

УДК 633.11:631.523.085:581

ОТРИМАННЯ СОМАКЛОНАЛЬНИХ ВАРІАНТІВ ТРИТИКАЛЕ З ПІДВИЩЕНОЮ СОЛЕСТІЙКІСТЮ ТА ЇХ ОЦІНКА

Пикало С.В.

Волощук С.І., кандидат сільськогосподарських наук

Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла НААН України

За використання селективної системи з хлоридом натрію проведено добір калюсних ліній тритикале озимого, стійких до засолення. Із стійких калюсних культур індуковано рослини-регенеранти та оптимізовано їх дорощування, укорінення та переведення в умови *in vivo*. За морфометричними показниками проростків проаналізовано солестійкість рослин тритикале насінневого покоління R_1 .

Ключові слова: *тритикале, незрілі зародки, калюсні культури, рослини-регенеранти, соматоклональні варіанти, солестійкість*

Вступ. Тритикале (*×Triticosecale* Wittmack) – штучно створений пшенично-житній гібрид, що являє собою новий ботанічний рід [1]. Ця культура поєднує в собі позитивні якості пшениці та жита і є перспективною для виготовлення хлібопекарського борошна, крохмалю, солоду та виробництва комбікормів [2]. Абіотичні стреси, зокрема посуха, високі температури, засолення тощо, на глобальному рівні значно впливають на сільськогосподарське виробництво [3]. Тому потрібно створювати толерантні до стресових чинників сорти зернових культур, у тому числі й тритикале. З розвитком біотехнології рослин потенційно можливим стає отримання стійких форм важливих сільськогосподарських культур шляхом селекції на рівні соматичних клітин [4]. Одним із таких методів є клітинна селекція, що базується на створенні нових форм рослин шляхом виділення мутантних клітин у селективних умовах [5]. Однак механізми толерантності до стресу цілих рослин можуть досить відрізнятися від тих, що проявляються на рівні клітини [6]. Засолення уражує рослини з двох головних причин: по-перше, високі концентрації солей у ґрунті порушують здатність коріння витягувати воду; по-друге, в межах самої рослини вони можуть бути токсичними, порушуючи фізіологічні і біохімічні процеси, зокрема поглинання елементів живлення, та призводячи до втрати асиміляційної поверхні [7]. Запропоновано двофазну модель, що описує осмотичні і токсичні іонні ефекти сольового стресу [8, 9].

Аналіз літературних джерел, постановка проблеми. Методи культури тканини використовували для створення стрес-толерантних клітинних ліній і рослин пшениці [5] та інших культур [10–12]. На важливість даного напрямку для поліпшення толерантності рослин до солі звертали увагу досить давно [13, 14]. Культуру тканин використовують як інструмент для створення витривалих до дії стресового фактора ліній і встановлення деяких механізмів такої толерантності [15]. Однак, як зазначається [16], добір *in vitro* не вивів солестійкі сорти на поля. Та все ж на люцерні добір показав перспективні результати, які можуть бути використані для створення соматоклональних варіантів у рамках селекційних програм [17]. Але досліджень щодо тритикале у цьому напрямі небагато, тому створення стресостійких форм методами клітинної селекції було, є і надалі залишиться актуальним.

Мета і задачі досліджень – отримати солестійкі соматоклональні варіанти тритикале на селективному фоні з хлоридом натрію та оцінити їх стійкість на рівні проростків, отриманих з насіння рослин-регенерантів.

Матеріал і методика. У дослідженнях використовували сорти тритикале Обрій Миронівський (відносно толерантний), АДМ 4 (відносно сприйнятливий) та рослини F_1 Обрій Миронівський / АДМ 4 (зародки F_2). Калюсні культури отримували з двотижневих (після цвітіння) незрілих зародків. Калюсні тканини індукували на середовищі Мурасіге-Скуга (МС) [18] з додаванням різних концентрацій NaCl (0, 50, 100, 150 і 200 мМ). Крім того, було визначено концентрацію, при якій калюсогенез повністю інгібується. Індукція калюсів була практично відсутня при 200 мМ NaCl.

