

Скринінг генотипів тритикале озимого на стійкість проти засолення в культурі апікальних меристем пагонів

С. В. Пикало¹, О. В. Дубровна²

¹Миронівський інститут пшениці імені В. М. Ремесла НААН України, с. Центральне, Миронівський р-н, Київська обл., 08853, Україна, e-mail: pykserg@ukr.net

²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, вул. Васильківська, 31/17, м. Київ, 03022, Україна

Мета. Провести скринінг *in vitro* різних генотипів тритикале озимого на стійкість проти засолення в культурі апікальних меристем пагонів. **Методи.** Культура тканин і органів *in vitro*, селекція *in vitro*, статистичний аналіз. **Результати.** Виявлено, що зі збільшенням концентрації хлориду натрію з 0,6 до 1,5% у всіх генотипів відбувалося пригнічення росту калюсної культури, що свідчить про токсичний вплив стресового чинника. Встановлено, що концентрація 1,2% хлориду натрію дає змогу диференціювати генотипи тритикале за солестійкістю. Визначено, що найбільшою стійкістю проти сольового стресу характеризувалася лінія '38/1296', оскільки калюси цього генотипу в селективних умовах відрізнялися підвищеним морфогенетичним потенціалом, мали найбільший приріст сирі маси, і лише з експлантів цієї лінії після культивування на середовищі з хлоридом натрію концентрацією 1,5% було отримано рослини-регенеранти. Сорт 'АДМ 11' виявився найчутливішим до сольового стресу, тому що в його калюсах в селективних умовах було виявлено масовий некроз та відсутність регенераційної здатності. У вивчених форм зазначено генотипову залежність процесів морфогенезу в культурі *in vitro*. З індукованих калюсів отримано рослини-регенеранти, оптимізовано їх дорощування, вкорінення та переведення в умови *in vivo*. **Висновки.** Генотипова реакція на сольовий стрес у культурі апікальних меристем пагонів тритикале озимого проявлялася неоднаковим приростом сирі маси та різним морфогенетичним потенціалом. Лінія '38/1296' може бути використана як цінний матеріал для подальшої селекції тритикале озимого. Культуру апікальних меристем пагонів рекомендовано застосовувати як тест-систему для проведення скринінгу генотипів тритикале на стійкість проти сольового стресу.

Ключові слова: тритикале озиме, сольовий стрес, стійкість, калюс.

Вступ

Тритикале (*×Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus 1927) є наймолодшою зерновою культурою і першим злаком, синтезованим людиною [1]. Ця культура поєднує в собі високий потенціал урожайності зерна та зеленої маси, комплексний імунітет до грибних захворювань, високий вміст білка й лізину в зерні, а також основних поживних речовин у зеленій масі [2, 3].

У зв'язку з постійно зростаючим світовим попитом на продовольче зерно тритикале його вирощують майже в усіх ґрунтово-кліматичних зонах України, де поряд з іншими причинами, що знижують його врожайність,

значної шкоди завдають абіотичні стресові чинники, зокрема засолення ґрунтів [4, 5]. Шкідлива дія засолення має комплексний характер і зумовлена як порушенням осмотичного балансу клітини, так і прямим токсичним впливом на фізіологічні та біохімічні процеси в клітині [6, 7].

Як відомо [8–11], стійкість рослин проти несприятливих чинників довкілля є генетично детермінованою і проявляється на різних рівнях організації, зокрема й на клітинному. Це дає змогу використовувати біотехнологічні підходи, які базуються на клітинних технологіях *in vitro*, що, з одного боку, дає змогу розширити генетичну різноманітність рослин, безпосередньо впливаючи на генетичний апарат, з іншого – створити системи прямого добору стійких генотипів [9, 10]. Переваги добору *in vitro*, порівнюючи з традиційними методами, полягають насамперед в економії місця та можли-

Serhii Pykalo

<http://orcid.org/0000-0002-3158-3830>

Oksana Dubrovna

<http://orcid.org/0000-0002-4884-7572>

вості працювати з великими вибірками генотипів; більшій швидкості скринінгу селекційного матеріалу; менших обсягах матеріальних витрат; можливості контролювати умови зовнішнього середовища [8].

Одним з ключових чинників, що впливає на ефективність біотехнологічних робіт зі злаковими культурами, є вибір відповідного типу експланта. Традиційним типом експланта для злакових є незрілі зародки, основною вадою яких є використання тільки в короткий період часу. Останнім часом значно зріс інтерес до апікальної меристеми пагонів як найперспективнішого експланта для злакових культур [12]. Перевагою цього типу експланта є те, що він дає змогу нівелювати генотипові особливості форм, що характеризуються низьким регенераційним потенціалом, та отримати значну кількість вихідного матеріалу за короткий час, а також його доступність у будь-яку пору року [13]. Культуру апікальних меристем широко використовують як джерело калюсної тканини, оскільки меристемні сегменти пагонів містять пул клітин, що активно поділяються й характеризуються високою частотою індукції калюсу – до 90% [13, 14].

Мета досліджень – провести скринінг *in vitro* різних генотипів тритикале озимого на стійкість проти сольового стресу в культурі апікальних меристем пагонів тридобових стерильних проростків з використанням хлориду натрію як стресового чинника.

Матеріали та методика досліджень

Матеріалом досліджень були сорти тритикале озимого ‘Обрій’, ‘Миролан’, ‘АДМ 11’, лінії ‘38/1296’, ‘1324’ та гібрид ‘F₂ 809’ з робочої колекції Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла НААН України. Для отримання донорних рослин насіння спочатку стерилізували 1%-м розчином KMnO₄ протягом 3 хв. Потім одну хвилину його витримували в 1%-му розчині AgNO₃ й поміщали в 96%-й етанол на одну хвилину. Кінцевим етапом стерилізації було триразове промивання стерильною дистильованою водою. Отримане простерилізоване насіння пророщували на світлі за температури 24 °C на безгормональному середовищі Мурасіге–Скуга (МС) [15]. Як експланти використовували апікальну меристему пагона тридобових стерильних проростків. Для кожного генотипу було взято по 160 експлантів (4 чашки Петрі по 40 експлантів).

