

Перехресна стійкість клітинних ліній та рослин-регенерантів тритикале озимого до абіотичних стресових чинників

С. В. Пикало^{1*}, 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. Проаналізувати рівень перехресної стійкості отриманих соле- та осмотичних клітинних ліній і рослин-регенерантів тритикале озимого до осмотичного та сольового стресів. **Методи.** Культури тканин і органів *in vitro*, селекції *in vitro*, біохімічні, статистичний аналіз. **Результати.** Встановлено, що стабільність прояву ознаки перехресної стійкості як до сольового, так і до осмотичного стресів у отриманих клітинних ліній тритикале озимого була на досить високому рівні – до кінця шостого пасажу виживало від 50 до 76% калюсів. Показано, що, незважаючи на наявність у селективному середовищі сублетальної концентрації стрес-фактора (маніту/хлориду натрію), стійкі клітинні лінії тритикале активно продовжували рости й накопичувати біомасу. Виявлено, що у лінії '38/1296' найбільш стійкими до осмотичного та сольового стресів були клітинні лінії 5Л/сл та 5Л/ос відповідно, а в сорту 'Обрій' – 1С/сл та 1С/ос відповідно, оскільки вони мали найвищу частку живих калюсів та приріст біомаси за селективних умов, а рослини-регенеранти з них – найвищий рівень виживання після дії комплексу абіотичних стресорів. Солестійкі клітинні лінії обох генотипів тритикале озимого порівняно з контролем характеризувались також достовірно вищим вмістом вільного проліну за дії селективних чинників. Одержані результати можуть свідчити про те, що клітинні лінії та рослини-регенеранти тритикале мають генетично обумовлену ознаку стійкості до стресових факторів. **Висновки.** Перевірка ознак стійкості до абіотичних стресорів засвідчила досить високий рівень перехресної толерантності отриманих клітинних ліній обох генотипів тритикале як до сольового, так і до осмотичного стресів. Стійкість до сольового та осмотичного стресів виділених *in vitro* клітин збереглась у індукованих рослинах і на організмовому рівні забезпечила підвищення толерантності до абіотичних факторів середовища. Показано, що завдяки загальним неспецифічним механізмам стійкості резистентність калюсних культур тритикале до одного абіотичного стресора може призводити до підвищення толерантності й до іншого.

Ключові слова: тритикале озиме, осмотичний стрес, сольовий стрес, стійкість, клітинні лінії, рослини-регенеранти.

Вступ

Значним досягненням сучасної генетики і селекції рослин є створення тритикале (*×Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus 1927), сорти якого успішно впроваджуються в сільськогосподарське виробництво [1]. Разом із тим, незважаючи на високі потенційні можливості, ця еволюційно молода культура на цей час не отримала широкого виробничого використання [2]. Недостатньо висока пластичність сортів і селекційних форм тритикале, пов'язана з обмеженою генетичною різноманітністю вихідного матеріалу, потребує поліпшення шляхом збагачення генофонду цієї культури й підвищення ефективності її селекції різними методами [3].

Важливе значення для селекційного поліпшення тритикале має його стійкість до

абіотичних стресових чинників доквілля, зокрема до посухи та засолення ґрунтів, що дасть змогу збільшити площі під ним у районах з несприятливими кліматичними умовами [4, 5]. Посуха призводить до водного дефіциту в ґрунті та відповідно в рослинах, що зумовлює осмотичний стрес [6]. Шкідлива дія засолення виявляє комплексний характер і зумовлена як порушенням осмотичного балансу клітин, так і прямим токсичним впливом на фізіологічні та біохімічні процеси в клітинах [7]. Часто рослини зазнають дії кількох стресорів водночас, при цьому їх негативний вплив відчутно посилюється [8]. Тож виникає потреба в рослинах, здатних не тільки витримувати несприятливі умови, а й активно їм протидіяти, тобто рости за стресових умов.

Вирішення багатогранної проблеми стійкості рослин до стресових чинників потребує залучення нових ефективних підходів. Останнім часом перспективним напрямом, який дає змогу створювати нові форми сіль-

Serhii Pykalo

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

Oksana Dubrovna

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

ськогосподарських культур і тритикале зокрема, розглядається використання методів біотехнології. Одним із таких методів є клітинна селекція, тобто добір бажаних генотипів з новими спадковими ознаками на рівні культивованих *in vitro* клітин у специфічних умовах [9]. З використанням біотехнологічних підходів стає можливим отримання нових форм із бажаними ознаками, в тому числі з конкретними змінами відповідних метаболічних процесів, які забезпечують адаптацію рослин до стресових умов [10]. На сьогодні методи клітинної селекції тритикале тільки розробляються, тому в літературних джерелах можна знайти лише поодинокі повідомлення щодо добору *in vitro* стрес-стійких форм [11–13].

Як стверджує ряд авторів [14–17], формування комплексної стійкості рослин до абіотичних стресів (сольового, осмотичного, температурного) на клітинному і тканинному рівнях має деякі подібні механізми. Відібрані клітинні лінії та рослини-регенеранти можуть виявляти стійкість до двох і більше типів стресу, деколи навіть не схожих за фізико-хімічною природою та за мішенями дії. Показано [15–17], що підвищення осмостійкості на клітинному рівні може забезпечити толерантність рослин одночасно до кількох абіотичних стресів, які спричиняють зневоднення клітин. Із наведених результатів випливає, що адаптація клітин до осмотичного стресу може бути застосована для добору солестійких варіантів і навпаки, а подібні дослідження становлять інтерес для вивчення як у взаємодії, так і незалежно одне від одного.

Відомо, що у разі засолення рослини зазнають згубного впливу як від токсичної, так і від осмотичної дії солей [8, 14, 15]. Наявні дані про те, що стійкість до осмотичного стресу часто забезпечує підвищення толерантності й до сольового [15–17]. Зважаючи на цей факт, логічно припустити, що шляхом селекції *in vitro* на середовищах з осмотично активною речовиною можна отримати рослини, толерантні до кількох абіотичних стресорів.

Мета досліджень – проаналізувати рівень перехресної стійкості отриманих соле- та осмостійких клітинних ліній і рослин-регенерантів тритикале озимого до осмотичного та сольового стресів.

