко Т. В., Мірошніченко В. П., Черненко В. Л.; заявник та патентовласник Інститут овочівництва і баштанництва НААН. – № u201014200; заявл. 29.11.2010; опубл. 12.09.2011, Бюл. № 17. (40 % авторства: ідея, аналіз літератури, отримання експериментальних даних, аналіз і узагальнення).

36. Пат. № 79677 UA, МПК (2013.01) А01Н 4/00. Спосіб одержання гібридних рослин несумісних видів баклажана роду *Solanum* L. : патент на корисну модель / Мозговська Г. В., Івченко Т. В., Кондратенко С. І.; заявник та патентовласник Інститут овочівництва і баштанництва НААН. – № u201213160; заявл. 19.11.2012; опубл. 25.04.2013, Бюл. № 8. (30 % авторства, ідея, аналіз і узагальнення експериментальних результатів).

37. Пат. № 79688 UA, МПК А01Н 1/04 (2006.01) Спосіб створення інбредних ліній цибулі ріпчастої : патент на корисну модель / Тимчук В. М., Тимчук С. М., Івченко Т. В.; заявник та патентовласник В. М. Тимчук. – № u2012 13223; заявл. 20.11.2012, опубл. 25.04.2013, Бюл. № 8. (40 % авторства, проведення лабораторних досліджень, аналіз експериментальних результатів).

38. Пат. 81587 UA, МПК (2013.01) А01Н 4/00 Спосіб одержання клітинних ліній овочевих рослин родини *Solanaceae* L. в культурі *in vitro* : патент на корисну модель / Івченко Т. В., Мірошніченко Т. М., Мозговська Г. В., Гарт О. Ю., Баштан Н. О.; – заявник та патентовласник Інститут овочівництва і

баштанництва НААН. – № u201213520; заявл. 26.11.2012; опубл. 10.07.2013, Бюл. № 13. (40 % авторства, ідея, аналіз і узагальнення експериментальних результатів).

39. Пат. 89518 UA, МПК (2013.11) A01H 1/00 Спосіб створення фузаріозостійкого вихідного матеріалу пасльонових овочевих культур (томат, баклажан, перець) : патент на корисну модель / Івченко Т. В., Черненко К. М., Черненко В. Л., Мозговська Г. В., Мірошніченко Т. М., Куракса Н. П., Крутько Р. В., Шабетя О. М.; заявник та патентовласник Інститут овочівництва і баштанництва НААН. – № u2013 13062; заявл. 11.11.2013; опубл. 25.04.2014, Бюл. № 8. (40 % авторства, ідея, аналіз і узагальнення експериментальних результатів).

40. Пат. № 91923 UA, МПК (2014.01) A01C1/00 Спосіб створення стійких проти альтернативних форм моркви у культурі *in vitro* : патент на корисну модель / Сергієнко О. Ф., Івченко Т. В., Віценя Т. І., Черненко В. Л.; заявник та патентовласник Інститут овочівництва і баштанництва НААН. – № u2014 00287; заявл. 14.01.2014; опубл. 25.07.2014, Бюл. № 14. (20 % авторства, аналіз експериментальних результатів).

41. Пат. № 106769 UA, МПК (2006.01) A01H1/04 Спосіб створення фузаріозостійкого вихідного матеріалу огірка : патент на корисну модель / Івченко Т. В., Віценя Т. І., Сергієнко О. В.; заявник та патентовласник Інститут овочівництва і баштанництва НААН. – № u2016 10125; заявл. 16.10.2015; опубл. 10.05.2016, Бюл. № 9. (50 % авторства, ідея, аналіз і узагальнення експериментальних результатів).

42. А. с. на сорт рослин 0499. Україна. Цибуля шалот Ліра / О. М. Біленька, Т. В. Івченко, Т. В. Чернишенко, Г. Г. Яшук (Україна). – № 02176001; заявл. 01.11.2003; опубл. 2007. (10 % авторства: клональне мікророзмноження вихідної форми).

Тези і матеріали наукових конференцій

43. Івченко Т. В. Биотехнологические разработки в селекции овощных растений / Т. В. Ивченко, О. Ф. Сергиенко, С. И. Кондратенко, В. П. Мирошниченко, Т. И. Виценя // Инновационные технологии в селекции и семеноводстве сельскохозяйственных культур: сб. тез. межд. науч. конф. Международная научно-практическая конференция: тезисы докладов. – М., 2006. – Т. 2. – С. 119–120.