Культуру калюсної тканини отримували на середовищі МС, яке додатково містило L-аспарагін (150 мг/л), AgNO₃ (10 мг/л) та 2,4-Д (2 мг/л). Експланти культивували за темпера-

тури 26 °C у темряві протягом трьох тижнів. Потім їх переносили на світло й далі вирощували за освітлення 3–4 клк, відносної вологості повітря 70% і 16-годинного фотоперіоду ще протягом двох тижнів. Наприкінці пасажу визначали частоту індукції калюсу (у відсотках) як співвідношення кількості експлантів, які утворили калюс, до їх загальної кількості. Отримані калюси пересаджували в чашки Петрі на селективне середовище й культивували протягом 4 тижнів (одного пасажу), визначаючи при цьому їхню виживаність та приріст сирої маси. Як селективний агент застосовували хлорид натрію (NaCl), який додавали до модифікованого середовища МС у концентраціях 0,6, 0,9, 1,2 та 1,5%. Контролем було середовище без NaCl.

Для індукції морфогенезу калюси переносили на регенераційне середовище МС, доповнене 1 мг/л БАП та 0,5 мг/л ІОК. Одержані пагони в міру розвитку переносили на безгормональне середовище МС з половинним вмістом макросолей для вкорінення. Вкорінені рослини-регенеранти пересаджували у горщики зі спеціально підбраною ґрунтовою сумішшю й поміщали у вологу камеру на 7–14 діб, після чого їх переносили в ґрунт.

Частоту утворення морфогенного калюсу та регенерації пагонів (у відсотках) по кожному варіанту визначали як співвідношення кількості морфогенних калюсів або регенерантів до початкової кількості висаджених експлантів. Експериментально отримані дані обробляли за допомогою методів статистичного аналізу [16].

Результати досліджень

Попередні експерименти з культивованими клітинами свідчать, що не лише склад живильних середовищ, умови культивування, тип тканин експланта, умови підготовки рослинного матеріалу до введення його в культуру, а й генотипові особливості значною мірою впливають на процеси морфогенезу [17–19]. Було встановлено, що досліджувані генотипи характеризувалися різною здатністю до утворення калюсу, яка варіювала від 70% у сорту ‘АДМ 11’ до 97% у лінії ‘38/1296’ (рис. 1).

У деяких досліджених форм початок калюсогенезу спостерігали вже на третю–четверту добу культивування. Утворювався прозорий світлий калюс аморфної консистенції.

Після перенесення на світло через 10–16 діб культивування було виявлено два типи калюсу, які розрізняли за морфофізіологічними властивостями (рис. 2): морфогенний

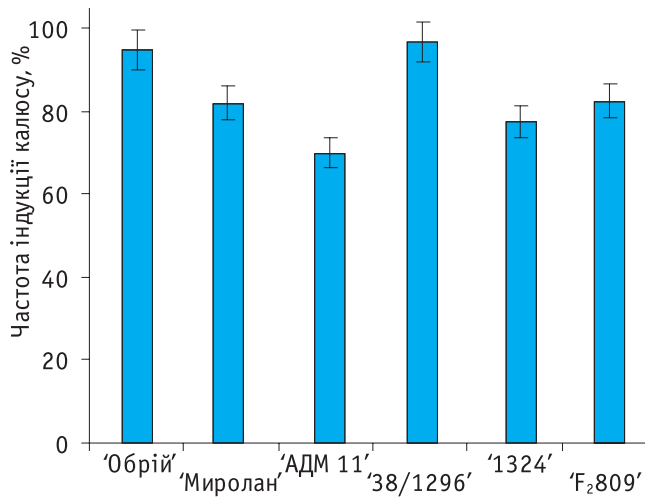


Рис. 1. Частота індукції калюсу в різних генотипів тритикале

– калюс, здатний до регенерації, що містить агрегати клітин із щільних сегментів жовтувато-білого кольору з ділянками зелених

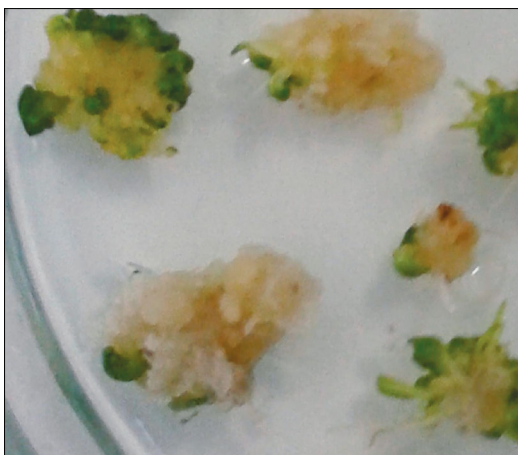
хлорофіловмісних клітин; неморфогенний – калюс, який не здатний до морфогенезу і складається з м'яких, водянистих клітин білого кольору, у разі подальшого культивування яких спостерігався некроз.

Під час визначення виживаності калюсних культур тритикале на варіантах з хлоридом натрію концентрацією 0,6–1,5% найбільшу частку живих калюсів було виявлено у лінії '38/1296' (табл. 1).