Матеріали та методика досліджень

Матеріалом досліджень були два генотипи гексаплоїдного тритикале озимого селекції Миронівського інституту пшениці ім. В. М. Ре-

месла НААН України: лінія '38/1296' та сорт 'Обрій', які характеризуються високими господарсько-цінними показниками. Клітинні лінії та рослини-регенеранти зазначених генотипів були отримані у попередніх дослідженнях шляхом селекції *in vitro* на стійкість до осмотичного [18, 19] та сольового [20] стресів за запропонованою схемою (рис. 1).

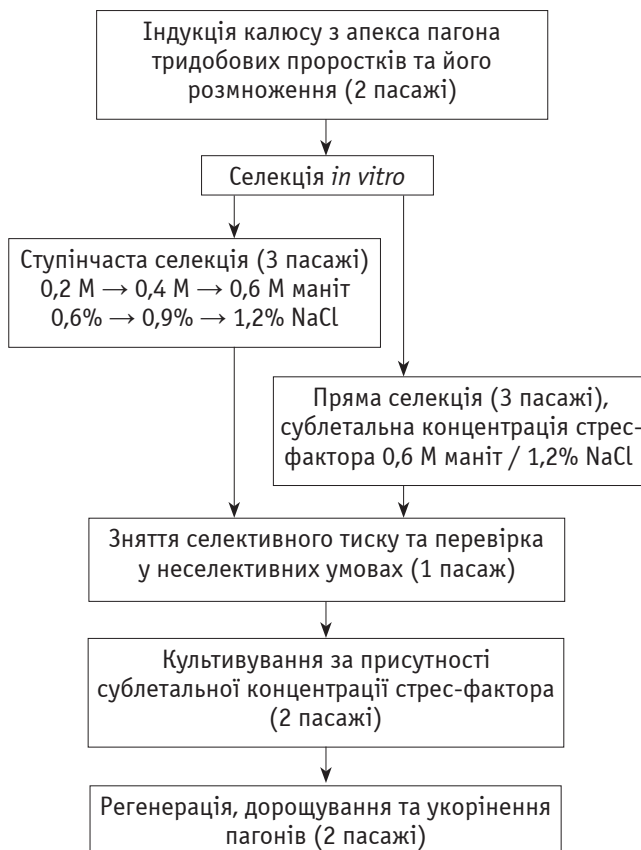


Рис. 1. Схема отримання осмо- та солестійких клітинних ліній і рослин-регенерантів тритикале

Для перевірки перехресної стійкості клітинних ліній тритикале до абіотичних стресів їх культивували протягом шести пасажів на модифікованих середовищах Мурасіге–Скуга (МС) [21] із сублетальними концентраціями стрес-чинників, визначених нами у попередніх дослідженнях [22, 23], та неселективних умовах. Аналіз перехресної стійкості осмостійких клітинних ліній тритикале до засолення проводили за схемою: селективне середовище з 1,2% NaCl (2 пасажі) → середовище МС (2 пасажі) → селективне середовище з 1,2% NaCl (2 пасажі).

Аналіз рівня перехресної толерантності солестійких клітинних ліній до осмотичного стресу проводили за аналогічною схемою: селективне середовище з 0,6 М маніту (2 пасажі) → середовище МС (2 пасажі) → селек-

тивне середовище з 0,6 М маніту (2 пасажі). Тривалість кожного пасажу – 21 доба.

Стійкість калюсних культур до іонного та осмотичного стресів оцінювали за виживаністю, приростом маси сирової речовини та вмістом вільного проліну, який визначали за модифікованою методикою Чинарда [24]. Контролем було середовище МС без стрес-фактора.

Аналіз стійкості індукованих рослин-регенерантів до сольового та осмотичного стресів проводили, використовуючи розроблену нами систему пересадок на живильні середовища із стресовими чинниками і без них. Селективні середовища (модифіковане середовище МС) містили сублетальні дози хлориду натрію (1,2%) та маніту (0,6 М). Регенеранти пасажували за схемою: селективне середовище з 1,2% NaCl (1 пасаж) → селективне середовище з 0,6 М (1 пасаж) → середовище МС (1 пасаж). Стійкість рослин визначали за рівнем їх виживання в селективних умовах.

У подальшому регенерантів пересаджували у стерильний ґрунт і залишали у вологій камері на 7–14 діб. Потім їх яровизували в холодильній камері за температури +4 °С й надалі вже вирощували в умовах вегетаційного будиночку до фази повної стиглості зерна.

Експериментально отримані дані обробляли за допомогою методів статистичного аналізу [25].

Результати досліджень

Встановлено, що стабільність прояву ознаки перехресної стійкості до сольового стресу в отриманих осмостійких клітинних

ліній була досить високою – до кінця шостого пасажу виживало від 51 до 75% калюсів (рис. 2).

Під час визначення приросту маси сирової речовини калюсів було показано, що, незважаючи на наявність у селективному середовищі сублетальної концентрації NaCl, стійкі калюси продовжували ріст (рис. 3).

Загалом, у лінії ‘38/1296’ слід виділити стійку клітинну лінію 5Л/ос, а в сорту ‘Обрій’ – 1С/ос, оскільки вони мали найвищу частку живих калюсів та зберігали здатність до нарощування біомаси за селективних умов. Морфологічні характеристики клітинних ліній з перехресною стійкістю: щільний калюс з глобулярною структурою темно-жовтого кольору (рис. 4).

Таким чином, отримані дані свідчать про достатньо високу перехресну стійкість одержаних осмостійких клітинних ліній тритикале й до сольового стресу.

На підставі уявлення про наявність специфічних та загальних систем стійкості [16–22] проводили також аналіз рівня перехресної стійкості солестійких клітинних ліній до осмотичного стресу. Як і в попередніх дослідженнях, стійкість клітинних культур до осмотичного стресу оцінювали за їх виживаністю та приростом маси сирової речовини за селективних умов (рис. 5, 6).