44. Івченко Т. В. Результати і перспективні напрямки біотехнологічних досліджень з овочевими рослинами / Т. В. Івченко, Г. І. Яровий // "Биотехнология. Образование. Наука. Практика: тез. докл. III Всеукраинской научно-практической конференции с международным участием. – Х.: НТУ. – 2006. – С. 25–26.

45. Шевченко Н. А. Использование нового витрифицирующего раствора при консервировании меристем чеснока / Н. А. Шевченко, Т. Ф. Стрибуль, Т. В. Ивченко, Т. И. Виценя // Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке. Состояние, проблемы и перспективы: 2 Вавиловская международная конференция: тезисы докладов. – СПб: ВИР, 2007. – С. 215–217.

46. Ivchenko T. Onion production and trends in the Ukraine and Eastern Europe / T. Ivchenko, F. Adamicki // Onion conference Proceedings: conference abstracts. (18 November 2009), Peterborough, UK, 2009. – P. 17–18.

47. Івченко Т. В. Формування базових колекцій овочевих рослин з використанням біотехнологічних методів / Т. В. Івченко, Т. І. Віцєня // Геном рослин: зб. наук. пр. 5 міжнародної конференції / Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН. – Одеса, 2008. – С. 192–195.

48. Івченко Т. В. Клітинна селекція калюсних ліній томата, стійких проти *Fusarium oxysporum* f. / Т. М. Мірошніченко, Т. В. Івченко // Селекція та генетика сільськогосподарських рослин: традиції та перспективи: матеріали міжнародної наук.-практ. конф. (17-19 жовтня 2012 р.). – Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства і сортовивчення – Одеса, 2012. – С. 378–379.

49. Івченко Т. В. Добір соматоклонів томата і баклажана, стійких до фузаріозного в'янення / Т. В. Івченко, Т. М. Мірошніченко, Г. В. Мозговська // Підвищення стійкості рослин до хвороб і екстремальних умов середовища в зв'язку із задачами селекції: матеріали міжнародної наук.-практ. конф. (11–12 червня 2013 р.). – IP ім. В. Я. Юр'єва. – Х., 2013. – С. 25.

50. Івченко Т. В. Визначення індивідуальних сублетальних концентрацій ФКР гриба *F. oxysporum* в поживному середовищі для різних генотипів томата / Т. М. Мірошніченко, Т. В. Івченко // Селекційні і технологічні інновації в овочівництві, резерви збільшення виробництва продукції насіння: матеріали міжнародної наук.-практ. конф. – Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2013, С. 55–56. (25 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення результатів).

51. Івченко Т. В. Преодоление постгамной несовместимости у отдельных видов рода *Solanum* L. в культуре *in vitro* / А. В. Мозговская, Т. В. Ивченко // Генофонд и селекция растений: доклады и сообщения I Международной науч.-практ. конф. (8-12 апреля 2013 г.). – РАСХН, ГНУ СибНИИРС. – Новосибирск, 2013. – С. 124–131.

52. Івченко Т. В. Використання методу ембріокультури для створення вихідного селекційного матеріалу рослин баклажана стійких проти фузаріозного в'янення / Т. В. Івченко, Г. В. Мозговська // Овочівництво України. Наукове забезпечення і резерви збільшення виробництва товарної продукції та насіння: матеріали міжнародної наук.-практ. конф. – Інститут овочівництва і баштанництва. – Х., 2013. – С. 57–59.

53. Івченко Т. В. Спосіб оцінки стійкості зразків томата проти фузаріозного в'янення в культурі *in vitro* / Т. М. Мірошніченко, Т. В. Івченко // Створення генофонду овочевих і баштанних культур з високим адаптивним потенціалом та виробництво екологічно чистої продукції: матеріали міжнародної наук.-практ. конф. (29 серпня 2014). – Дніпропетровська дослідна станція ІОБ – Дніропетровськ, 2014 – С. 31–32.

54. Віцєня Т. І. Спосіб дезинфекції суцвіть моркви в культурі *in vitro* /Т. І. Віцєня, Т. В. Івченко // Теоретичні основи оптимізації селекційного процесу основних видів сільськогосподарських рослин: матеріали міжнародної наук.-практ. конф. – Інститут овочівництва і баштанництва. – Х.: Плеяда, 2015, С. 40–42.