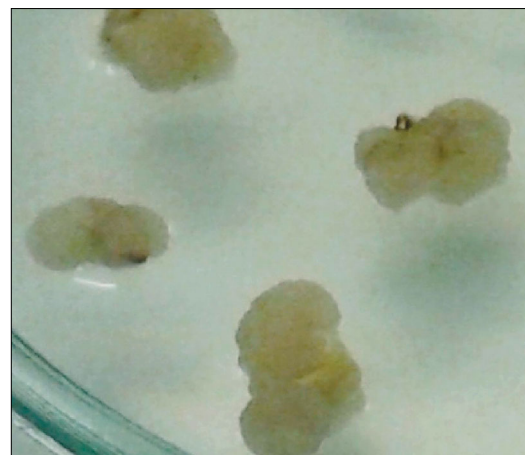
Таблиця 1

Вживаність калюсів тритикале на селективному середовищі з різною концентрацією NaCl, %

Генотип	Варіант досліджу				
	Контроль	0,6%	0,9%	1,2%	1,5%
'Обрій'	95,0±1,7	81,3±3,1	56,9±3,9	38,8±3,9	–
'Миrolан'	81,9±3,1	78,1±3,3	53,8±3,9	35,0±3,8	–
'АДМ 11'	70,0±3,6	58,8±3,9	46,3±3,9	23,8±3,4	–
'38/1296'	96,9±1,4	85,6±2,8	70,6±3,6	53,1±4,0	13,1±2,7
'1324'	77,5±3,3	69,4±3,6	50,6±4,0	27,5±3,5	–
'F ₂ 809'	82,5±3,0	72,5±3,5	53,1±4,0	30,6±3,6	–

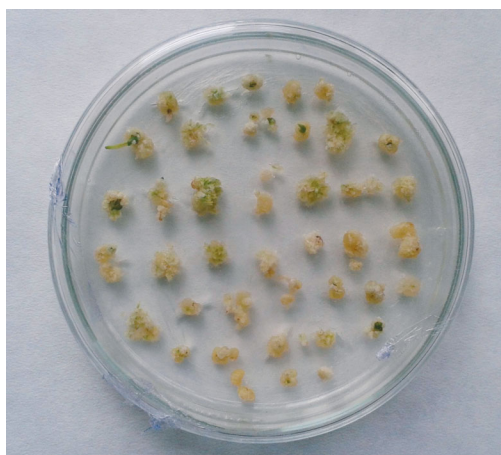


а

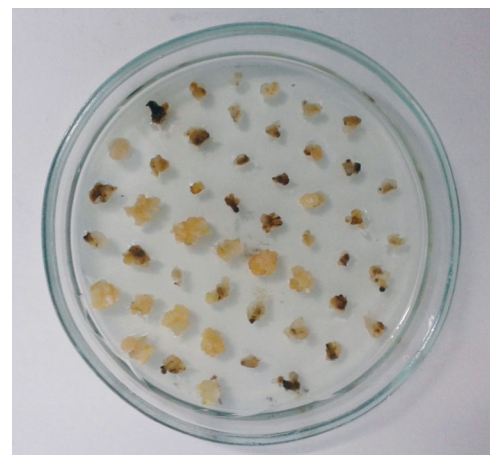


б

Рис. 2. Типи індукованих калюсів тритикале: а – морфогенні калюси; б – неморфогенні калюси



а



б

Рис. 3. Калюси лінії '38/1296': а – контроль; б – селективне середовище з 1,5% NaCl

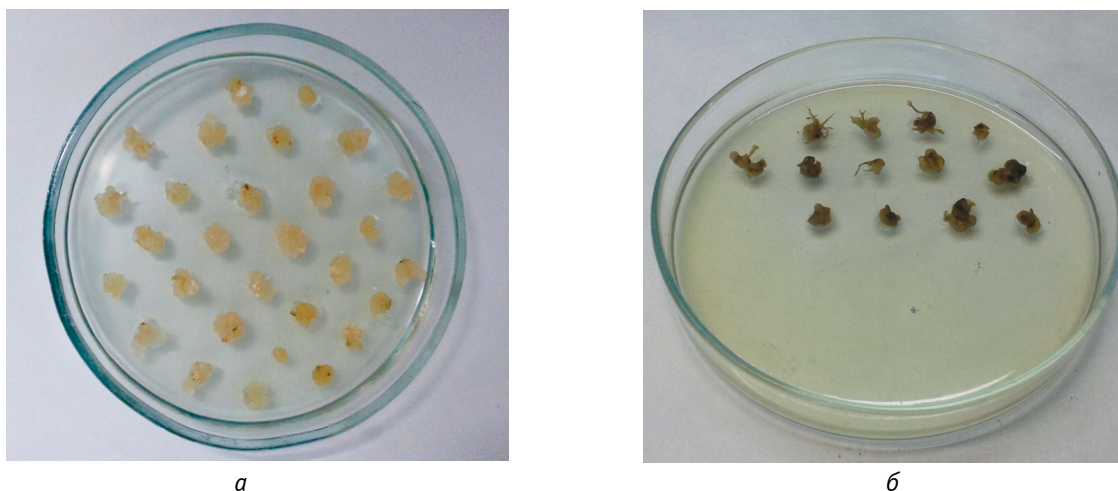


Рис. 4. Калюси сорту 'АДМ 11': а – контроль; б – селективне середовище з 1,2% NaCl

Частина калюсів зазначеного генотипу продовжувала рости, вони були життєздатними навіть за концентрації 1,5% NaCl (рис. 3).

Для решти генотипів така концентрація виявилася летальною, оскільки їхні калюси під час культивування в цьому варіанті загинули. За критерієм толерантності до осмотичного стресу найгірше зарекомендував себе сорт 'АДМ 11', оскільки у нього виживаність калюсів на всіх варіантах була найменшою. Велика частка їх спочатку потемніла, а потім почався розвиток некрозу (рис. 4).