Клітинну селекцію проводили за наступною схемою. Після 4 тижнів ініціації калюсів проводили їх субкультивування на свіже середовище з додаванням NaCl упродовж 2 пасажів по 4 тижні. Після цього калюси переносили на середовище МС без NaCl на 4 тижні. Для перевірки стабільності солетолерантності калюси, які нормально росли на середовищі без NaCl, знов на 4 тижні були пересажені на середовище МС, що містить 150 мМ NaCl. Калюсні лінії, що вижили і показали приріст на даному етапі, вважали NaCl-толерантними.

Для регенерації рослин отримані калюсні культури субкультивували на половинному середовищі МС, доповненому 1 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) та 0,5 мг/л індолілоцтової кислоти (ІОК), при світлі за температурі 22°C. Калюсні культури, що утворили адвентивні пагони і корені, були перенесені для укорінення і росту рослинки на безгормональне середовище. Враховували такі показники: площа калюсів, ефективність калюсогенезу (частка калюсів від числа експлантів, %), ефективність ембріогенезу (частка гомогенних калюсів до загальної кількості калюсів, %), ефективність регенерації (частка рослинки-регенерантів від загальної кількості калюсів, %) та кількість пагонів на калюс.

У вегетаційних посудинах рослинки вирощувались до стиглості з метою отримання з них насіння R_1 . Для перевірки солестійкості отриманих соматоклональних ліній по 20 насінин з кожної були вирощені у пластикових стаканчиках у піщаній культурі на середовищі Хогланда-Арнона [19] з додаванням солі (0 і 150 мМ NaCl з розрахунку на кінцевий об'єм). Через 10 діб культивування на стадії проростків обліковували такі параметри – сира маса та довжина пагона, сира маса та довжина коріння і їх співвідношення. Насіння, що залишилось, посіяли в польових умовах для отримання насіннєвого покоління R_2 .

За статистичної обробки даних визначали похибку середнього арифметичного, довірчий інтервал та коефіцієнт Стьюдента [20].

Обговорення результатів. Присутність NaCl у культуральному середовищі дійсно депресивно впливає на швидкість проліферації калюсів (рис. 1).

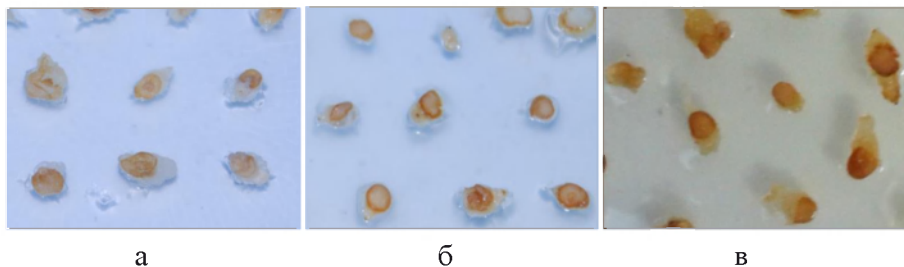


Рис. 1. Початок калюсогенезу тритикале сорту Обрій Миронівський на різних варіантах середовища: а) контроль; б) 100 мМ NaCl; в) 200 мМ NaCl.

За тривалої дії сольового стресу в усіх генотипів спостерігався некроз калюсів та знижувалась їх регенераційна здатність, причому тим більше, чим більшою була концентрація стресового чинника (рис. 2).

