



# Генетика, селекція, біотехнологія

УДК 633.825:581.143.6

© 2019

## ДОБІР ГЕНОТИПІВ ІМБИРУ, ТОЛЕРАНТНИХ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ В УМОВАХ IN VITRO

М.В. Роїк<sup>1</sup>, Н.С. Бех<sup>2</sup>, М.О. Коцар<sup>3</sup>

*<sup>1</sup>доктор сільськогосподарських наук, професор, академік НААН*

*Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН*

*вул. Клінічна, 25, м. Київ, 03141, Україна*

*e-mail: [sugarbeet@ukr.net](mailto:sugarbeet@ukr.net), <sup>2,3</sup>[sectorinvitro@gmail.com](mailto:sectorinvitro@gmail.com)*

Надійшла 4.06.2019

**Мета.** Розробити методичні основи для скринінгу на толерантність до посухи та холоду імбиру *in vitro*. **Методи.** Лабораторний, біотехнологічний, математико-статистичний. Досліджуваний матеріал — 22 біотиби імбиру. Обліки стану пагонів (коефіцієнт пагоноутворення, висота пагонів, морфологічні ознаки за 9-бальною шкалою) після дії ПЕГ 6000 (5 та 10%) та холодового стресу (+5 – 6°C) порівнювали з пагонами контрольного варіанта відповідно через 4, 8 та 4 тижні культивування в термальному приміщенні. **Результати.** Проведені дослідження з клонального мікророзмноження імбиру на модифікованому живильному середовищі (контроль) показали, що коефіцієнт розмноження в середньому становив 1,7 – 5,4 шт./пагін. Через 8 тижнів культивування на середовищах з ПЕГ (5 і 10%) спостерігали пригнічення стану і розвитку пагонів. У варіанті I кількість нових пагонів була зменшена на 0,3 – 2,6 шт./пагін порівняно з контролем. За загальним станом 8 біотипів оцінено на рівні контрольного варіанта — 9 балів, у 13-ти — 7 і 1-го — 5 балів. У варіанті II 10 біотипів мали 5 та 3 бали. У 12-ти біотипів стан пагонів оцінено в 7 балів. За умов охолодження пагонів *in vitro* в термокамері визначено 2 біотиби, які виявили толерантність до охолодження і відновили наростання та утворення пагонів за умов культивування в термальному приміщенні через 2 тижні. **Висновки.** Реакція імбиру на моделювання посухи *in vitro* на рівні пагонів характеризується біотиповими особливостями і залежить від концентрації ПЕГ у живильному середовищі. Виділено 5 біотипів з ознакою толерантності до посухи *in vitro* за концентрації ПЕГ 6000 10% та експозиції 8 тижнів. Пагони імбиру *in vitro* чутливі до охолодження 5 – 6°C. Відновлення ростових процесів після охолодження спостерігали в 2-х біотипів. Визначено 1 біотип імбиру, який має комбіновану ознаку толерантності до охолодження та посухи на рівні пагонів. Розроблено шкалу оцінки морфологічних ознак стану пагонів імбиру *in vitro* на абіотичний стрес, яка спрощує добір толерантних форм.

**Ключові слова:** імбир, пагони, толерантність, ПЕГ 6000, *in vitro*.

**DOI:** <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201908-07>

Імбир (*Zingiber officinale* Roscoe) — багаторічна трав'яниста рослина висотою 0,5 м, має зеленувато-жовті квіти, що нагадують орхідеї. Кореневище горизонтальне, розгалужене, м'ясисте, від білого або жовтуватого до коричневого кольорів. Імбир має чудову антимікробну активність. Основні країни його вирощування — Індія, Китай, Ямайка та багато інших. Імбир вирощують у відкритому ґрунті і тепличних комплексах [1].

Рослини ростуть в умовах, що постійно змінюються і часто є несприятливими або стресовими для їх росту та розвитку. Такими є абіотичний стрес, скажімо, посуха, спека, холод, дефіцит поживних речовин і надлишок солі або наявність токсичних металів. Негативний вплив цих абіотичних чинників посилюється зміною клімату, який, можливо, призведе до збільшення частоти екстремальних погодних умов [2].