У ході досліджень показано, що стабільність прояву ознаки перехресної стійкості до осмотичного стресу в отриманих солестійких клітинних ліній була на досить високому рівні – до кінця шостого пасажу виживало від 50 до 76% калюсів. Також, навіть за наявності в селективному середовищі субле-

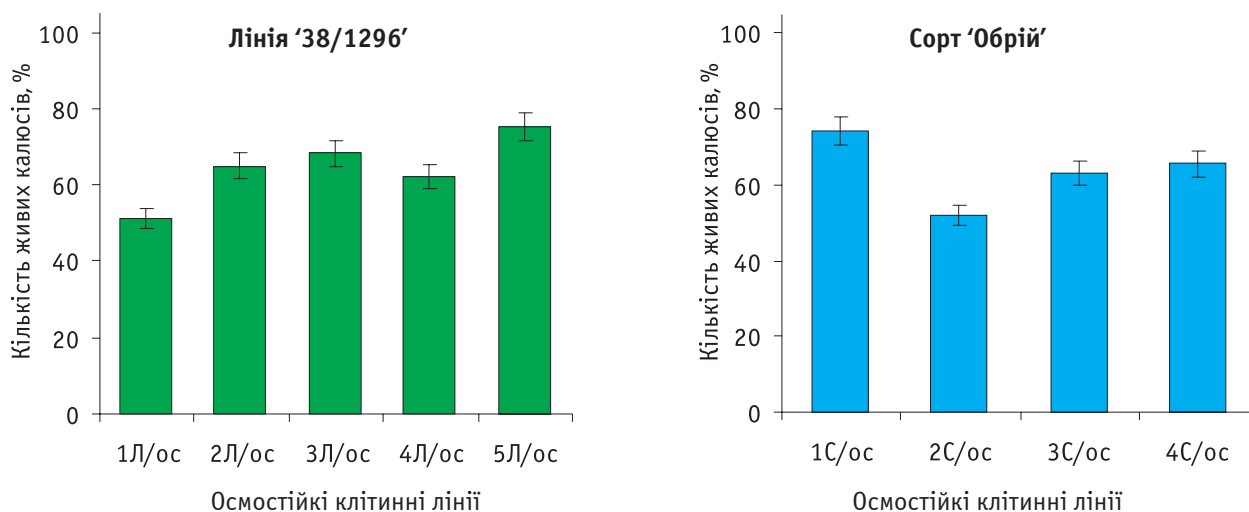


Рис. 2. Виживаність осмостійких клітинних ліній після 6 пасажів культивування за селективних (1,2% NaCl) та неселективних умов

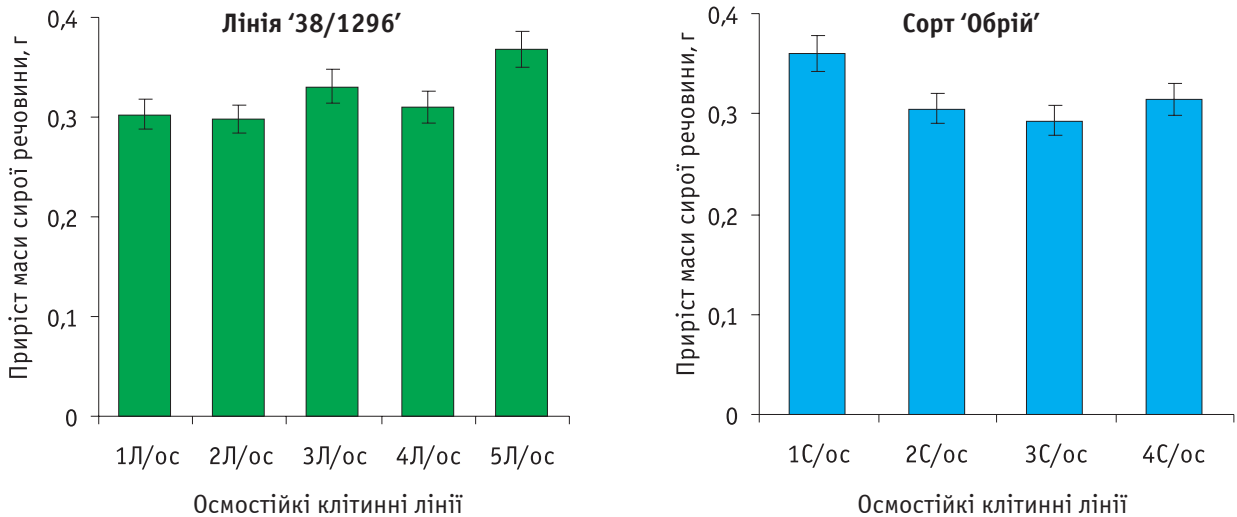


Рис. 3. Приріст маси сирової речовини осмостійких клітинних ліній тритикале наприкінці пасажу на селективному середовищі з 1,2% NaCl



Рис. 4. Осмостійкі калюси тритикале на селективному середовищі з 1,2% NaCl наприкінці 6-го пасажу культивування

тальної концентрації маніту, стійкі калюси активно накопичували біомасу.

Визначено вміст вільного проліну в досліджуваних ліній. Встановлено, що солестійкі клітинні лінії обох генотипів тритикале озимого порівняно з контролем характеризувались достовірно вищим вмістом цієї низькомолекулярної амінокислоти (рис. 7).

Отримані дані дають підставу стверджувати про підвищену стійкість до осмотичного стресу проаналізованих солестійких клітинних ліній тритикале.

