

АВКСЕНТЬЄВА О.О.

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна,

Україна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, e-mail: avksentyeva@karazin.ua, (057) 707-54-82

СКРИНІНГ СТУПЕНЯ ЖАРО-ТА ПОСУХОСТІЙКОСТІ СОРТІВ СОЇ КУЛЬТУРНОЇ,  
КОНТРАСНИХ ЗА СКОРОСТИГЛІСТЮ, ЗА УМОВ *IN VIVO* ТА *IN VITRO*

**Мета.** Проведення скринінгу комплексної жаро- та посухостійкості у сортів сої культурної, що різняться за скоростиглістю за умов вегетаційних дослідів та культури *in vitro*.

**Методи.** Для створення умов «штучної посухи» дослідні проростки та калюси культивували з додаванням 10 % розчину манітолу, аналіз жаростійкості проводили за впливу температурного шоку (60 °C) різної тривалості (10–30 хвилин). Посухо- та жаростійкість визначали експрес-аналізом за схожістю насіння та гальмуванням ростової реакції, а в культурі *in vitro* – за показником ростовий індекс (PI) та аналізуючи температурний поріг коагуляції білків (ТПКБ).

**Результати.** За дії посухи та гіпертермії досліджені сорти з різною скоростиглістю відрізнялися за ступенем стійкості до цих стресорів. Підвищену посухо- і жаростійкість в умовах як *in vivo*, так і *in vitro* проявляли середньостиглий сорт Ятрань і середньоранній Устя, понижено – ультраранньостиглий сорт Аннушка. Скоростиглий сорт Хаджибей характеризувався найбільш низьким рівнем комплексної посухо- та жаростійкості.

**Висновки.** Припускається, що рівень посухо- та жаростійкості детермінований генотиповими особливостями сортів та може бути пов'язаний з ознакою тривалість періоду вегетації – скоростиглість.

**Ключові слова:** *Glycine max* (L.) Merr., тривалість вегетаційного періоду, посухостійкість, жаростійкість, калюсна культура.

Соя культурна *Glycine max* (L.) Merr. є поширеною в світі та Україні сільськогосподарською культурою. Однією з найважливіших господарсько цінних ознак, що визначає адаптивність і продуктивність сої, є тривалість вегетаційного періоду, яка на 70 % контролюється генетично і на 30 % іншими факторами [1]. Серед сучасних сортів сої є велика різноманітність за ознакою скоростиглості. В сучасних умовах глобальної зміни клімату протягом вегетаційного періоду рослини все частіше зазнають дії по-

сухи та гіпертермії. З'ясовано, що за умов стресів у рослин сої знижується інтенсивність фотосинтезу, активується робота ферментів антиоксидантної системи [2], скорочується тривалість проходження фенофаз [3], змінюються показники індивідуальної продуктивності та загалом знижується урожайність рослин [2]. Для отримання максимальних врожаїв селекціонерами проводиться відбір на показник максимальної врожайності за дії стресового фактора [4, 5], хоча відомо, що ці показники – продуктивність та адаптивність – детермінуються різними генетичними системами [6]. Адаптивність рослин сої культурної також залежить від того, на якому етапі онтогенезу рослини зазнають дії стресора, тому тривалість вегетаційного періоду є важливим показником для формування більш стійких сортів. Водний дефіцит та гіпертермія можуть діяти одночасно протягом посухи, але в деяких випадках і окремо. Отже, пошук та відбір генотипів на ознаку комплексна жаро- та посухостійкість є актуальним завданням для створення адаптивних сортів сої культурної.

Для вивчення фундаментальних проблем біології рослин та в селекційно-генетичних програмах щодо поліпшення господарсько цінних ознак сої культурної є актуальним застосування методів біотехнології рослин [7]. Ефективність введення в культуру рослин вважають генетично детермінованою ознакою, тому, можливо, що тривалість вегетаційного періоду сої опосередковано пов'язана з цим показником. Соя культурна досить легко вводиться в культуру *in vitro* [8, 9]. Новітні біотехнологічні розробки у галузі клітинних технологій дозволяють успішно їх використовувати для одержання нових форм рослин, а також для вдосконалення наявних сортів сої [10]. Культура *in vitro* є адекватною моделлю для дослідження дії тих чи інших абіотичних стресорів. Отже, метою пропонованої роботи було проведення скринінгу жаро- та посухостійкості сортів сої, що різняться за ско-

ростиглістю за умов вегетаційних дослідів та культури *in vitro*.