Температурні навантаження і посуха є найважливішими екологічними стресорами, що впливають на ріст рослин. Коливання температури — охолодження, замерзання або тепловий стрес відчутно впливають на рослини. Підвищення врожаю в цих несприятливих умовах — головна мета селекції рослин [3, 4]. Також є ризик втратити врожай через холодні періоди наприкінці весни. Скажімо, підвищення холодостійкості кукурудзи може зменшити цей ризик і дасть змогу її висівати раніше [5]. Моделювання абіотичних стресів в умовах *in vitro* дає можливість дослідити вплив селективного агента на рослинний матеріал і відібрати резистентні форми для подальших селекційних досліджень [6].

Поліетиленгліколь (ПЕГ) — селективний агент, який використовують у фізіологічних експериментах для індукування контрольованої посухи в живильному середовищі *in vitro*. Однією з переваг ПЕГ є його позитивна кореляція між толерантністю до посухи генотипів у лабораторних експериментах і польових умовах [7, 8]. Такі дослідження було проведено американськими вченими на проростаючому зерні рису (*Oryza sativa* L.). 15-ти сортів із використанням ПЕГ,

що дасть можливість селекціонерам створювати стійкі до посухи сорти [9].

За допомогою ПЕГ у концентрації 10% було отримано посухостійкі форми буряків цукрових [10] і за допомогою охолодження до 4–6°C насіння та проростків цієї культури зроблено оцінку та добір на холодостійкість [11].

Кілька досліджень здійснили на поєднанні цих 2-х стресів. Обидва стреси можуть спричинити дегідратацію клітин і накопичення активних форм кисню, що призводить до пошкодження мембрани і системи фотосинтезу на клітинному рівні [12, 13].

В основі стресової пам'яті лежать накопичення білків, факторів транскрипції або захисних метаболітів, епігенетичні модифікації і морфологічні зміни, які досліджують на одному рівні організації рослин [14].

Зарубіжними вченими розроблено метод надійної системи для моделювання комбінованого стресу — холоду та посухи на рівні пагонів винограду і доведено, що ця система має вирішальне значення для добору толерантних форм [15]. Проте на культурі імбиру таких досліджень не проводили.

**Мета досліджень** — розробити методичні основи для скринінгу на толерантність до посухи та холоду імбиру *in vitro*.

**Матеріали і методи досліджень.** Вихідним матеріалом для досліджень були кореневища імбиру (походження — Китай), бруньки та його пагони. Для стимулювання брунькоутворення на кореневищах імбиру використовували умови термостату за температури 28±2°C та вологості 90%. Культивування сегментів кореневищ проводили в пластикових кюветах упродовж 1–2 міс. Отримані бруньки розміром 0,5–2,0 см використовували як первинні експланти для подальших досліджень [16]. Для стимулювання пагоноутворення життєздатних бруньок їх висаджували на модифіковане живильне середовище МС з додаванням 1,0 мг/л БАП та 30 г/л цукрози. Для моделювання умов посухи *in vitro* використовували поліетиленгліколь 6000 у живильному середовищі різних концентрацій: контроль — МС + 1,0 мг/л БАП + 30 г/л цукрози; варіант І — МС + 1,0 мг/л БАП + 30 г/л

цукрози + 5% ПЕГ; варіант II — МС + 1,0 мг/л БАП + 30 г/л цукрози + 10% ПЕГ.

Культивували в умовах термального приміщення світлової кімнати за вологості 60%, освітлення 3 тис. лк та температури  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Добір толерантних до охолодження біотипів імбиру проводили в термокамері з освітленням за температури  $5-6^\circ\text{C}$  на культуральних пагонах, які попередньо було висаджено і культивовано впродовж 4-х тижнів за умов термального приміщення. Експозиція охолодження становила 4 тижні з подальшим культивуванням за умов термального приміщення. Експозиція охолодження становила 4 тижні з подальшим культивуванням за умов термального приміщення.