Попередніми дослідниками [26] цей показник було також використано під час аналізу перехресної стійкості до осмотичного стресу Cd-стійких клітинних ліній та регенерантів тютюну. Клітинні лінії тютю-

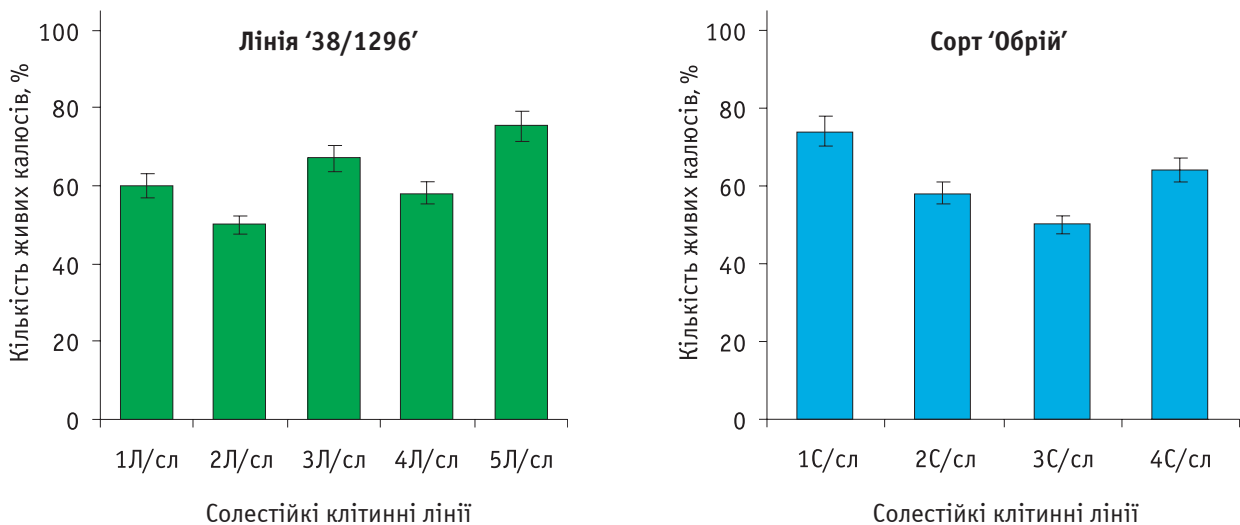


Рис. 5. Вживаність солестійких клітинних ліній після 6 пасажів за селективних (0,6 М маніту) та неселективних умов

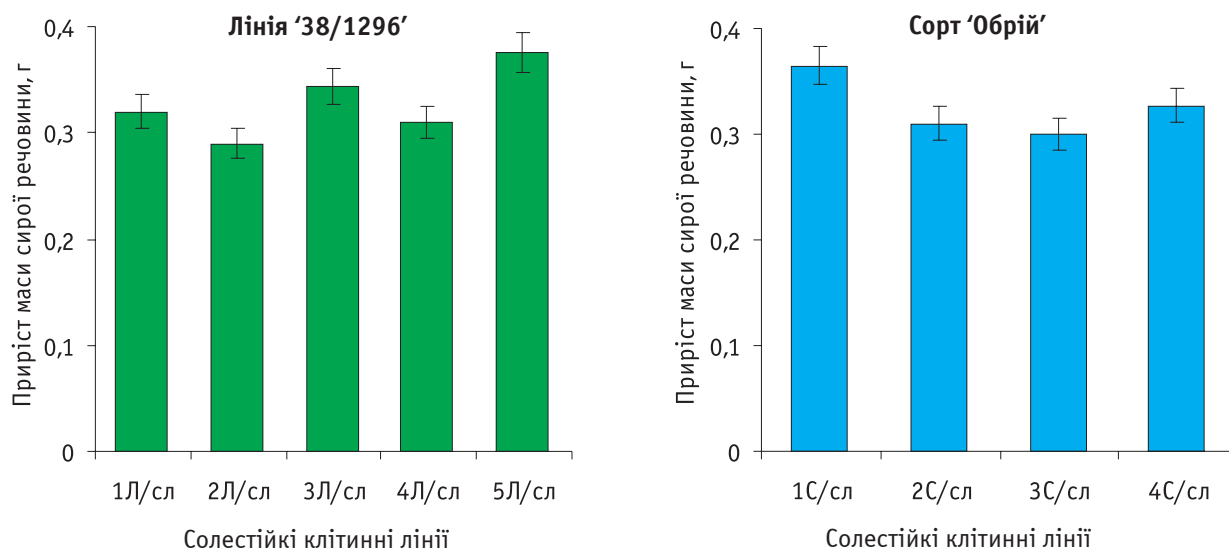


Рис. 6. Приріст маси сирової речовини солестійких клітинних ліній тритикале наприкінці пасажу на селективному середовищі з 0,6 М маніту

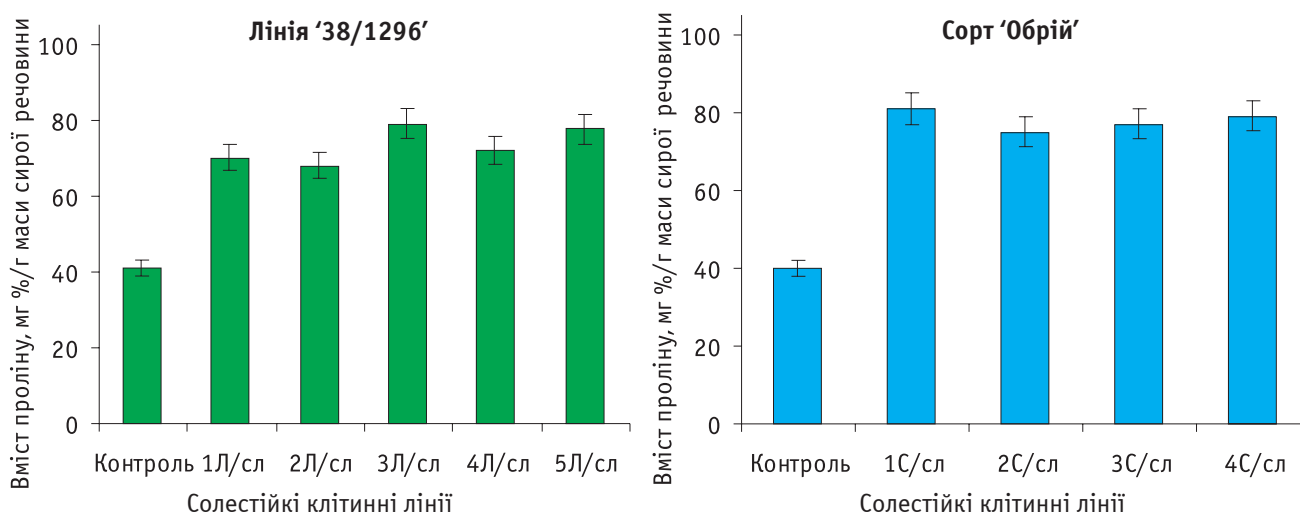


Рис. 7. Вміст вільного проліну в солестійких клітинних ліній тритикале

ну, стійкі до катіонів кадмію, й отримані з них рослини-регенеранти аналізували в умовах модельованого водного стресу *in vitro*, використовуючи низькомолекулярний маніт як селективний агент. Авторами показано, що у стійких ліній вміст проліну був достовірно вищий, ніж у вихідного генотипу, підвищений його вміст спостерігали як у клітинах калюсу, так і листків. Учені припускають участь проліну в осморегуляції Cd-стійких ліній тютюну та регенерантів за культивування в умовах осмотичного стресу *in vitro*. Ними також виявлено перехресну стійкість отриманих клітинних ліній тютюну як до осмотичного стресу, так і проти іонів кадмію.