### Матеріали і методи

**Рослинний матеріал.** У роботі використували чотири сорти сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.), внесені до Державного реєстру сортів рослин України та контрастні за скоростиглістю: ультраранньостиглий сорт Аннушка – тривалість вегетаційного періоду становить 75 – 85 діб, середньоранній сорт Устя – 102 – 104 діб, середньостиглий сорт Ятрань – 106 – 110 діб та скоростиглий сорт Хаджибей – 114 – 125 діб. Насіння для досліджень було надане Інститутом рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН України.

**Дизайн дослідження.** Експерименти з вивчення ступеня жаро- та посухостійкості проводили за умов *in vivo* (вегетаційні досліді на проростках) та *in vitro* (калюсна культура 2 – 3-го пасажу). Введення в культуру *in vitro* сої культурної здійснювали за розробленим раніше протоколом [11]. Пересадкові калюсні культури культивували на живильному середовищі Мура-сиге-Скуга (МС) із додаванням 10 мг/л синтетичного ауксину 2,4 Д. Скринінг досліджуваних сортів сої культурної на посухостійкість проводили експрес-методом за схожістю насіння та аналізом ростової реакції проростків [12]. Для створення умов «штучної посухи» дослідні проростки культивували в чашках Петрі з додаванням 10 % розчину манітолу, контрольні – на воді. Для аналізу ступеня посухостійкості за умов *in vitro* визначали ростовий індекс (PI) калюсів [11], культивуючи їх протягом ростового циклу (4 – 6 тижнів) на агаризованому живильному середовищі МС+10 мг/л 2,4 Д з додаванням у дослідному варіанті 10 % манітолу. Експрес-аналіз жаростійкості проводили за впливу температурного шоку (60 °С) різної тривалості (10 – 30 хвилин) на схожість насіння та ростову реакцію проростків [12]. Також проводили визначення температурного порога коагу-

ляції білків (ТПКБ) за Вигоровим [9] у 7-добових проростках та калюсах досліджуваних сортів сої. Експерименти *in vivo* та *in vitro* проведені у 3 – 5 серіях, отримані результати статистично оброблені [13]. У таблицях та на графіках наведені середні значення показників та їх стандартні відхилення.

### Результати та обговорення

**Аналіз посухостійкості *in vivo*.** Цю ознаку аналізували за здатністю насіння досліджених сортів проростати в умовах штучної посухи – з додаванням осмотика 10 %-ого манітолу. Результати дослідів показали, що за дії штучної посухи сорти різнилися за здатністю насіння до проростання (табл. 1). Серед вивчених сортів сої найбільша здатність до проростання за штучної посухи спостерігалася у середньораннього сорту Устя та середньостиглого сорту Ятрань, вона майже не змінилася щодо контролю. Схожість насіння ультраранньостиглого сорту Аннушка і скоростиглого сорту Хаджибей знижалася за штучної посухи на 25 – 30 % до контролю.

Результати визначення ростової реакції проростків досліджених сортів за дії штучної посухи наведені на рисунку 1. Про стійкість сортів до цього фактора судили за довжиною та біомасою проростків як інтегральними показниками ростових процесів.

Зазначимо, що в контролі сорти різнилися за лінійним ростом – довжина проростків у сорту Хаджибей була найбільшою, дещо меншою і однаковою у сортів Аннушка та Устя, а найменшою у сорту Ятрань (рис. 1 А). За дії посухи всі сорти істотно гальмували лінійний ріст щодо контролю, але у різному ступені (залежно від сорту). Так, у сорту Хаджибей довжина проростків за посухи становила 17,9 %, у сортів Аннушка, Ятрань і Устя – 21 %, 25 % і 28 % відповідно порівняно за контролем. Отже, найбільш чутливим до дії посухи за показником лінійного росту є сорт Хаджибей (рис. 1 А).