Було проаналізовано 22 біотиби імбиру, висаджено в кожному варіанті по 10 пагонів, повторність — 3-разова. Обліки стану пагонів імбиру після ПЕГ 6000 та охолодження проводили відповідно через 4, 8 та 4 тижні культивування в термальному приміщенні. Стан пагонів оцінювали за морфологічними ознаками за 9-бальною шкалою: 9 балів (відмінно) — пагони розвинені, листки в розгорненому стані, зелені; 7 балів (добре) — пагони розвинені, листки зелені, у нерозгорненому або напіврозгорненому стані з незначним пожовтінням верхівок листків; 5 балів (задовільно) — пагони нерозвинені, листки нерозгорнені, знебарвлення менше 25%; 3 бали (незадовільно) — пагони нерозвинені, листки жовто-коричневі, знебарвлення більше 25%.

**Результати досліджень.** Проведені дослідження розвитку пагонів імбиру залежно від дії поліетиленгліколю в живильному середовищі показали, що в контрольному варіанті після 4-х тижнів культивування коефіцієнт розмноження в середньому становив 1,7–5,4 шт. на 1 пагін, їх висота варіювала в межах 2,0–5,2 см. Після 8-ми тижнів — відповідно 1,7–5,4 шт./пагін та 3,8–7,1 см у різних біотипів. У табл. 1 наведено показники 13-ти біотипів у всіх досліджуваних варіантах.

Стан пагонів оцінювали за 9-бальною шкалою, яка дала змогу спростити оцінку та добір толерантних пагонів імбиру *in vitro*. За 4 тижні культивування стан пагонів імбиру в контрольному варіанті відзначено як відмінний — пагони були розвиненими, листки в розгорненому стані зеленого кольору з глянцем (9 балів).

У лабораторному дослідженні культивування пагонів імбиру *in vitro* на селективних живильних середовищах МС із додаванням ПЕГ для моделювання умов посухи різних концентрацій спостерігали морфологічні зміни стану та розвитку пагонів і листків культивованих клонів.

За умов 5% ПЕГ у живильному середовищі за 4 тижні культивування спостерігали зменшення кількості новоутворених пагонів у середньому на 0,4–2,6 шт. на 1 пагін та висоти на 0,3–2,6 см порівняно з показниками наростання в контрольному варіанті в більшості досліджуваних біотипів. Проте в 5-ти з 22-х біотипів була позитивна реакція щодо 5% ПЕГ у живильному середовищі. У них коефіцієнт пагоноутворення збільшився порівняно з контролем на 0,2–0,6 шт., висота пагонів — на 0,1–1,3 см.

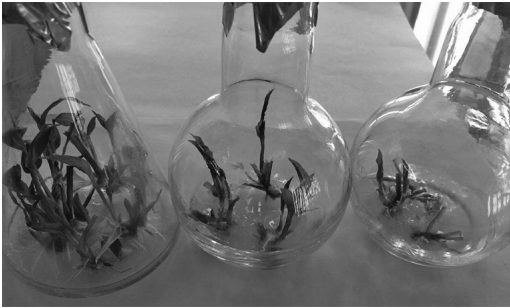
У 5-ти досліджуваних біотипів стан пагонів збігався з показниками контрольного варіанта і був оцінений у 9 балів. У інших 5-ти біотипів спостерігали листки в нерозгорненому або напіврозгорненому стані та незначне пожовтіння верхівок листків. Цей стан було оцінено як добрий (7 балів).

Через 8 тижнів культивування стан пагонів імбиру змінився. У першому варіанті спостерігали пригнічення стану і розвитку пагонів, їх висота поступалася значенням контрольного варіанта на 0,1–2,4 см у 20-ти біотипів, а кількість нових пагонів була зменшена на 0,3–2,6 шт./пагін. Пагони були зеленими, але відзначено часткове знебарвлення верхівок листків від світло-жовтого до чорно-коричневого кольорів. За загальним станом 8 біотипів оцінено на рівні контрольного варіанта — 9 балів, у 13-ти біотипів — 7 і 1-го біотипу — 5 балів (задовільний).