Пролін є одним із найбільш багатofункціональних стресових метаболітів рослин. Ряд авторів [14, 15, 26, 27] у своїх роботах

зазначають, що поряд з добре відомою функцією як інертного сумісного осмоліта пролін за дії абіотичних стресорів виконує також низку інших взаємопов'язаних функцій: мембранопротекторну, шаперонну, антиоксидантну, а також бере участь у регуляції експресії деяких генів.

Саме за дії стресорів створюються умови для найбільшого прояву зазначених ефектів цієї амінокислоти. Тому навіть незначна зміна її концентрації може вплинути на життєздатність рослин за стресових умов.

Отримана в процесі клітинної селекції стійкість може мати як генетичну, так і епігенетичну природу [9]. Тому через гетерогенність калюсів, яку вони частково зберігають навіть після тривалого культивування на селективних середовищах, початок рослини-регенеранту може дати й не-

стійка клітина [9, 15]. У зв'язку з цим необхідно проводити аналіз толерантності до стресу отриманих рослин-регенерантів. Надійно оцінити стійкість рослини до того чи іншого стресора можна, аналізуючи її ріст за умов штучно змодельованого стресового чинника. Тому наступним етапом

дослідження став аналіз рівня перехресної стійкості рослин-регенерантів тритикале, отриманих шляхом селекції *in vitro* на стійкість до абіотичних стресорів. Виявлено, що після трьох пасажів зберігали нормальний ріст від 46,7 до 89,5% рослин (таблиця).

Таблиця

Кількість регенерантів тритикале з перехресною стійкістю проти абіотичних стресорів після перевірки на стабільність ознаки

Генотип	Клітинна лінія	Кількість висаджених рослин, шт.	Зберігали нормальний ріст після 3-х пасажів	
			шт.	%
Лінія '38/1296'	Контроль	20	0	0
	1Л/ос	8	5	62,5±18,3
	2Л/ос	11	7	63,6±15,2
	3Л/ос	17	12	70,6±11,4
	4Л/ос	15	7	46,7±13,3
	5Л/ос	19	17	89,5±7,2
	1Л/сл	10	7	70,0±15,3
	2Л/сл	12	8	66,7±14,2
	3Л/сл	8	6	75,0±16,4
	4Л/сл	19	10	52,6±11,8
	5Л/сл	15	13	86,7±9,1
Сорт 'Обрій'	Контроль	20	0	0
	1С/ос	8	7	87,5±12,5
	2С/ос	7	5	71,4±18,4
	3С/ос	11	7	63,6±15,2
	4С/ос	13	10	76,9±12,2
	1С/сл	8	7	87,5±12,5
	2С/сл	6	4	66,7±21,1
	3С/сл	12	6	50,0±15,1
	4С/сл	7	5	71,4±18,4

Загалом, у лінії '38/1296' можна виділити стійкі клітинні лінії 5Л/ос та 5Л/сл, а в сорту 'Обрій' – 1С/ос та 1С/сл, рослини-регенеранти з яких характеризувались найбільшим відсотком виживання після дії спектру абіотичних стресорів (рис. 8).

Одержані результати можуть свідчити про те, що клітинні лінії та рослини-регенеранти, які нормально росли після багаторазового переносу на селективні середовища з манітом і хлоридом натрію, мають генетично обумовлену ознаку стійкості до стресорів.

Таким чином, у результаті послідовної роботи виявлено перехресну стійкість отриманих клітинних ліній і рослин-регенерантів тритикале озимого до сольового та осмотичного стресів. Раніше дослідниками [28] методами клітинної селекції за використання селективних систем із сульфатом і хлоридом натрію було отримано калюсні лінії цукрових та кормових буряків, стійкі як до окремих, так і до комплексу стресових чинників, зокрема токсину збудника бактеріозу, низьких плюсових температур, а також до одного з типів засолення – хлоридного чи сульфатного. Перевірка стабільності ознак стійкості до комп-

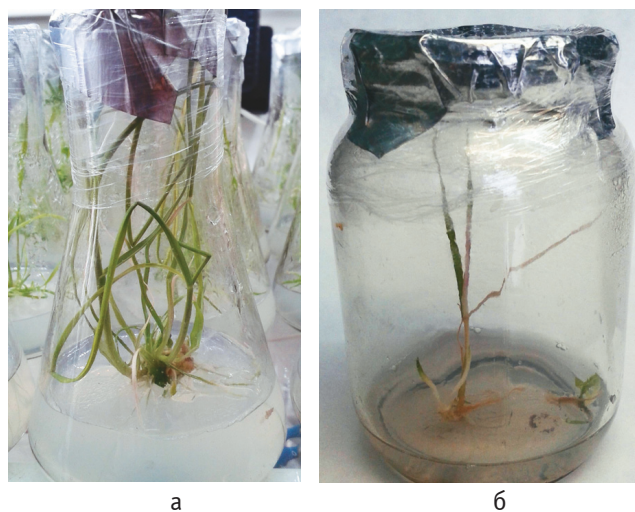


Рис. 8. Рослини-регенеранти тритикале після культивування на селективних середовищах з 1,2% хлориду натрію та 0,6 М маніту: а – стійка рослина; б – нестійка рослина

лексу стресових чинників засвідчила резистентність більшості калюсних ліній буряків та отриманих із них рослин-регенерантів. Підвищена толерантність до солі виявлена в регенерантах пшениці, індукованих зі стій-

ких до осмотичного стресу (маніту) клітинних ліній [17]. За селективної системи з поліетиленгліколем отримано солестійкі клони рису [16]. Серед рослин кукурудзи, регенованих зі стійких до маніту калюсів, відібрано форми з підвищеною толерантністю не лише до водного дефіциту, а й до засолення, низьких плюсових і мінусових температур [15]. Отже, дослідження природи адаптивних реакцій рослин до дії різних стресів свідчать про наявність як специфічних, так і загальних механізмів стійкості, завдяки яким резистентність до одного несприятливого чинника може підвищити толерантність і до іншого.