Таблиця 1. Вплив штучної посухи на схожість насіння сортів сої (*Glycine max* (L.) Merr.), контрастних за скоростиглістю, %

Сорт	Схожість, %	
	Контроль (H <sub>2</sub> O)	Дослід (10% манітол)
Аннушка	99 ± 1,0	75 ± 2,7*
Ятрань	100 ± 0	97 ± 3,0
Устя	98 ± 3,0	90 ± 2,5*
Хаджибей	100 ± 0	70 ± 2,5*

Примітка. \* – відмінності порівняно з контролем істотні за P<0,05.

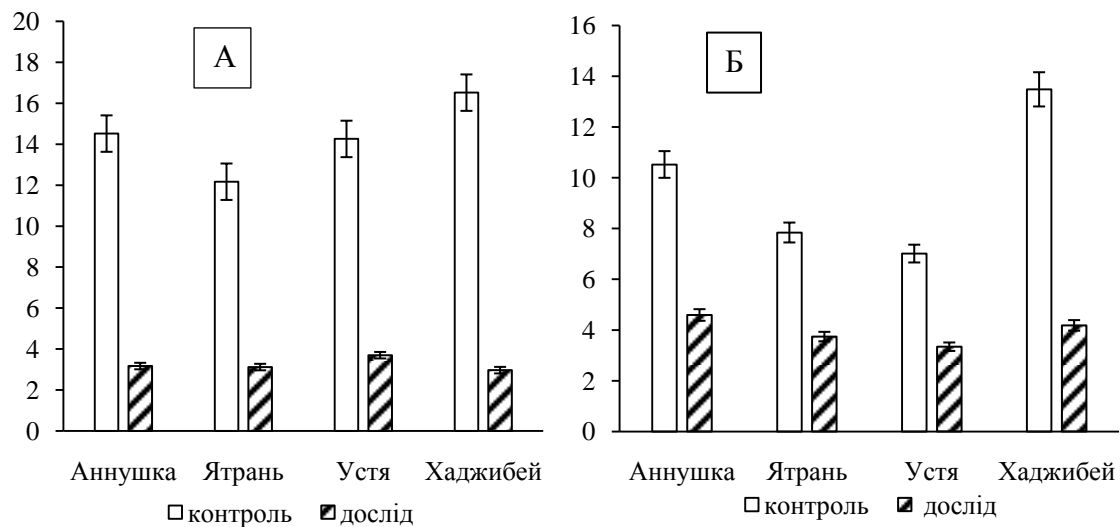


Рис. 1. Вплив штучної посухи на ростову реакцію проростків сортів сої, різних за скоростиглістю: А – довжина проростків, см; Б – біомаса проростків, мг.

Результати визначення біомаси проростків досліджених сортів показали, що у контролі вони різнилися за цим показником (рис. 1 Б). Найбільша маса проростків була у сорту Хаджибей, дещо нижча у сорту Аннушка, ще нижча у сортів Ятрань і Устя. За посухи усі сорти знижували біомасу проростків, але у різному ступені. Так, маса проростків стосовно контролю становила: у сорту Хаджибей – 31 %, у сортів Устя і Ятрань – 47 %, у сорту Аннушка – 42 % (рис. 1 Б).

Таким чином, за характером реакції на посуху найбільш чутливим до цього стресора виявився сорт Хаджибей, бо у нього схожість насіння, лінійний ріст та маса проростка знижувалися значно більше, ніж інших сортів.

*Аналіз посухостійкості in vitro.* У досліджах *in vivo*, результати яких наведені вище, був встановлений різний рівень реакції сортів на посуху. Відомо, що в умовах *in vitro* реакція рослин на дію різних факторів може бути іншою, ніж в умовах *in vivo* [7, 11]. Тому доцільно було порівняти реакцію досліджених сортів на посуху в умовах *in vivo* та *in vitro*. У досліджах *in vitro* попередньо визначали ефективність введення досліджених сортів у культуру. Результати показали (рис. 2 А), що на МС із додаванням 10 мг/мл 2,4Д найвища частота калусогенезу була у сорту Хаджибей, дещо нижчою – у сортів Ятрань і Аннушка, а найнижчою – у сорту Устя. Це дає підставу припустити, що відмінності між сортами за інтенсивністю калусогенезу зумовлені їх генотиповими особливостями, які визначають і скоростиглість досліджуваних сортів.