Зі збільшенням концентрації ПЕГ у живильному середовищі до 10% (II варіант) спостерігали більш значні зміни в стані пагонів і листків імбиру. Через 4 тижні культивування коефіцієнт пагоноутворення в середньому становив 0,5–3,3 шт./пагін, що на 0,1–2,9 шт./пагін нижче, ніж у контрольному варіанті. Висота пагонів була 1,3–3,9 см, що на 0,3–2,8 см нижче порівняно з контрольним варіантом. Відзначали затримку розвитку, часткове пожовтіння верхівок листків, які більшою мірою нерозгорнені або напіврозгорнені. У 13-ти біотипів стан

1. Розвиток пагонів імбиру залежно від дії поліетиленгліколю в живильному середовищі

Біотип імбиру	Варіант	Коефіцієнт пагоноутворення, шт./пагін		Висота утворених пагонів, см		Стан пагонів, бал	
		Тижні					
		4	8	4	8	4	8
№ 1-1-1	K	3,4	4,4	4,6	6,8	9	9
	I	3,0	3,3	4,3	4,5	7	7
	II	3,3	3,3	3,1	4,4	7	7
№ 3-2-3	K	2,5	3,1	3,1	3,8	9	9
	I	2,0	2,7	2,7	3,8	7	7
	II	0,9	0,9	2,4	3,0	5	7
№ 4-1-5	K	4,0	4,0	3,7	4,9	9	7
	I	1,4	1,8	3,8	4,4	9	5
	II	1,4	2,6	2,8	3,4	5	5
№ 8-2-2	K	3,5	3,5	3,8	4,8	9	9
	I	2,8	3,2	2,8	4,3	9	9
	II	1,7	3,0	3,9	2,8	5	5
№ 9-2-5	K	3,0	3,0	2,9	3,9	9	9
	I	3,2	3,2	3,3	3,8	9	9
	II	2,3	2,5	2,6	4,4	7	7
№ 10-5-4	K	3,4	4,0	4,1	5,6	9	9
	I	2,0	2,5	3,5	3,6	9	9
	II	0,5	1,0	2,0	3,6	5	7
№ 12-1-1	K	5,4	5,4	3,9	4,2	9	9
	I	2,8	3,2	4,1	3,2	9	9
	II	2,6	3,0	2,5	3,4	7	3
№ 13-2-3	K	3,3	3,4	3,9	4,7	9	9
	I	2,0	2,2	3,1	3,7	7	9
	II	1,5	3,0	1,6	2,6	5	5
№ 14-1-5	K	3,0	3,0	4,3	4,4	9	9
	I	0,4	1,0	4,3	2,7	5	7
	II	1,0	1,6	2,7	2,9	5	5
№ 22-1-2	K	2,2	3,2	2,0	5,2	9	9
	I	2,6	2,6	3,3	6,4	7	7
	II	0,5	2,3	2,7	5,5	7	7
№ 33-1-1	K	1,7	2,5	2,9	7,1	9	9
	I	2,0	3,2	2,9	5,0	7	9
	II	1,6	1,6	2,4	3,4	7	5
№ 37-1-3	K	1,8	2,4	5,2	6,8	9	9
	I	2,4	3,4	2,6	4,4	7	7
	II	2,0	2,2	2,4	4,4	7	7
№ 50-1-2	K	1,7	1,7	3,7	4,6	9	9
	I	1,0	1,0	2,4	2,3	7	7
	II	1,2	1,2	1,3	2,9	7	7
HIP <sub>0,05</sub>		0,2	0,2	0,1	0,2	—	—
Примітка. Контроль — МС + 1,0 мг/л БАП + 30 г/л цукрози; варіант I — МС + 1,0 мг/л БАП + 30 г/л цукрози + 5% ПЕГ; варіант II — МС + 1,0 мг/л БАП + 30 г/л цукрози + 10% ПЕГ.							



а б в

**Рис. 1. Загальний вигляд імбиру через 4 тижні культивування: а — контроль; б — варіант I; в — варіант II**



а б в

**Рис. 3. Загальний вигляд імбиру через 8 тижнів культивування: а — контроль; б — варіант I; в — варіант II (добрий стан)**



а б в

**Рис. 2. Загальний вигляд імбиру через 8 тижнів культивування: а — контроль; б — варіант I; в — варіант II (незадовільний стан)**

пагонів оцінено в 7 балів, решту 9 зразків оцінено в 5 балів (рис. 1).