Висновки

Перевірка ознак стійкості до абіотичних стресорів засвідчила досить високий рівень перехресної толерантності отриманих клітинних ліній і рослин-регенерантів тритикале озимого до сольового та осмотичного стресів. Показано, що, незважаючи на наявність у селективному середовищі сублетальної концентрації стрес-фактора (маніту/хлориду натрію), стійкі клітинні лінії тритикале активно продовжували рости та накопичувати біомасу. Солестійкі клітинні лінії обох генотипів тритикале озимого порівняно з контролем характеризувались також достовірно вищим вмістом вільного проліну за дії селективних чинників. Стійкість до сольового та осмотичного стресів виділених *in vitro* клітин збереглася в індукованих рослинах і на рівні організму забезпечила підвищення толерантності до абіотичних факторів середовища. Одержані результати можуть свідчити про те, що клітинні лінії та рослини-регенеранти тритикале мають генетично обумовлену ознаку стійкості до стресових факторів. Показано, що завдяки загальним неспецифічним механізмам стійкості резистентність калюсних культур тритикале до одного абіотичного стресора може підвищувати толерантність і до іншого.

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
- Рибалка О. І., Моргун В. В., Моргун Б. В., Починок В. М. Агронічний потенціал і перспективи тритикале. *Физиология растений и генетика.* 2015. Т. 47, № 2. С. 95–111.
- 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.
- 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.
- Blum A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential – are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Austr. J. Agric. Res.* 2005. Vol. 56, Iss. 11. P. 1159–1168. doi: 10.1071/AR05069
- 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
- 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
- Решетников В. Н., Спиридович Е. В., Носов А. М. Биотехнология растений и перспективы ее развития. *Физиология растений и генетика.* 2014. Т. 46, № 1. С. 3–18.
- 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.
- 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.
- Абдрашева К. К., Тагиманова Д. С., Хапилина О. Н., Купешев Ж. С. Селекция *in vitro* культурных сортов гороха и тритикале на устойчивость к абиотическим стрессам. *Биология – наука XXI века* : матер. 19-й Междунар. Пушчинской конф. мол. ученых (г. Пушино, 20–24 апреля 2015 г.). Пушино, 2015. С. 3–4.
- Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа : Гилем, 2001. 160 с.
- Аль-Холани Х. А. Получение стресс-толерантных растений кукурузы методом клеточной селекции : автореф. дис. ... канд. биол. наук : спец. 03.01.05 «Физиология и биохимия растений» / Ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН. Москва, 2010. 24 с.
- Белянская С. Л., Шамина З. Б. Получение и характеристика клонов риса, резистентных к стрессовым факторам. *Физиология растений.* 1993. Т. 40, № 4. С. 681–685.
- Levenko V. A., Pasternak E. Yu., Sidorova N. V. Selection for resistance to water and salt stress in wheat. *Abstracts VIIth Int. Congress on Plant Tissue Cell Culture* (Amsterdam, June 24–29, 1990). Amsterdam, Netherlands. P. 37.
- Пикало С. В., Зінченко М. О., Волощук С. І., Дубровна О. В. Селекція *in vitro* тритикале озимого на стійкість до водного дефіциту. *Biotechnol. Acta.* 2015. Т. 8, № 2. С. 69–77. doi: 10.15407/biotech8.02.069
- Пикало С. В. Добір *in vitro* стійких до осмотичного стресу генотипів тритикале озимого. *Досягнення генетики, селекції і рослинництва для підвищення ефективності зерновиробництва* : зб. тез Міжнар. наук.-практ. конф. мол. вчених (м. Миронівка, 18 червня 2014 р.). Миронівка, 2014. С. 46.
- Пикало С. В., Дубровна О. В., Демидов О. А. Клітинна селекція тритикале озимого на стійкість до сольового стресу. *Фактори експериментальної еволюції організмів.* 2017. Т. 20. С. 247–251.
- 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
- Пикало С. В., Дубровна О. В. Скринінг генотипів тритикале озимого на стійкість проти засолення в культурі апікальних меристем пагонів. *Plant Varieties Studying and Protection.* 2017. Т. 13, № 3. С. 277–284. doi: 10.21498/2518-1017.13.3.2017.110710
- Пикало С. В., Зінченко М. А., Волощук С. І., Дубровна О. В. Скринінг генотипів тритикале озимого на стійкість до водного дефіциту в культурі апікальних меристем пагонів. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* 2014. Т. 12, № 2. С. 191–199.
- Андрющенко В. К., Саянова В. В., Жученко А. А. и др. Модификация метода определения пролина для выявления