Для визначення реакції калусних культур на посуху їх культивували на середовищі МС з додаванням 10 % манітолу. Після чотирьох тижневого культивування визначали РІ. Результати показали (рис. 2 Б), що за дії посухи РІ калусів практично не змінювався у сорту Ятрань та незначно у сорту Устя, але істотно знижувався у сорту Аннушка порівняно з контролем. Найбільшою мірою РІ за посухи знижувався у сорту Хаджибей – майже втричі щодо контролю (рис. 2 Б).

Отже, у культурі *in vitro*, як і у досліджах *in vivo*, найбільш чутливим до дії посухи виявився сорт Хаджибей. Вірогідно, що ця його особливість є проявом генотипового контролю стійкості до посухи. Оскільки цей сорт серед досліджених має найбільшу тривалість періоду вегетації, то, можливо, його реакція на посуху може бути пов'язана з цією ознакою.

*Аналіз жаростійкості in vivo та in vitro.* Жаростійкість досліджених сортів визначали за дії теплового шоку (60 °С) різної тривалості за показниками схожості насіння і довжина проростків *in vivo*, а також за температурним порогом коагуляції білків (ТПКБ) *in vivo* та *in vitro*.

Результати визначення схожості насіння досліджених сортів за дії теплового шоку (ТШ) показали (табл. 2), що у міру зростання тривалості ТШ вона знижувалася у всіх сортів. Але найшвидше цей процес відбувався у сорту Хаджибей – вже після 10 хв дії ТШ схожість його насіння становила тільки 20 % від контролю, а через 20 хв дії ТШ насіння цього сорту не проростало. Інші сорти за зниженням схожості на-

сіння під час дії ТШ ранжувалися таким чином: Ятрань > Устя > Аннушка.

Дія ТШ викликала зміни у динаміці лінійного росту проростків досліджених сортів, аналогічні тим, які були виявлені за динамікою схожості насіння. Найбільш чутливим до дії цього фактора виявився сорт Хаджибей, а найменш чутливим – сорт Ятрань (табл. 3).

Визначення температурного порога коа-

гуляції білків (ТПКБ) показало (рис. 3), що в умовах *in vivo* він майже не відрізнявся – був у межах 96 – 98 °С (рис. 3). В умовах *in vitro* ТПКБ в усіх сортів істотно знижувався. При цьому найбільше його зниження виявлено у сорту Хаджибей. Інші сорти за зниженням цього показника в умовах *in vitro* ранжувалися у такий ряд: Ятрань > Устя > Аннушка (рис. 3).