Через 8 тижнів культивування спостерігали значне пригнічення стану і розвитку пагонів у 10-ти біотипів, їх стан оцінено у 5 та 3 бали (незадовільний). У цієї групи рослин спостерігали знебарвлення листків від 25 до 45% (рис. 2).

У 12-ти біотипів стан пагонів оцінено у 7 балів—листки не втратили зеленого кольору, хоча й спостерігалось відставання висоти наростання пагонів на 0,8–3,7 см та зменшення коефіцієнта пагоноутворення на 0,2–3,0 шт. (рис. 3).

Незалежно від наявності і концентрації ПЕГ у живильному середовищі відзначали утворення і розвиток потужної кореневої системи в 100% клонів імбиру в усіх

експериментальних варіантах середовищ.

Визначено 5 біотипів імбиру з ознакою толерантності до посухи *in vitro*, які показали мінімальні втрати коефіцієнта розмноження (до 29% щодо контролю), висоти пагонів (до 37% порівняно з контролем). Стан пагонів оцінено в 7 балів (добре) через 8 тижнів культивування на живильному середовищі з ПЕГ 10%—№ 1-1-1, № 9-2-5, № 22-1-2, № 37-1-3, № 50-1-2. Ці біотики можуть бути використані як вихідний селекційний матеріал для подальших досліджень.

Наступним етапом досліджень було визначення здатності культуральних пагонів імбиру переносити тривале охолодження в термокамері за умов низьких позитивних температур. Дослідження показали, що впродовж 4-х тижнів культивування в термокамері за температури 5–6°C вони не втрачають зеленого кольору листків і пагонів. Після перенесення колб із рослинним матеріалом в умови термального приміщення за температури 22±2°C через тиждень культивування спостерігали знебарвлення листків і пагонів у 20-ти досліджуваних біотипів імбиру. За результатами досліджень визначено 2 біотики (№ 22-1-2 та № 42-1-1), які виявили толерантність до охолодження і показали відновлення наростання пагонів та здатність до закладання нових бруньок за умов культивування в термальному приміщенні через 2 тижні. Ці біотики є вихідним матеріалом для створення селекційних зразків імбиру, толерантних до охолодження і здатних до відновлення надземної частини.



## Висновки

Реакція імбиру до моделювання посухи *in vitro* на рівні пагонів характеризується біотиповими особливостями і залежить від концентрації ПЕГ у живильному середовищі. Виділено 5 біотипів з ознакою толерантності до посухи *in vitro* за концентрації ПЕГ 6000 10% та експозиції 8 тижнів.

Пагони імбиру *in vitro* чутливі до охолодження

ня до 5–6°C. Відновлення ростових процесів після охолодження відзначено у 2-х біотипів. Визначено 1 біотип імбиру, який має комбіновану ознаку толерантності до охолодження та посухи на рівні пагонів. Розроблено шкалу оцінки морфологічних ознак стану пагонів імбиру *in vitro* на абіотичний стрес, яка спрощує добір толерантних форм.

Роик Н.В.<sup>1</sup>, Бех Н.С.<sup>2</sup>, Коцар М.А.<sup>3</sup>

Інститут біоенергетических культур і сахарної свеклы НААН, ул. Клиническая, 25, г. Киев, 03141, Украина; e-mail: <sup>1</sup>sugarbeet@ukr.net, <sup>2,3</sup>sectorinvitro@gmail.com