- засухоустойчивых форм рода *Lycopersicon* Tourn. *Изв. Акад. наук Молд. ССР. Серия биол. и хим. наук.* 1981. Т. 4. С. 55–60.
25. Лакин Г. Ф. Биометрия. 4-е изд., перераб. и доп. Москва : Высшая школа, 1990. 352 с.
 26. Сергеева Л. Е., Бронникова Л. И., Тищенко Е. Н. Содержание свободного пролина как показатель жизнедеятельности клеточной культуры *Nicotiana tabacum* L. при стрессе. *Биотехнология*. 2011. Т. 4, № 4. С. 87–94.
 27. Колупаев Ю. Е. Вайнер А. А., Ястреб Т. О. Проллин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях. *Вісн. Харківського нац. аграр. ун-ту. Серія Біологія*. 2014. Вип. 2. С. 6–22.
 28. Чугункова Т. В. Використання клітинної селекції для створення стійких форм буряків. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2009. Т. 41, № 6. С. 509–515.
- ## 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. Rybalka, O. I., Morgun, V. V., Morgun, B. V., & Pochynok, V. M. (2015). Agronomic potential and perspectives of triticales. *Fiziologiya Rasteniy I Genetika* [Plant Physiology and Genetics], 47(2), 95–111. [in Ukrainian]
 3. 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 triticales. *Pak. J. Bot.*, 43, 165–170.
 4. Blum, A. (2014). The abiotic stress response and adaptation of triticales – a review. *Cereal Res. Commun.*, 42(3), 359–375. doi: 10.1556/CRC.42.2014.3.1
 5. Avdeyev, Y. I., & Slashcheva, L. A. (2014). Resistance of winter triticales to extreme abiotic environmental factors in arid area of cultivation. *Astrakhanskiy Vestnik Ekologicheskogo Obrazovaniya* [Astrakhan Bulletin for Environmental Education], 29(3), 84–87. [in Russian]
 6. Blum, A. (2005). Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential – are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Austr. J. Agricult. Res.*, 56(11), 1159–1168. doi: 10.1071/AR05069
 7. 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
 8. Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 24(1), 23–58. doi: 10.1080/07352680590910410
 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. Reshetnikov, V. N., Spiridovich, E. V., & Nosov, A. M. (2014). Plant biotechnology and perspectives of its development. *Fiziologiya Rasteniy I Genetika* [Plant Physiology and Genetics], 46(1), 3–18. [in Russian]
 11. Wang, X.-J., & Bao, W. K. (1997). Genetic mechanism of the occurrence of salt-tolerant variant of octoploid triticales under tissue and cell culture. *Acta Bot. Sin.*, 40(4), 330–336.
 12. Sudyova, V., Slikova, S., & Galova, Z. (2002). Testing wheat (*Triticum aestivum* L.) and triticales (*Triticosecale* Witt.) callus to salt tolerance. *Acta Fytotechn. Zootechn.*, 3, 67–71.
 13. Abdrasheva, K. K., Tagimanova, D. S., Khapilina, O. N., & Kupeshev, Z. S. (2015). *In vitro* selection of varieties of peas and triticales for resistance to abiotic stresses. In *Biologiya – nauka XXI veka: materialy 19 Mezhdunarodnoy Pushchinskoy konferentsii molodykh uchennykh* [Biology is the Science of the XXI Century: Proc. of 19 Int. Pushch. Conf. young scient.] (pp. 3–4). April 20–24, 2015, Pushchino, Russia. [in Russian]
 14. Shakirova, F. M. (2001). *Nespecific resistance of plants to stress factors and its regulation*. Ufa: Gilem. [in Russian]
 15. Al-Kholani, H. A. (2010). *Poluchenie stress-tolerantnykh rasstieniy kukuruzy metodom kletochnoy seleksii* [Obtaining stress-tolerant corn plants by the method of cell selection] (Cand. Biol. Sci. Diss.). Timiryazev Institute of Plant Physiology of RAS, Moscow, Russia. [in Russian]
 16. Belyanskaya, S. L., & Shamina, Z. B. (1993). Obtaining and characterization of rice clones resistant to stress factors. *Fiziologiya Rasteniy* [Plant Physiology], 40(4), 681–685. [in Russian]
 17. Levenko, B. A., Pasternak, E. Yu., & Sidorova, N. V. (1990). Selection for resistance to water and salt stress in wheat. In *Abstracts VIIth Int. Congress on Plant Tissue Cell Culture* (p. 37). June 24–29, 1990, Amsterdam, Netherlands.
 18. Pykalo, S. V., Zinchenko, M. O., Voloshchuk, S. I., & Dubrovna, O. V. (2015). *In vitro* selection of winter triticales for resistance to water deficit. *Biotechnol. Acta*, 8(2), 69–77. doi: 10.15407/biotech8.02.069 [in Ukrainian]
 19. Pykalo, S. V. (2014). *In vitro* selection of genotypes of winter triticales for resistance to osmotic stress. In *Dosiahnennia henetyky, seleksii i roslynnytstva dlia pidvyshchennia efektyvnosti zernovyrobnytstva: zbirnyk tez Mizhnar. naukovo-prakt. konf. molodykh vchenykh* [Advances in genetics, plant breeding and cropping to increase efficiency of grain production: Collected Abstracts of Int. Sci. Conf. of Young Res.] (p. 46). June 18, 2014, Myronivka, Ukraine. [in Ukrainian]
 20. Pykalo, S. V., Dubrovna, O. V., & Demydov O. A. (2017). Cell selection of winter triticales for resistance to saline stress. *Faktory eksperymentalnoi evoliutsii orhanizmiv* [Factors in Experimental Evolution of Organisms], 20, 247–251. [in Ukrainian]
 21. 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
 22. Pykalo, S. V., & Dubrovna, O. V. (2017). Screening of genotypes of winter triticales for resistance to saline stress in the shoot apical meristem culture. *Plant Varieties Studying and Protection*, 13(3), 277–284. doi: 10.21498/2518-1017.13.3.2017.110710 [in Ukrainian]
 23. Pykalo, S. V., Zinchenko, M. O., Voloshchuk, S. I., & Dubrovna, O. V. (2014). Screening of winter triticales genotypes for resistance to water deficit *in vitro* culture of shoot apical meristems. *Visnik ukraïnskogo tovaristva genetikiv i selekcioneriv* [The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine], 12(2), 191–199. [in Ukrainian]
 24. Andryuschenko, V. K., Sayanova, V. V., Zhuchenko, A. A., D'yachenko, N. I., Chilikina, L. A., Drozdov, V. V., & Nyutin, Yu. I. (1981). Modification of proline determination method for identification of drought-resistant forms of genus *Lycopersicon* Tourn. *Izvestiya Akademii Nauk Moldavskoi SSR. Seriya Biologicheskikh i Khimicheskikh Nauk* [News of Academy of Sciences of Moldavian SSR. Series of Biological and Chemical Sciences], 4, 55–60. [in Russian]
 25. Lakin, G. F. (1990). *Biometriya* [Biometrics]. (4th ed., rev.). Moscow: Vysshaya shkola. [in Russian]
 26. Sergeeva, L. E., Bronnikova, L. I., & Tishchenko, E. N. (2011). The free proline content as the viability index of *Nicotiana tabacum* L. cell culture under the stress. *Biotechnologia* [Biotechnology], 4(4), 87–94. [in Russian]
 27. Kolupayev, Yu. E., Vayner, A. A., & Yastreba, T. O. (2014). Proline: physiological functions and regulation of its content in plants under the stress. *Visnyk Kharkivskoho Natsionalnoho Ahrarnoho Universytetu. Seriya Biologhiia* [The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series Biology], 2, 6–22. [in Russian]
 28. Chugunkova, T. V. (2009). The use of cell selection for creation of resistant forms of beet. *Fiziologiya I Biokhimiya Kul'turnykh Rasteniy* [Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants], 41(6), 509–515. [in Ukrainian]