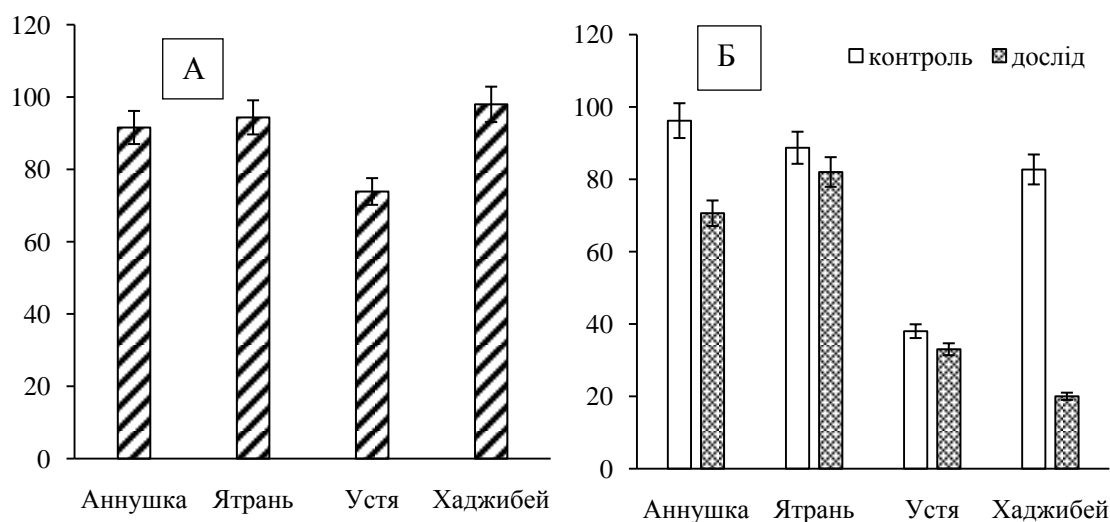


Рис. 2. Дослідження посухостійкості сортів сої за умов культури *in vitro*: А – ефективність калусогенезу сортів сої, різних за скоростиглістю, %; Б – вплив штучної посухи (10 % манітол – дослід) на ростовий індекс (PI) калусів сортів сої, різних за скоростиглістю, %.

Таблиця 2. Вплив температурного шоку (60 °С) різної тривалості на схожість насіння сортів сої, контрастних за скоростиглістю

Сорт	Схожість насіння*, %				
	Контроль	Температурний шок при експозиції, хвилин			
		10	15	20	30
Аннушка	99 ± 1,0	60±2	60±3	40±2	30±2
Ятрань	100 ± 0	80±3	80±1	70±2	20±2
Устя	98 ± 3,0	80±2	70±4	50±3	-
Хаджибей	100 ± 0	20±1	15±2	-	-

Примітка. \* – відмінності порівняно з контролем істотні за P<0,05.

Таблиця 3. Вплив температурного шоку (60 °С) різної тривалості на довжину проростків сортів сої, різних за скоростиглістю

Сорт	Довжина проростків*, см				
	Контроль	Температурний шок при експозиції, хвилин			
		10	15	20	30
Аннушка	14,4±1,0	7,1±0,9	4,3±0,9	3,5±0,5	2,3±0,3
Ятрань	12,3±0,5	10,4±1,0	4,2±0,7	2,7±0,6	3,1±0,3
Устя	14,2±1,1	9,3±0,7	9,0±0,5	5,9±0,8	-
Хаджибей	16,1±1,0	2,1±0,3	1,4±0,4	-	-

Примітка. \* – відмінності порівняно з контролем істотні за P<0,05.

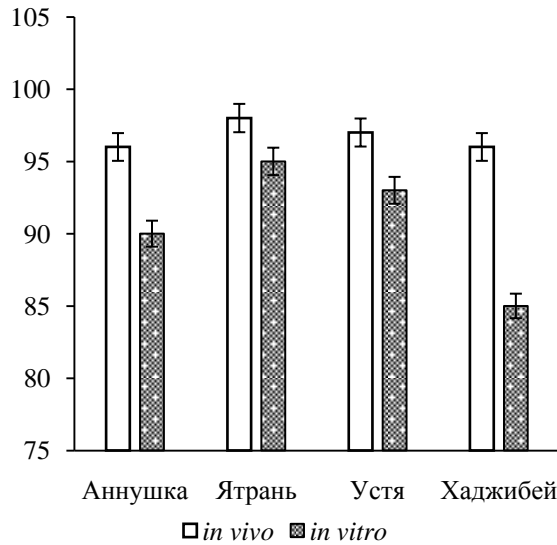


Рис 3. Температурний поріг коагуляції білків (°C) у проростках (*in vivo*) та калюсах (*in vitro*) сортів сої, різних за скоростиглістю.

Отже, досліджені сорти проявляють різний рівень реакції на модельовану посуху та гіпертермію як на ранніх етапах онтогенезу (проростки), так і у культурі *in vitro*. Це свідчить про те, що застосований підхід дає можливість більш надійно диференціювати різні генотипи сої за стійкістю до посухи та жару.