Таким чином, лінія '38/1296' виявилася найменш чутливою до дії сольового стресу, оскільки саме цей генотип мав найбільшу частку життєздатних калюсів. Загалом, чіткішу диференціацію всіх досліджуваних генотипів за солестійкістю було отримано за концентрації 1,2% NaCl.

Було досліджено вплив хлориду натрію концентрацією 0,6–1,5% на приріст сирої маси калюсів тритикале. Встановлено, що в усіх генотипів відбувалося пригнічення росту калюсної тканини вже за концентрації 0,6% NaCl, а в разі збільшення дози селективного чинника з 0,6 до 1,5% приріст маси калюсів помітно знижувався (рис. 5).

Концентрація 0,6% NaCl неістотно вплинула на приріст біомаси калюсів лінії '38/1296', сорту 'Обрій' та 'Миролан'. Сорт 'АДМ 11' виявився найменш стійким, оскільки втрата сирої маси калюсів у цьому варіанті становила близько 32%. Інші генотипи займали проміжне положення за приростом біомаси в цьому діапазоні концентрацій.

У варіантах з 0,9% NaCl сира маса калюсів у лінії '38/1296' зменшилася майже в 1,5 раза, в сортів 'Обрій' та 'Миролан' – у

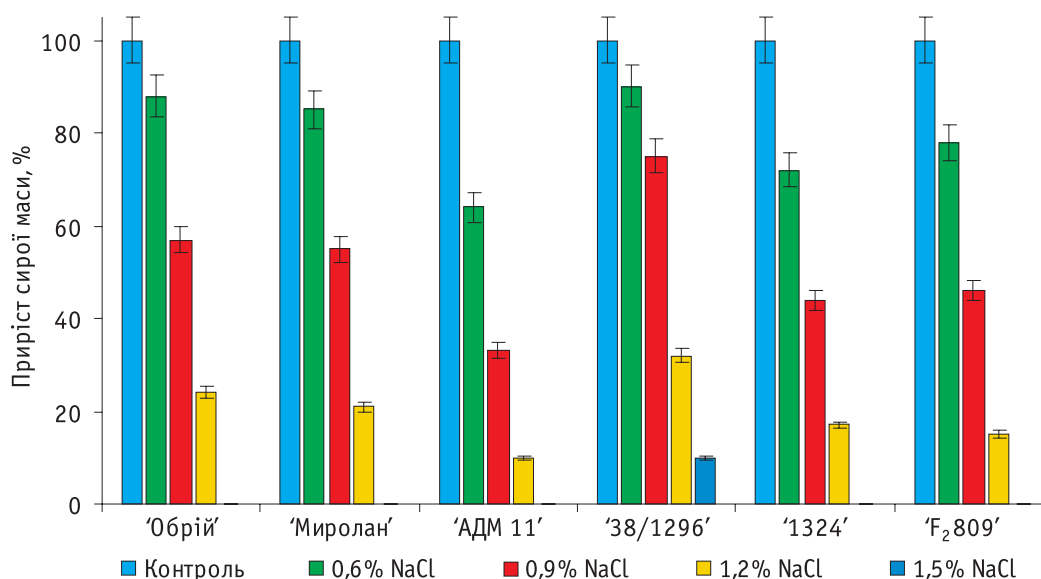


Рис. 5. Приріст сирої маси калюсів тритикале на середовищах з різною концентрацією хлориду натрію

1,7 і 2 відповідно, в гібрида 'F₂ 809' та лінії '1324' – у 2,5, у сорту 'АДМ 11' – у 3 рази.

У разі підвищення дози хлориду натрію до 1,2% пригнічення росту було виражене набагато сильніше, при цьому на калюсах більшості генотипів виникали ділянки некрозу. На варіантах з 1,5% NaCl ріст калюсу зафіксовано лише в лінії '38/1296', у решти генотипів спостерігалось масове відмирання клітин, а приріст біомаси взагалі не відбувався.

Варто підкреслити, що найвищий приріст сирової маси калюсів на всіх варіантах селективних середовищ мала лінія '38/1296', що свідчить про її підвищену солестійкість. Згідно з отриманими результатами, зі збільшенням концентрації хлориду натрію з 0,6 до 1,2% в усіх досліджуваних генотипів відбувалося пригнічення росту калюсів, що свідчить про токсичний ефект стресового чинника.

Морфогенний калюс у всіх генотипів, порівняно з контролем, найкраще утворювався на селективному середовищі з 0,6% NaCl (табл. 2).

У варіантах з 1,2% NaCl у морфогенних калюсів переважної більшості генотипів відбувався лише ризогенез або утворювалися пагони, які поступово припиняли свій ріст.

Треба зазначити, що морфогенний калюс на середовищі з хлоридом натрію концентрацією 1,5% утворювала лише лінія '38/1296'. Калюси решти генотипів проявляли ознаки морфогенезу тільки за концентрації 0,6–1,2% NaCl. У сорту 'АДМ 11' та гібрида 'F₂ 809' утворення морфогенного калюсу за селективних умов відбувалось у варіантах з 0,6 та 0,9% NaCl.

Протягом культивування всі морфогенні калюси в міру розвитку пересаджували на модифіковане середовище для регенерації, відсаджуючи пагони, що утворилися, на середовище без фітогормонів. На калюсах спостерігали утворення щільних зелених або світло-жовтих глобулярних ділянок. За подальшого культивування на зелених ділянках відбувався інтенсивний ризогенез, тоді як на глобулярних ділянках утворювалися пагони. Формування соматичних зародків спостерігали на 8–12 добу культивування на регенераційному середовищі. Максимальну частоту їх утворення спостерігали на 20–25 добу культивування. Важливо підкреслити, що соматичний ембріогенез біотехнологічно є оптимальнішим, оскільки в цьому разі рослина формується із зародка, що має зачатки всіх органів [20, 21].