### Отбор генотипов имбиря, толерантных к абiotическим стрессовым факторам в условиях *in vitro*

**Цель.** Разработать методические основы для скрининга на толерантность к засухе и холоду имбиря *in vitro*. **Методы.** Лабораторный, биотехнологический, математико-статистический. Исследуемый материал – 22 биотипа имбиря. Учеты состояния побегов (коэффициент побегообразования, высота побегов, морфологические признаки за 9-балльной шкалой) после воздействия ПЭГ 6000 (5 и 10%) и холодного стресса (5–6°C) сравнивали с побегами контрольного варианта соответственно через 4, 8 и 4 недели культивирования в термальном помещении. **Результаты.** Проведенные исследования с клонального микроразмножения имбиря на модифицированной питательной среде (контроль) показали, что коэффициент размножения в среднем составлял 1,7–5,4 шт./побег. Через 8 недель культивирования на средах с ПЭГ (5 и 10%) наблюдали угнетение состояния и развития побегов. В варианте I количество новых побегов было уменьшено на 0,3–2,6 шт./побег в сравнении с контролем. За общим состоянием 8 биотипов оценено на уровне контрольного варианта — 9 баллов, у 13-ти — 7 и 1-го — 5 баллов. В варианте II 10 биотипов имели 5 и 3 балла. У 12-ти биотипов состояние побегов оценено в 7 баллов. В условиях охлаждения побегов *in vitro* в термокамере определены 2 биотипа, которые проявили толерантность к охлаждению и восстановили нарастание и образование побегов в условиях культивирования в термальном помещении через 2 недели. **Выводы.** Реакция имбиря на моделирование засухи *in vitro* на уровне побегов характеризуется биотипическими особенностями и зависит от концентрации ПЭГ в питательной среде. Выделено

5 биотипов с признаком толерантности к засухе *in vitro* при концентрации ПЭГ 6000 10% и экспозиции 8 недель. Побег имбиря *in vitro* чувствителен к охлаждению 5–6°C. Восстановление ростовых процессов после охлаждения наблюдали в 2-х биотипов. Определен один биотип имбиря, который имеет комбинированный признак толерантности к охлаждению и засухе на уровне побегов. Разработана шкала оценки морфологических признаков состояния побегов имбиря *in vitro* на абіотический стресс, которая упрощает подбор толерантных форм.

**Ключевые слова:** имбирь, побеги, толерантность, ПЭГ 6000, *in vitro*.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201908-07>

Roik M.<sup>1</sup>, Bekh N.<sup>2</sup>, Kotsar M.<sup>3</sup>

Institute of biopower crops and sugar beet of NAAS, Klinichna Str., 25, Kyiv, 03141, Ukraine; e-mail: <sup>1</sup>sugarbeet@ukr.net, <sup>2,3</sup>sectorinvitro@gmail.com

### Selection of genotypes of ginger tolerant to abiotic stressful factors in conditions *in vitro*

**The purpose.** To develop methodical bases for screening on tolerance to drought and cold of ginger *in vitro*. **Methods.** Laboratory, biotechnological, mathematical-statistical. Probed material — 22 biotypes of ginger. Account of state of shoots (factor of sprout-formation, height of shoots, morphological attributes based on 9-mark scale) after action of PEG 6000 (5 and 10%) and cold stress (5–6°C) were compared to shoots of control alternative accordingly in 4; 8, and 4 weeks of cultivation in thermal room. **Results.** The carried out probes with clonal microreproduction of ginger on the inoculated nutrient substrate (control) have shown that multiplication ratio on the average was 1,7–5,4 pieces/shoot. In 8 weeks of cultivation on substrate with PEG (5 and 10 %) they observed depression in state and growth of shoots. In alternative I the amount of new shoots decreased on 0,3–2,6 pieces/shoot as compared to control. As to general state they fixed the following: 8 biotypes were evaluated at the level of control alternative — 9 points, 13 — 7, and 1 — 5 points. In alternative II 10 biotypes had 5 and 3 points. At 12 biotypes the state of shoots was evaluated as

7 points. In conditions of cooling of shoots *in vitro* in heat chamber they fixed 2 biotypes which manifested tolerance to cooling and restored growth and formation of shoots in conditions of cultivation in thermal room in 2 weeks. **Conclusions.** Response of ginger to simulation of drought *in vitro* at the level of shoots is characterized by biotypical features and depends on density of PEG in nutrient substrate. They selected 5 biotypes with an attribute of tolerance to drought *in vitro* at density of PEG 6000 10% and exposure for 8 weeks. Shoots of ginger *in vitro* are sensitive to

cooling to 5–6°C. Restoration of growth processes after cooling is observed in 2 biotypes. One biotype of ginger which has the combined attribute of tolerance to cooling and drought at the level of shoots is determined. The rating scale of morphological attributes of state of shoots of ginger *in vitro* on abiotic stress which simplifies selection of tolerant forms is developed.