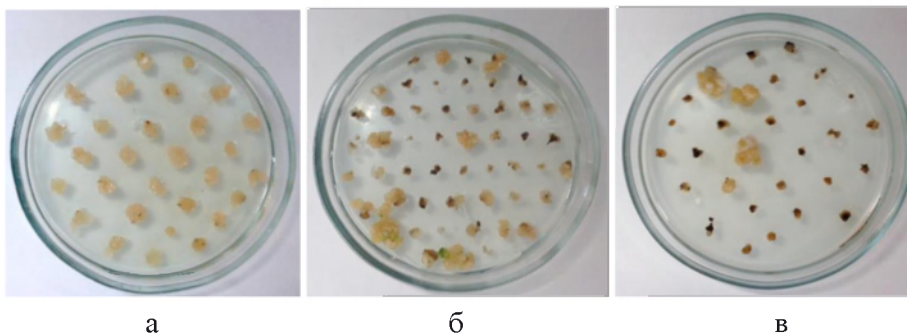


Рис. 2. Калюси тритикале сорту Обрій Миронівський на різних варіантах середовища: а) контроль; б) 100 мМ NaCl; в) 200 мМ NaCl.

Порівняння середніх для кожної концентрації значень параметрів виявило, що за всіма параметрами калюсогенезу і регенерації вплив був наступним – 0~50>100>150>200 мМ NaCl (табл. 1).

На рівні середніх для всіх концентрацій солі значень параметрів у вивчених генотипів встановлено, що їх середні значення перекриваються, однак для кожної з концентрацій NaCl порядок ранжування генотипів був наступним: Обрій Миронівський > F₂ > АДМ 4.

Таблиця 1

Вплив концентрації NaCl на калюсогенез і регенерацію тритикале озимого в культурі незрілих зародків

Показник	Концентрація NaCl, мМ											
	0			100			150			200		
	Генотип											
	1*	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Ефективність калюсогенезу	84,0	98,7	95,0	78,0	71,0	69,0	54,0	47,3	43,0	19,0	12,0	11,0
Ефективність ембріогенезу	67,7	65,5	64,2	36,6	31,2	28,6	16,7	11,3	9,3	15,8	11,1	9,1
Ефективність регенерації	56,6	56,8	54,7	25,8	22,5	20,2	7,4	5,6	4,7	0	0	0
Кількість пагонів	5,6	6,4	8,1	4,1	3,2	2,1	1,9	1,7	1	0	0	0

Примітка. * Генотипи : 1– Обрій Миронівський, 3 – АДМ 4, 2 – F₂, (Обрій Миронівський / АДМ 4)

Після 4 тижнів ініціації калюсу на середовищі без NaCl для подальшої роботи було вибрано концентрацію 150 мМ NaCl й експозицію тривалістю 4 тижні протягом двох пасажів на селективному середовищі. Відомо, що додатковим обмеженням у застосуванні клітинної селекції є можливість епігенетичної або фізіологічної адаптації, яка при знятті стресу може зникати і не успадковується [21]. Клітинними механізмами такої адаптації до засолення є: 1) захист ензимів і забезпечення тургору органічними розчинами; 2) запобігання іонній токсичності їх компартментацією; 3) транспорт іонів у вакуолі протонними насосами. Усі ці механізми виконують певну роль в адаптації на клітинному рівні [22, 23]. Раніше нами також було показано [24], що використання селективних середовищ у суспензійній культурі пшениці дає можливість ідентифікувати вихідні генотипи за солестійкістю. Однак за низьких концентрацій NaCl значний вплив виявляють механізми адаптації. Тому для запобігання відбору адаптованих калюсних клонів проводили повторний добір на такому ж

Таблиця 2

**Результати повторного добору та отримання ліній-регенерантів
після селективного фону**

Показник	Генотип		
	Обрій Миронівський	F ₂	АДМ 4
<i>Повторний добір на селективному середовищі</i>			
Посаджено калюсів на селективне середовище	102	195	97
Кількість живих ембріогенних калюсів	17	22	9
Ефективність ембріогенезу, %	16,7	11,3	9,3
<i>Регенерація рослин</i>			
Кількість гомогенних калюсів	8	11	5
Частка регенерації, %	7,4	5,6	4,7
Кількість пагонів на гомогенний калюс	1,9	1,7	1
Отримано рослин-регенерантів	15	19	5
Отримано дорослих рослин	10	13	4

селективному середовищі впродовж 4 тижнів після пасажу тривалістю 4 тижні на середовищі без NaCl (табл. 2).