Таблиця 2

Частота утворення морфогенного калюсу та регенерації пагонів тритикале за різних концентрацій NaCl

Генотип	Частота утворення морфогенного калюсу, %					Частота регенерації, %				
	Контроль	0,6%	0,9%	1,2%	1,5%	Контроль	0,6%	0,9%	1,2%	1,5%
'Обрій'	47,5±4,0	38,1±3,8	21,3±3,2	9,4±2,3	–	21,3±3,2	15,0±2,8	6,3±1,9	5,0±1,7	–
'Миролан'	50,0±4,0	36,9±3,8	20,6±3,2	6,9±2,0	–	16,3±2,9	11,9±2,6	6,9±2,0	5,6±1,8	–
'АДМ 11'	27,5±3,5	8,8±2,2	–	–	–	10,6±2,4	–	–	–	–
'38/1296'	58,1±3,9	48,8±4,0	31,3±3,7	13,1±2,7	9,4±2,3	36,3±3,8	23,1±3,3	19,4±3,1	12,5±2,6	3,8±1,5
'1324'	35,6±3,8	21,9±3,3	15,6±2,9	4,4±1,6	–	15,6±2,9	6,9±2,0	5,0±1,7	–	–
'F ₂ 809'	40,6±3,9	20,6±3,2	16,9±3,0	3,1±1,4	–	14,4±2,8	7,5±2,1	4,4±1,6	–	–

Внаслідок пасажування калюсів на селективному середовищі з 1,5% NaCl регенерація пагонів відбувалася лише в лінії '38/1296', що свідчить про її підвищену толерантність до сольового стресу. У варіантах з 1,2% NaCl процеси регенерації пагонів проходили в лінії '38/1296', сортів 'Обрій' та 'Миролан'.

На середовищі з хлоридом натрію концентрацією 0,6 та 0,9% NaCl регенерація пагонів відбувалася у всіх генотипів, крім сорту 'АДМ 11', який виявився найчутливішим до дії сольового стресу.

Отримані пагони в міру розвитку перенесли на безгормональне середовище МС з половинним вмістом макросолей для вкорінення (рис. 6).

Укорінені регенеранти пересаджували в горщики зі спеціально підбраною ґрунто-

вою сумішшю й поміщали у вологу камеру на 7–14 діб. Добре укорінені рослини переносили в ґрунт.

Таким чином, внаслідок проведених досліджень було виділено лінію '38/1296', калюсні культури якої виявилися найстійкішими до хлориду натрію й зберігали морфогенетичний потенціал за летальної для інших генотипів концентрації селективного чинника. Варто підкреслити, що в попередній роботі [20] у виділеній лінії '38/1296' було виявлено підвищену її стійкість і проти водного дефіциту. Як зазначає ряд авторів [6, 7, 21], стійкість проти осмотичного стресу часто забезпечує підвищення толерантності й до сольового, оскільки в обох випадках функціонують одні й ті самі механізми, спрямовані на зниження водного по-

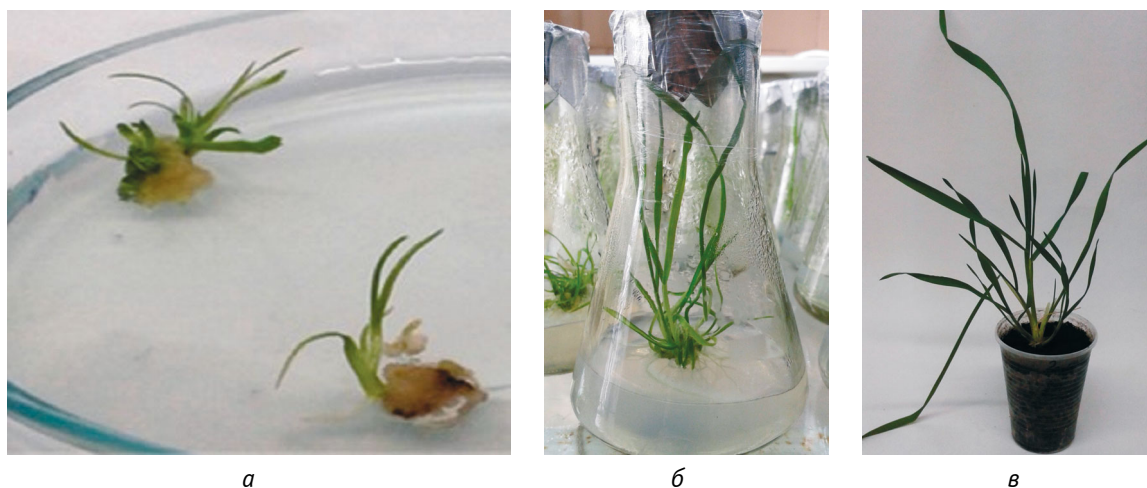


Рис. 6. Регенерація пагонів тритикале лінії '38/1296' після культивування на селективному середовищі з хлоридом натрію концентрацією 1,2%:
а – регенерація пагонів; б – укорінені пагони; в – переведення регенерантів в умови *in vivo*

тенціалу та захист життєво важливих макромолекул і структур клітин.

Потрібно також зазначити, що на контрольному середовищі калюсогенез та регенерація пагонів між генотипами також відрізнялись. Це свідчить про те, що на ці процеси негативно впливає не тільки стресовий чинник, а й великою мірою генотипові особливості [22, 23]. Значні розходження між генотипами за частотою індукції калюсу та регенерації пагонів підтверджують наявність різних генетичних систем регуляції цих процесів [17, 18]. У попередніх дослідженнях [24] вже було показано вплив генотипу на регенераційну здатність культивованих тканин тритикале. Таким чином, для підвищення морфогенетичного потенціалу калюсної тканини необхідно підбирати індивідуальні умови культивування для кожного досліджуваного зразка, враховуючи при цьому його генотипові особливості.