Методичні рекомендації, ДСТУ

55. Мірошніченко В.П. Методика досліджень в культурі ізольованих тканин овочевих рослин; підгот.: В. П. Мірошніченко, О. Ф. Сергієнко, Т. В. Івченко, С. А. Гончарова / УААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Х. – 2004 – 25 с. (25 % авторства: отримання експериментальних даних, узагальнення результатів).

56. Віценья Т. І. Методичні рекомендації з середньотривалого зберігання колекційних зразків часнику в умовах *in vitro*; підгот.: Т. І. Віценья, Т. В. Івченко, О. М. Шабетя / УААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Мерефа – 2010. – 15 с. (25 % авторства: виконання дослідів, аналіз та узагальнення результатів).

57. Івченко Т. В. Методичні рекомендації з одержання і розмноження в культурі *in vitro* рослин міжвидових гібридів томата; підгот.: Т. В. Івченко, В. П. Мірошніченко, О. П. Самовол / УААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Мерефа – 2010. – 9 с. (40 % авторства: отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів).

58. Горова Т. К. Науково-практичні підходи до ведення селекції і насінництва часнику звичайного (*Allium sativum L.*); підгот.: Т. К. Горова, О. М. Гончаров, М. О. Скляревський, Т. В. Івченко, Т. І. Віценья, О. П. Стівбір / УААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Мерефа – 2010. – 15 с. (20 % авторства: виконання дослідів, узагальнення результатів).

59. Івченко Т.В. Молекулярно-генетичний метод ідентифікації сортів і гібридів томата (методичні рекомендації); підгот.: Т. В. Івченко, Н. О. Баштан, С. І. Кондратенко / УААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Мерефа – 2010. – 20 с. (40 % авторства: ідея, аналіз та узагальнення результатів).

60. Івченко Т.В. Клітинні технології створення вихідного селекційного матеріалу основних овочевих рослин в культурі *in vitro*: методичні рекомендації; підгот.: Т. В. Івченко, С. І. Корнієнко, С. І. Кондратенко та ін. / НААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Х.: Пляда, 2013. – 47 с. (30 % авторства: отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка до друку).

61. Шабетя О. М. Збереження насіння пасльонових культур у стані життєздатності та генетичної автентичності: методичні рекомендації; підгот.: О. М. Шабетя, Т. В. Івченко, С. І. Кондратенко, О. А. Задорожна, Н. О. та ін. / НААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Х. – 2013. – 47 с. (10 % авторства: виконання дослідів, узагальнення результатів).

62. Івченко Т. В. Біотехнологічний спосіб створення поліплоїдних форм кавуна: методичні рекомендації; підгот.: Т. В. Івченко, С. І. Корнієнко, Н. О.

Баштан та ін. / НААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Мерефа – 2015. – 28 с. (30 % авторства: ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка до друку).

63. Івченко Т. В. Біотехнологічний спосіб подолання постгамної несумісності при міжвидовій гібридизації гарбуза в культурі *in vitro*: методичні рекомендації; підгот.: Т. В. Івченко, С. І. Корнієнко, І. І. Колеснік та ін. / НААН. Інститут овочівництва і баштанництва. – Мерефа – 2015. – 28 с. (30 % авторства: ідея, отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка до друку).

64. ДСТУ 7645:2014 Культури овочеві. Метод вегетативного розмноження *in vitro* / Т. В. Івченко, В. Ю. Гончаренко, О. М. Гончаров, Г. І. Яровий, Т. І. Віценя. – [Чинний від 2015–01–01]. – Київ: Держспоживстандарт України, 2014. – 21с. – (Національний стандарт України). (30% авторства: отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка до друку).

65. ДСТУ 8667:2016 Культури овочеві. Молекулярно-генетичний метод ідентифікації сортів і гібридів / Т. В. Івченко, Ю. М. Сиволап, Н. Е. Кожухова, Н. О. Баштан А. В. Солоденко, О. Є. Гузеватий [Чинний від 2017–01–01]. – Київ: Держспоживстандарт України, 2016. – 21с. – (Національний стандарт України). (30% авторства: отримання експериментальних даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка до друку).