Більшість відібраних після першого добору варіантів не були толерантними, і тільки 24 виявились стійкими при повторному доборі та дали 27 регенерантів.

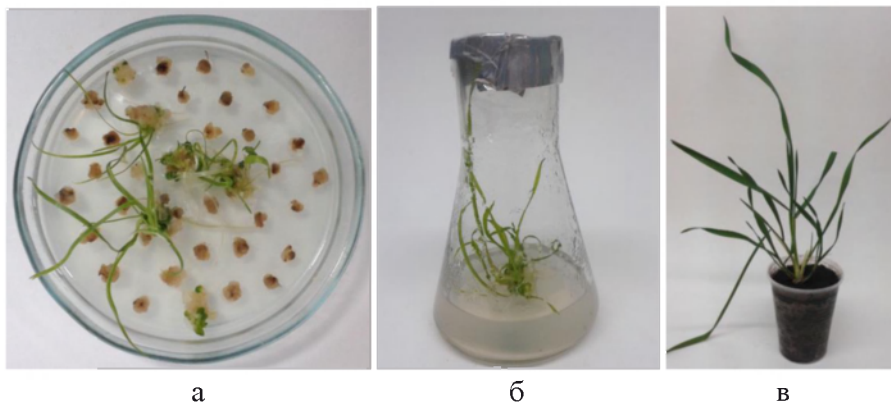


Рис. 3. Етапи отримання солестійких рослин-регенерантів тритикале озимого: а – початок регенерації пагонів; б – укорінення рослин-регенерантів; в – переведення рослин в умови *in vivo*.

У подальшому розвиток отриманих рослин-регенерантів проходив подібно до інтактних рослин тритикале в умовах *in vivo*. Відзначались типові фенофази – сходи, третій листок, кущіння. Рослини-регенеранти у фенофазі кущіння перенесли в умови *ex vitro*, пересадивши їх у пластикові стаканчики з ґрунтовою сумішшю (рис. 3).

Параметри росту проростків вихідних генотипів у контролі та на сольовому розчині, а також параметри росту деяких соматоклональних ліній в умовах стресу показані у таблиці 3.

Результати свідчать про те, що NaCl в концентрації 150 мМ пригнічує морфологічні параметри у проростків вивчених генотипів та отриманих соматоклональних ліній, довжина проростка була меншою практично у 2-3 рази залежно від генотипу, а довжина кореневої системи – в 1,6 рази.

Серед 24 вивчених соматоклональних ліній виділено зразки, що мають більшу щодо контролю відносну стійкість до засолення – лінії Sc 1, Sc 3, Sc 5, отримані з сорту Обрій Миронівський, лінія Sc 20 з сорту АДМ 4, а також лінії Sc 11, Sc 12, Sc 15, Sc 21, Sc 22, отримані з зародків F₂ (Обрій Миронівський / АДМ 4). При цьому лінії Sc 1, Sc 3, Sc 5, отримані з сорту Обрій Миронівський, та лінії Sc 11, Sc 12, отримані з гібридної популяції, переважали вихідний сорт Обрій Миронівський за всіма показниками. Лінія Sc 21 переважала батьківський сорт (Обрій Миронівський) за масою проростків і коріння.

Відомо, що засолення порушує нормальний перебіг фотосинтезу і дихання, гальмує синтез білків, транспорт асимілянтів по рослині тощо. Пригнічення росту рослин в умовах засолення пов'язане як із зменшенням доступності і поглинання води рослинами, так і з токсичною дією хлористого натрію, а зменшення біомаси при засоленні обумовлене інгібуванням транслокації живильних речовин у тканини надземних органів [13]. Тому подальший добір ліній, у яких засолення пригнічує накопичення маси і ріст меншою мірою, може дати цінний матеріал для подальшої селекції. Окрім того, слід зазначити, що сольовий стрес, викликаний підвищеними концентраціями NaCl, може бути розділений на два компоненти: осмотичний компонент і компонент іонного стресу, тобто токсичність Na⁺ [9].