Висновки

Методом прямого добору проведено скринінг *in vitro* різних генотипів тритикале озимого на стійкість проти сольового стресу в культурі апікальних меристем пагонів тридобових стерильних проростків з використанням хлориду натрію як стрес-чинника. Різна реакція генотипів на сольовий стрес проявлялася неоднаковим приростом сирової маси та різним морфогенетичним потенціалом за дії стресового чинника. Чіткішу диференціацію генотипів спостерігали за концентрації 1,2% NaCl. Встановлено, що найбільшою стійкістю проти сольового стресу характеризувалась лінія '38/1296', оскільки калюси цього генотипу за селективних умов виділялися підвищеним морфогене-

тичним потенціалом, мали найбільший приріст біомаси, й лише з експлантів цієї лінії після культивування на середовищі з хлоридом натрію концентрацією 1,5% було отримано рослини-регенеранти. Для решти генотипів концентрація 1,5% NaCl виявилася летальною. Лінія '38/1296' може бути цінним матеріалом для подальшої селекції тритикале.

Використана література

- Oettler G. The fortune of a botanical curiosity – Triticale: past, present and future. *J. Agric. Sci.* 2005. Vol. 143, Iss. 5. P. 329–346. doi: 10.1017/S0021859605005290
- Mohammad F., Ahmad I., Khan N. U. et al. Comparative study of morphological traits in wheat and triticale. *Pak J Bot.* 2011. Vol. 43. P. 165–170.
- Рибалка О. І., Моргун В. В., Моргун Б. В., Починок В. М. Агронімічний потенціал і перспективи тритикале. *Фізіологія рослин і генетика.* 2015. Т. 47, № 2. С. 95–111.
- Blum A. The abiotic stress response and adaptation of triticale – a review. *Cereal Res Commun.* 2014. Vol. 42, Iss. 3. P. 359–375. doi: 10.1556/CRC.42.2014.3.1
- Авдеев Ю. И., Слащева Л. А. Устойчивость озимой тритикале к экстремальным абиотическим факторам среды в аридной зоне возделывания. *Астр. Вест. Экол. Обр.* 2014. Т. 29, № 3. С. 84–87.
- Krasensky J., Jonak C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J. Exper. Bot.* 2012. Vol. 63, Iss. 4. P. 1593–1608. doi: 10.1093/jxb/err460
- Bartels D., Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2005. Vol. 24, Iss. 1. P. 23–58. doi: 10.1080/07352680590910410
- Lestari E. G. *In vitro* selection and somaclonal variation for biotic and abiotic stress tolerance. *Biodiversitas.* 2006. Vol. 7. P. 297–301. doi: 10.13057/biodiv/d070320
- Rai M. K., Kalia R. K., Singh R. et al. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection – An overview of the recent progress. *Environ. Exper. Bot.* 2011. Vol. 71, Iss. 1. P. 89–98. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.10.021
- Sudyova V., Slikova S., Galova Z. Testing wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticale (*Triticosecale* Witt.) callus to salt tolerance. *Acta Fytotechn. Zootechn.* 2002. Vol. 3. P. 67–71.