УДК 561.143.6

Пыкало С. В.^{1*}, Дубровная О. В.² Перекрестная устойчивость клеточных линий и растений-регенерантов тритикале озимого к абиотическим стрессовым факторам // *Plant Varieties Studying and Protection*. 2017. Т. 13, № 4. С. 387–395. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.13.4.2017.117746>

¹Мироновский институт пшеницы имени В. Н. Ремесло НААН Украины, с. Центральное, Мироновский р-н, Киевская обл., 08853, Украина, *e-mail: pykserg@ukr.net

²Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, ул. Васильковская, 31/17, г. Киев, 03022, Украина

Цель. Проанализировать уровень перекрестной устойчивости полученных соле- и осмоустойчивых клеточных линий и растений-регенерантов тритикале озимого к осмотическому и солевому стрессам. **Методы.** Культуры тканей и органов *in vitro*, селекции *in vitro*, биохимические, статистический анализ. **Результаты.** Установлено, что стабильность проявления признака перекрестной устойчивости как к солевому, так и осмотическому стрессам у полученных клеточных линий тритикале озимого была на достаточно высоком уровне – к концу шестого пассажа выживало от 50 до 76% каллусов. Показано, что, несмотря на наличие в селективной среде сублетальной концентрации стресс-фактора (маннита/хлорида натрия), устойчивые клеточные линии тритикале активно продолжали свой рост и накапливали биомассу. Выявлено, что в линии '38/1296' наиболее устойчивыми к осмотическому и солевому стрессам были клеточные линии 5Л/сл и 5Л/ос соответственно, а у сорта 'Обрий' – 1С/сл и 1С/ос соответственно, поскольку они имели самую высокую долю живых каллусов и прирост биомассы в селективных условиях, а растения-регенеранты из них – наивысший уровень выживания после воздействия комплекса абиотических стрессоров. Солеустойчивые кле-

точные линии обоих генотипов тритикале озимого по сравнению с контролем характеризовались также достоверно более высоким содержанием свободного пролина при действии селективных факторов. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что клеточные линии и растения-регенеранты тритикале имеют генетически обусловленный признак устойчивости к стрессовым факторам. **Выводы.** Проверка признаков устойчивости к абиотическим стрессорам показала достаточно высокий уровень перекрестной толерантности полученных клеточных линий обоих генотипов тритикале как к солевому, так и к осмотическому стрессам. Устойчивость к солевому и осмотическому стрессам выделенных *in vitro* клеток сохранилась в индуцированных растениях и на уровне организма обеспечила повышение толерантности к абиотическим факторам среды. Показано, что благодаря общим неспецифическим механизмам устойчивости резистентность каллусных культур тритикале к одному абиотическому стрессору может приводить к повышению толерантности и к другому.

Ключевые слова: тритикале озимое, осмотический стресс, солевой стресс, устойчивость, клеточные линии, растения-регенеранты.

UDC 561.143.6

Pykalo, S. V.^{1*}, Dubrovna, O. V.² (2017). Cross-resistance of cell lines and plant regenerants of winter triticale to abiotic stressors. *Plant Varieties Studying and Protection*, 13(4), 387–395. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.13.4.2017.117746>

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 Vasylkivska Str., Kyiv, 03022, Ukraine

Purpose. To analyze the level of cross-resistance of obtained salt- and osmotolerant cell lines and plants regenerants of winter triticale to osmotic and salt stresses. **Methods.** Cultures of tissue and organs *in vitro*, *in vitro* breeding, biochemical, statistical analysis. **Results.** It was established that the stability of cross-resistance trait display to saline and osmotic stresses in obtained cell lines of winter triticale was rather high – from 50 to 76% of calli have survived to the end of the sixth passage. It has been shown that despite the presence of sublethal concentrations of the stress-factor (mannitol/sodium chloride) in selective medium, stable cell lines of the triticale actively continued to grow and accumulate biomass. It was found that in the line '38/1296' cell lines 5L/sl and 5L/os respectively were the most resistant to osmotic and salt stresses, and lines 1C/s1 and 1C/os respectively in the 'Obrii' variety, since they had the highest percent of living calli and biomass increment under the selective conditions and their plant regenerant – the highest level of survival after the impact of the abiotic stressors com-

plex. The salt-resistant cell lines of both genotypes of winter triticale as compared to the control were also characterized by significantly higher free proline content under the selective factors impact. The results obtained may indicate that the cell lines and triticale plant regenerants have a genetically determined trait of resistance to stress factors. **Conclusions.** Verification of traits of resistance to abiotic stressors has shown a significantly high level of cross-tolerance of the obtained cell lines of both triticale genotypes for saline and osmotic stresses. Resistance to saline and osmotic stresses of cells separated *in vitro* was preserved in induced plants and at the organism level has increased tolerance to abiotic environmental factors. It is shown that due to the general non-specific mechanisms of resistance, the capacity of the callus cultures of triticale to resist to one abiotic stressor can lead to increased tolerance for another one.

Keywords: winter triticale, osmotic stress, saline stress, resistance, cell lines, plant regenerants.

Надійшла / Received 10.10.2017

Погоджено до друку / Accepted 20.11.2017