Зокрема, осмотичний тиск для 150 мМ NaCl складає близько 0,7 МПа, і клітини з меншим тургором будуть плазмолізувати, але якщо клітинний тургор складає тільки 0,4 МПа, що досить вірогідно для старіших клітин корінців [13], то дія 100 мМ NaCl (0,5 МПа) також призведе до плазмолізу клітин. Однак більш високі концентрації солі (≥ 200 мМ) можуть викликати токсичний ефект. Вибрана концентрація є, очевидно, осмотично активною, тобто відібрані соматоклональні лінії можуть мати ще й неспецифічну стійкість до посухи, яку потрібно перевірити.

Характер успадкування толерантності до сольового стресу в отриманих ліній буде предметом подальших досліджень. Можливо, отримані лі-

Таблиця 3

Вплив NaCl (150 мМ) на параметри росту рослин у піщаній культурі

Генотипи та соматологічні лінії	Варіант	Висота проростків (ВП), см		Довжина кореневої системи (ДК), см		Маса проростків (МП), мг		Маса кореневої системи (МК), мг		ВП/ДК	МП/МК
		x	±	x	±	x	±	x	±		
Обрій	К	15,6	0,1	10,0	0,1	80,75	2,04	18,37	0,12	1,56	0,23
	NaCl	7,6	0,1	5,1	0,1	26,34	0,28	6,75	0,16	1,48	0,26
Sc 1	NaCl	8,6	0,1	8,2	0,1	49,10	0,74	13,14	2,06	1,05	0,27
Sc 3	NaCl	10,0	0,4	8,5	0,3	42,52	2,05	8,04	0,21	1,17	0,19
Sc 5	NaCl	11,9	0,0	9,6	0,1	60,58	0,32	16,56	1,10	1,25	0,27
Sc 8	NaCl	6,0	0,1	5,7	0,1	33,90	0,40	8,40	0,13	1,04	0,25
Sc 9	NaCl	9,3	0,1	6,9	0,1	54,18	0,81	7,56	0,39	1,35	0,14
АДМ 4	К	11,6	0,1	6,5	0,1	67,67	0,52	12,44	0,16	1,79	0,18
	NaCl	5,0	0,1	2,1	0,1	17,33	0,45	5,87	0,10	2,37	0,34
Sc 19	NaCl	3,7	0,0	3,2	0,0	29,16	0,34	7,25	0,13	1,18	0,25
Sc 20	NaCl	6,3	0,1	4,0	0,2	31,49	0,30	9,39	0,11	1,57	0,30
F ₂	К	9,5	0,1	8,4	0,1	61,71	1,07	17,77	0,45	1,13	0,29
	NaCl	3,8	0,1	3,8	0,1	18,19	0,23	5,88	0,11	1,00	0,32
Sc 11	NaCl	8,6	0,1	7,7	0,1	47,94	0,24	9,15	0,78	1,11	0,19
Sc 12	NaCl	8,3	0,1	7,8	0,1	42,64	1,09	6,94	0,17	1,06	0,16
Sc 14	NaCl	3,9	0,1	3,3	0,0	33,79	0,66	6,92	0,21	1,21	0,20
Sc 15	NaCl	6,7	0,1	6,7	0,1	40,13	0,18	9,88	0,16	0,99	0,25
Sc 21	NaCl	6,7	0,1	7,6	0,1	54,92	0,64	14,32	1,02	0,88	0,26
Sc 22	NaCl	4,2	0,2	7,0	0,1	42,90	0,60	8,62	0,18	0,60	0,20

Примітка. К – контроль (середовище без NaCl); x – середнє; * при P < 0,05; ** при P < 0,01; *** при P < 0,001 різниці вірогідна.

ні дадуть початок селекції нових сортів тритикале, що можуть вирощуватись на маргінальних землях, на яких інші культури не можуть рости.