11. Wang X.-J., Bao W. K. Genetic mechanism of the occurrence of salttolerant variant of octoploid triticale under tissue and cell culture. *Acta Bot. Sin.* 1998. Vol. 40, Iss. 4. P. 330–336.
12. Ahmad A., Zhong H., Wang W., Sticklen M. Shoot apical meristem: *In vitro* regeneration and morphogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.). *In Vitro Cell Develop Biol.-Plant.* 2002. Vol. 38, Iss. 2. P. 163–167. doi: 10.1079/IVP2001267
13. Zhang S., Zhang H., Sticklen H. B. Production of multiple shoot from shoot apical meristems of oat (*Avena sativa* L.). *J. Plant Physiol.* 1996. Vol. 148, Iss. 6. P. 667–671. doi: 10.1016/S0176-1617(96)80365-8
14. Patnaik D., Khurana P. Wheat Biotechnology: A minireview. *Electron. J. Biotechnol.* 2001. Vol. 4., No. 2. P. 74–102. doi: 10.4067/S0717-34582001000200007
15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, Iss. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
16. Лакин Г. Ф. Биометрия. 4-е изд., перераб. и доп. Москва : Высшая школа, 1990. 352 с.
17. Atak N., Muharemm K., Khavar K. et al. Effect of age on somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of 5 Turkish triticale genotypes. *Afr. J. Biotechnol.* 2008. Vol. 7, Iss. 11. P. 1765–1768.
18. Marcińska I., Wędzony M. Effect of physical, physiological and genetic factors on callus induction, differentiation and regeneration of winter triticale (*×Triticosecale* Wittm.). *Cereal Res. Comm.* 2002. Vol. 30, Iss. 1–2. P. 63–68.
19. Birsin M. A., Ozgen M. Comparison of callus induction and plant regeneration from different embryo explants of triticale (*×Triticosecale* Wittmack.). *Cell Mol Biol Lett.* 2004. Vol. 9, Iss. 2. P. 353–361.
20. Пикало С. В., Зінченко М. О., Волощук С. І., Дубровна О. В. Селекція *in vitro* тритикале озимого на стійкість до водного дефіциту. *Biotechnologia Acta.* 2015. Т. 8, № 2. С. 69–77. doi: 10.15407/biotech8.02.069
21. Зінченко М. О. Клітинна селекція пшениці на стійкість до комплексу стресових факторів : автореф. дис. ... канд. біол. наук : спец. 03.00.15. «Генетика» / Ін-т фізіології рослин і генетики НАНУ. Київ, 2014. 20 с.
22. Vikrant, Rashid A. Comparative study of somatic embryogenesis from immature and mature embryos and organogenesis from leaf-base of Triticale. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2001. Vol. 64, Iss. 1. P. 33–38. doi: 10.1023/A:1010627630651
23. Eudes F., Acharya S., Laroche L. A. et al. Novel method to induce direct somatic embryogenesis, secondary embryogenesis and regeneration of fertile green cereal plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2003. Vol. 73, Iss. 2. P. 147–157. doi: 10.1023/A:1022800512708
24. Пыкало С. В., Зинченко М. А., Волощук С. И., Дубровная О. В. Морфогенез тритикале озимого в культуре апикальных меристем побегов. *Биотехнология: достижения и перспективы развития* : матер. I Межд. науч.-практ. конф. (г. Пинск, 25–26 сентября 2014 г.). Пинск : ПолесГУ, 2014. С. 29–34.
5. Avdeyev, Y. I., & Slascheva, L. A. (2014). Resistance of winter triticale to extreme abiotic factors of environment in arid zone of cultivation. *Astrakhanskiy Vestnik Ekologicheskogo Obrazovaniya* [Astrakhan Bulletin for Environmental Education], 3(29), 84–87. [in Russian]
6. Krasensky, J., & Jonak, C. (2012). Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J. Exper. Bot.*, 63(4), 1593–1608. doi: 10.1093/jxb/err460
7. Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 24(1), 23–58. doi: 10.1080/07352680590910410
8. Lestari, E. G. (2006). *In vitro* selection and somaclonal variation for biotic and abiotic stress tolerance. *Biodiversitas*, 7(3), 297–301. doi: 10.13057/biodiv/d070320
9. Rai, M. K., Kalia, R. K., Singh, R., Gangola, M. P., & Dhawan, A. K. (2011). Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection – An overview of the recent progress. *Environ. Exper. Bot.*, 71(1), 89–98. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.10.021
10. Sudyova, V., Slikova, S., & Galova, Z. (2002). Testing wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticale (*Triticosecale* Witt.) callus to salt tolerance. *Acta Fytotechn Zootecn*, 3, 67–71.
11. Wang, X.-J., & Bao, W. K. (1997). Genetic mechanism of the occurrence of salttolerant variant of octoploid triticale under tissue and cell culture. *Acta Bot. Sin.*, 40(4), 330–336.
12. Ahmad, A., Zhong, H., Wang, W., & Sticklen, M. B. (2002). Shoot apical meristem: *In vitro* regeneration and morphogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.). *In Vitro Cell Develop Biol.-Plant.*, 38(2), 163–167. doi: 10.1079/IVP2001267
13. Zhang, S., Zhang, H., & Sticklen, M. B. (1996). Production of multiple shoot from shoot apical meristems of oat (*Avena sativa* L.). *J. Plant Physiol.*, 148(6), 667–671. doi: 10.1016/S0176-1617(96)80365-8
14. Patnaik, D., & Khurana, P. (2001). Wheat biotechnology: A minireview. *Electron. J. Biotechnol.*, 4(2), 74–102. doi: 10.4067/S0717-34582001000200007
15. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15(3), 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
16. Lakin, G. F. (1990). *Biometriya* [Biometrics]. (5th ed., rev.). Moscow: Vysshaya shkola. [in Russian]
17. Atak, M., Kaya, M., Khawar, K. M., Saglam, S., Özcan, S., & Ciftci, C. Y. (2008). Effect of age on somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of 5 Turkish triticale genotypes. *Afr. J. Biotechnol.*, 7(11), 1765–1768.
18. Marcińska, I., & Wędzony, M. (2002). Effect of physical, physiological and genetic factors on callus induction, differentiation and regeneration of winter triticale (*×Triticosecale* Wittm.). *Cereal Res. Comm.*, 30(1–2), 63–68.
19. Birsin, M. A., & Ozgen, M. (2004). A comparison of callus induction and plant regeneration from different embryo explants of triticale (*×Triticosecale* Wittmack). *Cell Mol Biol Lett*, 9(2), 353–361.
20. Pykalo, S. V., Zinchenko, M. O., Voloshchuk, S. I., & Dubrovna, O. V. (2015). *In vitro* breeding of winter triticale for resistance to water deficit. *Biotechnologia Acta*, 8(2), 69–77. doi: 10.15407/biotech8.02.069. [in Ukrainian]
21. Zinchenko, M. O. (2014). *Klitynna selektsiia pshenytsi na stiikist do kompleksu stresovykh faktoriv* [Cellular breeding of wheat for resistance to the complex of stress factors] (Cand. Biol. Sci. Diss.). Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS, Kyiv, Ukraine. [in Ukrainian]
22. Vikrant, & Rashid, A. (2001). Comparative study of somatic embryogenesis from immature and mature embryos and organogenesis from leaf-base of Triticale. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 64(1), 33–38. doi: 10.1023/A:1010627630651
23. Eudes, F., Acharya, S., Laroche, A., Selinger, L. B., & Cheng, K. J. (2003). A novel method to induce direct somatic embryogenesis, secondary embryogenesis and regeneration of fertile green cereal plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 73(2), 147–157. doi: 10.1023/A:1022800512708

References

1. Oettler, G. (2005). The fortune of a botanical curiosity – Triticale: past, present and future. *J. Agric. Sci.*, 143(5), 329–346. doi: 10.1017/S0021859605005290
2. Mohammad, F., Ahmad, I. J. A. Z., Khan, N. U., Maqbool, K., Naz, A. Y. S. H. A., Shaheen, S. A. L. M. A., & Ali, K. (2011). Comparative study of morphological traits in wheat and triticale. *Pak J Bot*, 43, 165–170.
3. Rybalka, O. I., Morgun, V. V., Morgun, B. V., & Pochynok, V. M. (2015). Agronomic potential and perspectives of triticale. *Fiziologiya Rasteniy i Genetika* [Plant Physiology and Genetics], 47(2), 95–111. [in Ukrainian]
4. Blum, A. (2014). The abiotic stress response and adaptation of triticale – a review. *Cereal Res Commun*, 42(3), 359–375. doi: 10.1556/CRC.42.2014.3.1