АНОТАЦІЯ

Івченко Т. В. Наукове обґрунтування ефективності методів біотехнології в селекції та насінництві овочевих рослин родин *Solanaceae* Gals., *Alliaceae* L., *Asteraceae* Dumort., *Apiaceae* Lindl., *Cucurbitaceae* Juss. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 – селекція і насінництво – Інститут овочівництва і баштанництва НААН, Харків, 2016.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і практичне вирішення проблеми інтенсифікації селекційного із використанням у новій технології біотехнологічного процесу з використанням біотехнологічної ланки під час створення, розмноження й ідентифікації вихідного матеріалу для селекції овочевих рослин родин *Solanaceae* Gals. (томат, перець, баклажан), *Alliaceae* L. (часник, цибуля шалот, цибуля ріпчаста), *Asteraceae* Dumort. (якон), *Apiaceae* Lindl. (морква), *Cucurbitaceae* Juss. (огірок, гарбуз, кавун).

Вперше в Україні встановлено оптимальні умови для клонального мікророзмноження, калюсогенезу та морфогенезу овочевих рослин родин родин *Solanaceae* Gals. (томат, перець, баклажан), *Alliaceae* L. (часник, цибуля шалот, цибуля ріпчаста), *Asteraceae* Dumort. (якон), *Apiaceae* Lindl. (морква), *Cucurbitaceae* Juss. (огірок, гарбуз, кавун). Визначено сучасні експериментальні підходи до збереження генофонду овочевих культур *ex situ* методами біотехнології. Розроблено способи використання методів ізольованих тканин *in vitro* для подолання таксономічних бар'єрів несумісності, які виникають під час міжвидової гібридизації томата, баклажана, гарбуза і для скринінгу та створення джерел стійкості до грибів роду *Fusarium* і *Alternaria*. Визначено ефективність створення нових ліній методами біотехнології й обґрунтовано теоретичні підходи прискорення селекційного процесу, його інтенсифікації застосуванням клітинних технологій *in vitro* та використання молекулярно-генетичних маркерів для моніторингу генетичної структури селекційних зразків.

Розроблено нові схеми селекційного процесу з використанням методів біотехнології, завдяки чому отримано новий вихідний селекційний матеріал: комплексно-цінні лінії зареєстровані в НЦГРРУ та впроваджено в агропромисловий комплекс України нові сорти.

Ключові слова: генофонд, вихідний матеріал, джерела, клон, стійкість, зберігання, міжвидова гібридизація, ДНК-маркер, гаплоїд, ідентифікація, лінія.

АННОТАЦІЯ

Ивченко Т. В. Научное обоснование эффективности методов биотехнологии в селекции и семеноводстве овощных растений семейств *Solanaceae* Gals., *Alliaceae* L., *Asteraceae* Dumort., *Apiaceae* Lindl., *Cucurbitaceae* Juss. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 - селекция и семеноводство - Институт овощеводства и бахчеводства НААН, Харьков, 2016.

Представлены теоретическое обобщение и практическое решение проблемы интенсификации селекционного процесса с использованием новой технологии биотехнологического звена при создании, размножении и идентификации исходного материала овощных растений семейств *Solanaceae* Gals., *Alliaceae* L., *Asteraceae* Dumort., *Apiaceae* Lindl., *Cucurbitaceae* Juss. Научные проблемы решены благодаря комплексному применению оптимизированных лабораторных методов культуры изолированных клеток и тканей *in vitro*, а также ДНК-технологий для создания, скрининга, генетической стабилизации, размножения и идентификации источников ценных хозяйственных признаков.

Впервые в Украине установлены оптимальные условия для клонального микроразмножения, каллюсогенеза и морфогенеза овощных растений семейств *Solanaceae* Gals. (томат, перец, баклажан), *Alliaceae* L. (чеснок, лук шалот, лук репчатый), *Asteraceae* Dumort. (якон), *Apiaceae* Lindl. (морковь), *Cucurbitaceae* Juss. (огурец, тыква, арбуз). Определены современные экспериментальные подходы к сохранению генофонда овощных культур *ex situ* методами биотехнологии.

Предложено экспериментальный способ восстановления утраченных коллекционных образцов томата, перца, баклажана, который заключается в нарушении органического покоя путем экзогормональной стимуляции прорастания зрелых зародышей растений на питательных средах в культуре *in vitro*. Установлено, что для снижения ростовой активности *in vitro* коллекций чеснока наиболее эффективными являются два приема: сочетание низкой температуры хранения и модифицированного углеводного состава питательной среды. При разработке способа консервации апикальных меристем чеснока ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) высокую сохраняемость коллекционных образцов обеспечила обработка биоматериала ветрифизирующим раствором PVS N (1 М сахарози+2 М глицерину+2,5 М).