Висновки. Різна генотипова реакція на сольовий стрес у культурі незрілих зародків тритикале озимого проявлялась у різній здатності до проліферації та регенерації після дії селективних умов. Для отримання соматоклональних варіантів з підвищеною толерантністю потрібно проводити повторну перевірку калюсних клонів *in vitro*. Тільки 9 ліній переважали відповідний контроль за толерантністю до солі, а 5 із них переважали за цією ознакою кращу батьківську форму. Засолення несприятливо впливало на ріст проростків тритикале, однак у соматоклональних ліній з підвищеною толерантністю до засолення показники росту вищі, ніж у сорту Обрій Миронівський, відібраного на селективному фоні. Отриманий матеріал може бути цінним для подальшої селекції тритикале як на солетривалість, так і на посухостійкість.

Список використаних джерел

1. Пинкаль А.В. Зимостойкость и устойчивость к полеганию гибридов озимой тритикале / А.В. Пинкаль // Омский научный вестник. – 2012. – № 2 (114). – С. 167–171.
2. Погонец Е.В. Влияние сухой пшеничной клейковины на качество пшенично-тритикалевого хлеба / Е.В. Погонец // Техника и технология пищевых производств. – 2014. – № 2. – С. 61–65.
3. Zhu J.-K. Salt and drought stress signal transduction in plants / J.-K. Zhu // Annu. Rev. Plant Biol. – 2002. – Vol. 53. – P. 247–273.
4. Хомякова О.В. Создание исходного материала для селекции тритикале на основе клеточных биотехнологий: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / О.В. Хомякова. – Саратов, 2009. – 20 с.
5. Дубровна О.В. Клітинна селекція пшениці на стійкість до стресових чинників довкілля / О.В. Дубровна, Б.В. Моргун // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – 41, № 6. – С. 463 – 475.
6. Соловых Н.В. Диагностика солеустойчивости растений рода *Rubus* биотехнологическим методом / Н.В. Соловых // Вестник МичГАУ. – 2010. – № 1. – С. 68–72.
7. Hawkins H.J. Cell suspension cultures of *Solanum tuberosum* L. as a model system for N and salinity response. Effect of salinity on NO_3^- uptake and PM-ATPase activity / H.J. Hawkins, S.H. Lips // J. Plant Physiol. – 1997. – 150. – P. 103–109.
8. Munns R. The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley / R. Munns, D. Schachtman, A. Condon // Functional Plant Biology. – 1995. – 22, N 4. – P. 561–569.
9. Munns R. Mechanisms of Salinity Tolerance / R. Munns, M. Tester // Annu. Rev. Plant Biol. – 2008. – Vol. 59. – P. 651–681.

10. Аль-Холани Х.А.М. Получение стресс-толерантных растений кукурузы методом клеточной селекции: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Х.А.М. Аль-Холани. – М., 2010. – 24 с.
11. Соболева Г.В. Влияние осмотического стресса на процессы роста и морфогенеза в длительно пассируемых каллусных культурах гороха (*Pisum sativum* L.) / Г.В. Соболева // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2013. – Т. 5, № 1. – С. 8–15.
12. In Vitro selection for water stress tolerant callus line of *Helianthus annuus* L. cv. Myak / Hassan N.S., Shaaban L.D., Hashem E.-S.A. and Seleem E.E. // Intern. J. Agri. Biol. – 2004. – Vol. 6, N 1. – P. 13–18.
13. Pritchard J. Turgor, growth and rheological gradients of wheat roots following osmotic stress / J. Pritchard, R.G. Wyn Jones, A.D. Tomas // J. Experimental Botany. – 1991. – 42. – P. 1043–1049.
14. NaCl tolerant plants from cultured cells / Nabors M.W., Gibbs S.E., Bernstein C.S., Meis M.E. // Z. Pflanzenphysiol. – 1980. – 97. – P. 13–17.
15. Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from in vitro and field experiments / Houshmand S., Arzani A., Maibody S.A.M., Feizi M. // Field Crops Research. – 2005. – 91, N 2–3. – P. 345–354.
16. Flowers T.J. Improving crop salt tolerance / T.J. Flowers // J. Exp. Bot. – 2004. – 55, N 3. – P. 307–319.
17. Winicov I. Salt tolerance in crop plants: new approaches through tissue culture and gene regulation / I. Winicov, D.R. Bastola // Acta Physiol. Plantarum. – 1997. – 19. – P. 435–449.
18. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, N 3. – P. 473–497.
19. Hoagland D.R. The water-culture method for growing plants without soil / D.R. Hoagland and D.I. Arnon // Circular California Agricultural Experiment Station. – 1950. – Vol. 347. – P. 1–32.
20. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н.В. Трухачева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 384 с.
21. Shannon M.C. Adaptation of plants to salinity / M.C. Shannon // Advances in Agron. – 1997. – 60. – P. 75–120.
22. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars / H. Koca, M. Bor, F. Ozdemir, I. Turkan // Environ. Experim. Bot. – 2007. – Vol. 60. – P. 344–351.
23. Lerner H.R. Adaptation to salinity at the plant cell level / H.R. Lerner // Plant and Soil. – 1985. – Vol. 89, N 1–3. – P. 3–14.
24. Волощук Г.Д. Використання клітинних культур пшениці для оцінки стійкості до стресових факторів / Г.Д. Волощук, С.І. Волощук, В.С. Гірко // Наукові розробки і реалізація потенціалу сільськогоспо-