24. Pykalo, S. V., Zinchenko, M. O., Voloshchuk, S. I., & Dubrovna, O. V. (2015). Morphogenesis of winter triticale in shoot apical meristem culture. In *Biotechnologiya: dostizheniya i perspektivy razvitiya: materialy I Mezhdunarodnoy nauchno-*

prakticheskoy konferentsii [Biotechnology: achievements and prospects of development: Proc. of the 1st Int. Sci. Conf.] (pp. 29–34). Sept. 25–26, 2014, Pinsk, Belarus. [in Russian]

УДК 561.143.6

Пыкало С. В.¹, Дубровная О. В.² Скрининг генотипов тритикале озимого на устойчивость к засолению в культуре апикальных меристем побегов // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. 2017. Т. 13, № 3. С. 277–284. <http://dx.doi.org/10.21498/2518-1017.13.3.2017.110710>

¹Мироновський інститут пшениці імені В. Н. Ремесло НААН України, с. Центральне, Мироновський р-н, Київська обл., 08853, Україна, e-mail: pykserg@ukr.net

²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, ул. Васильківська, 31/17, г. Київ, 03022, Україна

Цель. Провести скрининг *in vitro* различных генотипов тритикале озимого на устойчивость к засолению в культуре апикальных меристем побегов. **Методы.** Культуры тканей и органов *in vitro*, селекция *in vitro*, статистический анализ. **Результаты.** Выявлено, что с увеличением концентрации хлорида натрия с 0,6 до 1,5% у всех генотипов происходило подавление роста каллусной культуры, что свидетельствует о токсическом воздействии стрессового фактора. Установлено, что концентрация 1,2% хлорида натрия позволяет дифференцировать генотипы тритикале по солеустойчивости. Определено, что наибольшей устойчивостью к солевому стрессу характеризовалась линия '38/1296', поскольку каллусы этого генотипа в селективных условиях выделялись относительно повышенным морфогенетическим потенциалом, имели наибольший прирост сырой массы, и только с эксплантов этой линии после культивирования на среде с хлоридом натрия концентрацией 1,5% были получены растения-регенеранты. Сорт 'АДМ 11' оказался наиболее чувствительным к соле-

вому стрессу, так как в его каллусах в селективных условиях был обнаружен массовый некроз и отсутствие регенерационной способности. У изученных форм отмечено генотипическую зависимость процессов морфогенеза в культуре *in vitro*. С индуцированных каллусов получены растения-регенеранты, оптимизировано их доращивание, укоренение и перевод в условия *in vivo*. **Выводы.** Генотипическая реакция на солевой стресс в культуре апикальных меристем побегов тритикале озимого проявлялась неодинаковым приростом сырой массы и различным морфогенетическим потенциалом при действии стрессового фактора. Линия '38/1296' может быть использована как ценный материал для дальнейшей селекции тритикале озимого. Культуру апикальных меристем побегов рекомендуется применять как тест-систему для проведения скрининга генотипов тритикале на устойчивость к солевому стрессу.

Ключевые слова: тритикале озимое, солевой стресс, устойчивость, каллус.

UDC 561.143.6

Pykalo, S. V.¹, & Dubrovna, O. V.² (2017). Screening of winter triticale genotypes for resistance to salinity in the shoot apical meristem culture. *Plant Varieties Studying and Protection*, 13(3), 277–284. <http://dx.doi.org/10.21498/2518-1017.13.3.2017.110710>

¹The V. M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat, NAAS of Ukraine, Tsentralne, Myronivka district, Kyiv region, 08853, Ukraine, e-mail: pykserg@ukr.net

²Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, 31/17 Vasylykivska Str., Kyiv, 03022, Ukraine

Purpose. To conduct *in vitro* screening of different genotypes of winter triticale for resistance to salinity in the shoot apical meristem culture. **Methods.** Plant tissue culture *in vitro*, *in vitro* breeding, statistical analysis. **Results.** It was found that the increase of sodium chloride concentration from 0.6 to 1.5% resulted in inhibition of the callus culture growth in all genotypes that was indicative of the toxic effect of the stress factor. It turns out that 1.2% sodium chloride concentration allowed to differentiate triticale genotypes for salt tolerance. The line '38/1296' appeared to be the most resistant to salinity stress because under breeding conditions calli of this genotype were characterized by higher morphogenetic potential, had the highest crude mass increase, and plants-regenerants were obtained only from explants of this line after cultivation on the medium containing 1.5% sodium chloride. The 'ADM 11' variety was the most sensitive to saline

stress as mass necrosis and lack of regenerative ability in its calli were observed under breeding conditions. In the studied forms, genotypic dependence of morphogenesis processes *in vitro* culture was registered. From the induced calli, plants-regenerants were obtained, and their completion of growing, root development and transfer to *in vivo* conditions were optimized. **Conclusions.** Genotypic response to salinity stress in the culture of shoot apical meristems of winter triticale was expressed by various crude mass increase and different morphogenetic potential on exposure to a stress factor. The line '38/1296' can be used as a valuable material for further breeding of winter triticale. The culture of shoot apical meristems is recommended to apply as a test system for screening of triticale genotypes for resistance to salinity stress.

Keywords: winter triticale, salinity stress, resistance, callus.

Надійшла / Received 14.06.2017
Погоджено до друку / Accepted 22.08.2017