**Key words:** ginger, shoots, tolerance, PEG 6000, *in vitro*.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201908-07>

## Бібліографія

1. Hasanain K.S., Haidar J.M., Haider M.H., Imad H.H. Antibacterial Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) Roscoe and Bioactive Chemical Analysis using gas chromatography mass spectrum. *OJCHeg*, 2016. V. 32, № 2. P. 817–837. doi: [10.13005/ojcheg/320207](https://doi.org/10.13005/ojcheg/320207)
2. Fedoroff N.V., Battisti D.S., Beachy R.N. et al. Radically rethinking agriculture for the 21st century. *Science*. 2010. V. 327. P. 833–834.
3. Hou Q., Ufer G., Bartels D. Lipid signalling in plant responses to abiotic stress. *Plant, Cell & Environment*. 2016. V. 39. P. 1029–1048. doi: [10.1111/pce.12666](https://doi.org/10.1111/pce.12666)
4. Cattivelli L., Rizza F., Badeck F.-W. et al. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Research*. 2008. V. 105. Is. 1–2. P. 1–14. doi: [10.1016/j.fcr.2007.07.004](https://doi.org/10.1016/j.fcr.2007.07.004)
5. Bauer E., Hoelker A.C., Mayer M. et al. Genetic variation for early development and cold tolerance in DH libraries from maize landraces. *60th Annual Maize Genetics Conference*. 2018. P. 161.
6. Любченко І.О., Рябовол Л.О., Любченко А.І. Використання культури *in vitro* в адаптивній селекції рослин (огляд літератури). *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва*. 2016. № 88 (1). С. 126–139.
7. Turhan H., Baser I. *In vitro* and *In vivo* water stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *HELIA*. 2004. V. 27(40). P. 227–236.
8. Kosturkova G., Todorova R., Dimitrova M., Tasheva K. Establishment of tests for facilitating screening of drought tolerance in soybean. *Series F. Biotechnologies*. 2014. V. 18. P. 32–37.
9. Bhupinder S., Reddy K. R., Edilberto D.R., Walker T. Developing a screening tool for osmotic stress tolerance classification of rice cultivars based on *in vitro* seed germination. *Crop Science*. 2016. V. 57. № 1. P. 387–394. doi: [10.2135/cropsci2016.03.0196](https://doi.org/10.2135/cropsci2016.03.0196)
10. Небіков М.В. Добір посухостійких біотипів цукрового буряка в умовах культури *in vitro*. *Цукрові буряки*. 2003. № 4. С. 18–19.
11. Поік Н.В., Бех Н.С., Коцар М.А., Бойко І.І. Оценка и отбор холодостойких форм сахарной свеклы с использованием культуры *in vitro*. *Сахарная свекла*. 2016. № 9. С. 11–13.
12. Yu X., Peng Y.H., Zhang M.H. et al. Water relations and an expression analysis of plasma membrane intrinsic proteins in sensitive and tolerant rice during chilling and recovery. *Cell Res*. 2006. V. 16(6). P. 599–608.
13. Lanier J., Ebdon J., DaCosta M. Physiological changes associated with wilt-induced freezing tolerance among diverse turf performance perennial ryegrass cultivars. *Crop Sci*. 2012. V. 52(3). P. 1393–1405.
14. Walter J., Jentsch A., Beierkuhnlein C., Kreyling J. Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes. *Environmental and Experimental Botany*. 2013. V. 94. P. 3–8.
15. Lingye S., Zhanwu D., Shaohua L., Haiping X. A novel system for evaluating drought–cold tolerance of grapevines using chlorophyll fluorescence. *BMC Plant Biology*. 2015. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0459-8>.
16. Бех Н.С., Коцар М.О., Поік М.В. Спосіб отримання асептичної культури імбиру *in vitro*. *Вісник аграрної науки*. 2017. № 9. С. 40–43. doi: [10.31073/agrovisnyk201709-07](https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201709-07)