дарських культур: Зб. наукових праць / УААН. – К.: Аграрна наука, 1999. – С. 59–64.

References

1. Pinkal AV. Winter hardiness and resistance to lodging in winter triticale hybrids. Omskii Nauchnyi Vestnik. 2012; 2(114):167-171.
2. Pogonets EV. The influence of dry wheat gluten on quality of wheat-triticale bread. Tekhnika i Tekhnologiya Pishchevykh Proizvodstv. 2014; 2:61-65.
3. Zhu JK. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annu. Rev. Plant Biol. 2002; 53:247-273.
4. Khomiakova OV. Creating source material for triticale breeding based on cell biotechnologies [dissertation]. Saratov; 2009.
5. Dubrovna OV, Morhun BV. Cell selection of wheat for resistance to stressful factors of environment. Fiziologiya i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii. 2009; 41(6):463-475.
6. Solovykh NV. Diagnostics of salt tolerance of plants of the genus *Rubus* with biotechnological method. Vestnik MichGAU. 2010; 1:68-72.
7. Hawkins HJ, Lips SH. Cell suspension cultures of *Solanum tuberosum* L. as a model system for N and salinity response. Effect of salinity on NO₃-uptake and PM-ATPase activity. J. Plant Physiol. 1997; 150:103-109.
8. Munns R, Schachtman D, Condon A. The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. Functional Plant Biol. 1995; 22(4):561-569.
9. Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 2008; 59:651-681.
10. Al-Holani H.A.M. Obtaining stress-tolerant corn plants by cell selection [dissertation]. Moscow; 2010.
11. Soboleva GV. Effect of osmotic stress on the process of growth and morphogenesis in long-term callus cultures of pea (*Pisum sativum* L.). Zernobobovyye i Krupianyie Kultury. 2013; 5(1):8-15.
12. Hassan NS, Shaaban LD, Hashem E-SA, Seleem EE. In vitro selection for water stress tolerant callus line of *Helianthus annuus* L. cv. Myak. Intern. J. Agric. Biol. 2004; 6(1):13-18.
13. Pritchard J, Jones RGW, Tomas AD. Turgor, growth and rheological gradients of wheat roots following osmotic stress. J. Exp. Bot. 1991; 42:1043-1049.
14. Nabors MW, Gibbs SE, Bernstein CS, Meis ME. NaCl tolerant plants from cultured cells. Z. Pflanzenphysiol. 1980; 97:13-17.
15. Houshmand S, Arzani A, Maibody SAM, Feizi M. Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from *in vitro* and field experiments. Field Crops Res. 2005; 91(2-3):345-354.
16. Flowers TJ. Improving crop salt tolerance. J. Exp. Bot. 2004; 55(3):307-319.