Анализ различных типов биоматериалов (апикальные и латеральные меристемы, молодые соцветия, донца зубков и воздушных луковиц) позволил обосновать эффективность их использования в селекции и семеноводстве овощных культур.

Разработаны способы использования методов изолированных тканей *in vitro* для преодоления таксономических барьеров несовместимости, возникающих при межвидовой гибридизации томата, баклажана, тыквы культивированием недоразвитых зиготических зародышей на питательных средах.

Разработаны способы создания устойчивых к грибам рода *Alternaria* Nees. и *Fusarium* Link клеточных линий томата, моркови, баклажана, огурца комплексным применением методов иммунитета, биотехнологии. Использование подготовленного с учетом зонального видового и расового состава возбудителей болезней культурального фильтрата обеспечило в эффективных концентрациях возможность дифференцировать образцы и отобрать устойчивые клеточные варианты. Установлены связи между параметрами эксплантатов в изолированной культуре на селективных средах и полученных из них растений поколения R₁ в полевых условиях.

Для мониторинга генетической структуры селекционных образцов и решения важных вопросов семенного контроля разработан и стандартизирован молекулярно-генетический метод идентификации сортов и гибридов овощных культур.

Установлена эффективность создания новых линий методами биотехнологии и обоснованы теоретические подходы ускорения селекционного процесса, его интенсификации с применением клеточных технологий *in vitro*.

Разработаны новые схемы селекционного процесса с использованием методов биотехнологии, благодаря которым создан новый исходный материал для селекции: комплексно-ценные линии и сорта.

Ключевые слова: генофонд, источник, хранение, устойчивость, межвидовая гибридизация, клон, ДНК-маркер, гаплоид, идентификация, линия.

ABSTRACT

Ivchenko T. V. Scientific rationale for the efficiency of biotechnology methods used in breeding and seed farming of vegetable crops of families: *Solanaceae* Gals., *Alliaceae* L., *Asteraceae* Dumort., *Apiaceae* Lindl., *Cucurbitaceae* Juss. – Manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Sciences (Agriculture), speciality – 06.01.05 – breeding and seed farming – Research Institute for Vegetable and Melon Growing, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2016.

The dissertation provides a theoretical summary of and practical solution to the problem of intensified breeding with the use in the new technology of biotechnological process the biotechnological link while creating, propagating and identifying the source material for breeding vegetable crops of families: *Solanaceae* Gals. (tomato, bell pepper, egg plant), *Alliaceae* L. (garlic, shallot, bulb onion), *Asteraceae* Dumort. (yacón), *Apiaceae* Lindl. (carrot), *Cucurbitaceae* Juss. (onion, pumpkin, watermelon).

For the first time in Ukraine there has been established the specification of optimal conditions for clonal micropropagation, callusogenesis and morphogenesis of vegetable crop families: *Solanaceae* Gals. (tomato, bell pepper, egg plant), *Alliaceae* L. (garlic,

shallot, bulb onion), *Asteraceae* Dumort. (yacón), *Apiaceae* Lindl. (carrot), *Cucurbitaceae* Juss. (onion, pumpkin, watermelon). The research also establishes experimental approaches to preserving the gene pool of vegetable crops *ex situ* with the use of biotechnology methods. There have been developed the ways of using *in vitro* isolated tissue methods for overcoming the taxonomic incompatibility barriers that arise in the interspecies hybridization of tomato, egg plant, pumpkin and for screening as well as creating the source of fungi resilience of the genus *Fusarium* and *Alternaria*. The dissertation also determines the efficiency of the created new lines with the use of biotechnology methods and provides rationale for theoretical approaches of accelerating the breeding process, its intensification with the use of cell technologies *in vitro* as well as the application of molecular genetic markers to monitor the genetic structure of the breeding samples.

It also suggests new schemes for the breeding process with the use of biotechnology methods that allowed obtaining new source material for breeding: comprehensively valuable lines registered with the Ukrainian National Center for Genetic Resources of Plants with the introduction of the new varieties into the agricultural complex of Ukraine.

Key words: gene pool, source material, sources, clone, resilience, preservation, interspecies hybridization, DNA-marker, haploid, identification, line.