17. Winicov I, Bastola DR. Salt tolerance in crop plants: new approaches through tissue culture and gene regulation. *Acta Physiol. Plant.* 1997; 19:435-449.
18. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 1962; 15(3):473-497.
19. Hoagland DR, Arnon DI. The water-culture method for growing plants without soil. *Circ. Calif. Agric. Exp. Station.* 1950; 347:1-32.
20. Trukhacheva NV. *Mathematical Statistics in Biomedical Researches with Application Package Statistica.* Moscow: GEOTAR Media; 2012. 384 p.
21. Shannon MC. Adaptation of plants to salinity. *Adv. Agron.* 1997; 60:75-120.
22. Koca H, Bor M, Ozdemir F, Turkan I. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environ. Exp. Bot.* 2007; 60:344-351.
23. Lerner HR. Adaptation to salinity at the plant cell level. *Plant Soil.* 1985; 89(1-3):3-14.
24. Voloshchuk HD, Voloshchuk SI, Girko VS. Using wheat cell cultures to assess resistance to stress factors. In: *Scientific Elaborations and Realization of Crop Potential.* Kyiv: Agrarna Nauka; 1999. P. 59-64.

ПОЛУЧЕНИЕ СОМАКЛОНАЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ТРИТИКАЛЕ С ПОВЫШЕННОЙ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬЮ И ИХ ОЦЕНКА

Пыкало С.В.

Волощук С.И., кандидат сельскохозяйственных наук

Мироновский институт пшеницы имени В.Н. Ремесло НААН Украины

Цель. Получить в культуре незрелых зародышей на селективной среде соматоклональные варианты тритикале с повышенной солеустойчивостью и оценить их толерантность на уровне проростков, полученных из семян растений-регенерантов.

Материал и методика. Методы культуры тканей (культура незрелых зародышей) скомбинированы с выращиванием проростков в пластиковых стаканчиках на селективной среде.

Результаты. Разная генотипическая реакция на солевой стресс в культуре незрелых зародышей тритикале проявлялась в разной способности к пролиферации и регенерации после действия селективных условий. Были получены 27 соматоклональных линий, среди которых 9 превышали соответственный контроль по толерантности к соли, а 5 из них превышали лучшую родительскую форму по этому признаку.

Выводы. Для получения соматоклональных вариантов с повышенной толерантностью к засолению, нужно проводить повторную проверку каллусных клонов *in vitro*. Засоление неблагоприятно влияло на рост проростков тритикале, однако у соматоклональных линий с повышенной соле-толерантностью показатели роста были выше, чем у лучшего из исходных генотипов. Полученный материал может быть ценным для дальнейшей селекции тритикале.

Ключевые слова: *тритикале, незрелые зародыши, каллусные культуры, растения-регенеранты, соматоклональные варианты, солеустойчивость*

OBTAINING AND ESTIMATION OF SOMACLONAL TRITICALE VARIANTS WITH INCREASED SALT TOLERANCE

Pykalo S.V.

Voloshchuk S.I., Candidate of Agricultural Sciences

The V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat of NAAS of Ukraine

Aim. To obtain in immature embryos culture on selective medium somaclonal variants of triticale with increased salt tolerance and to estimate their tolerance at level of seedlings derived from seeds of regenerated plants.

Methods. Tissue culture methods (immature embryos culture) were combined with growing plantlets in plastic pots on selective media.

Results. Various genotypic responses to salt stress in the culture of immature embryos of triticale were manifested in various proliferation and regeneration ability followed by exposure on selective media. 27 somaclonal lines were obtained with only 9 of them prevailing appropriate control in salt tolerance and 5 of them prevailing a better parent by this trait.

Conclusions. In order to obtain somaclonal variants with increased salt tolerance, it is necessary to re-test callus clones *in vitro*. Salinity negatively affected on the growth of triticale seedlings, however, in somaclonal lines with enhanced salt tolerance growth parameters were more than in better initial genotype. The material obtained can be useful for further triticale breeding.

Key words: *triticale, immature embryos, callus culture, regenerated plants, somaclonal variants, salinity tolerance*