Аналіз відмінностей за рівнем стійкості до застосованих несприятливих чинників у сортів сої з різною скоростиглістю показав, що як ультраранньостиглий сорт Аннушка, так і скоростиглий сорт Хаджибей мають низький рівень стійкості щодо середньораннього та середньостиглого сортів Устя та Ятрань. Тим не менше, скоростиглий сорт Хаджибей, який характеризується максимальною тривалістю вегетаційного періоду, серед досліджених сортів має найнижчу комплексну стійкість до посухи та гіпертермії. Вірогідно, що рівень стійкості до цих стресорів визначається генотиповими особливостями кожного дослідженого сорту, в тому числі і ознакою скоростиглості. Реакція досліджуваних сортів на дію стресорів збігалася в умовах *in vivo* (проростки) та у культурі *in vitro*. Але за умов культури *in vitro* диференціація за досліджуваними показниками була більш вираженою в порівнянні з дослідом *in vivo*. Це дає підставу вважати, що калюсна культура

*in vitro* може бути застосована для скринінгу сортів сої за ознаками посухо- та жаростійкості.

### Висновки

Досліджені сорти, які різняться за скоростиглістю, відрізнялися за стійкістю до посухи та гіпертермії на ранніх етапах онтогенезу (*in vivo*) та у калюсній культурі (*in vitro*). Найбільш посухостійким та жаростійким як *in vivo*, так і *in vitro* виявилися середньостиглий сорт Ятрань та середньоранній сорт Устя. Найнижчу посухостійкість і жаростійкість проявив скоростиглий сорт Хаджибей та ультраранньостиглий сорт Аннушка в умовах *in vivo* та *in vitro*. В умовах *in vivo* та культури *in vitro* досліджені сорти проявляли ідентичну реакцію на дію посухи та гіпертермії, що свідчить про адекватність калюсної культури для скринінгу посухостійкості та жаростійкості сортів сої. Оскільки у сортів із різною скоростиглістю проявляється різний рівень реакції на посуху та гіпертермію, то вірогідно, що тривалість періоду вегетації сортів, яка детермінується генетично, може бути пов'язана зі стійкістю до посухи та гіпертермії.

*Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Дослідження молекулярно-генетичних та фізіолого-біохімічних механізмів яровизаційного та фотоперіодичного контролю онтогенезу рослин in vivo та in vitro», № Держреєстрації 0118U 002104.*

### References

1. Cober E.R., Morrison M.J. Regulation of seed yield and agronomic characters by photoperiod sensitivity and growth habit genes in soybean. *Theor. Appl. Genet.* 2010. № 120. P. 1005–1012. doi: 10.1007 / s00122-009-1228-6.

2. Nasir I., Sajad H., Muhammad A. R. et al. Drought tolerance of soybean (*Glycine max* L. Merr.) by improved photosynthetic characteristics and an efficient antioxidant enzyme activities under a split-root system *Front. Physiol.* 2019. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00786>.
3. Fadeev A.A., Fadeeva M.F., Vorobeva L.V. Ecological resistance of early ripe soybean varieties to abiotic stressors. *Maslichnyie kulturyi*. 2011. Vol. 2 (148–149). P. 45–48. [in Russian] / Фадеев А.А., Фадеева М.Ф., Воробьева Л.В. Экологическая устойчивость раннеспелых сортов сои к абиотическим стрессорам. *Масличные культуры*. 2011. Вып. 2 (148–149). С. 45–48.
4. Posyilaeva O.A., Kirichenko V.V. The source material of soy for selection for heat and drought resistance. *Vestnik Belorusskoy gosudarstvennoy selskohozyaystvennoy akademii*. 2014. № 3. P. 94–98. [in Russian] / Посылаева О.А., Кириченко В.В. Исходный материал сои для селекции на жаро- и засухоустойчивость. *Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии*. 2014. № 3. С. 94–98.
5. Sapra V.T., Anaele A.O. Screening Soybean Genotypes for Drought and Heat Tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2008. Vol. 167 (2). P. 96–102. doi: 10.1111/j.1439-037X.1991.tb00939.x.
6. Dyakov A.B., Trunova M.V., Vasileva T.A. Assessment of the potentials of yield and drought tolerance of soybean varieties. *Maslichnyie kulturyi*. 2009. Vol. 2 (141). P. 78–86. [in Russian] / Дьяков А.Б., Трунова М.В., Васильева Т.А. Оценка потенциалов урожайности и засухоустойчивости сортов сои. *Масличные культуры*. 2009. Вып. 2 (141). С. 78–86
7. Mel'nichuk M.D., Novak T.V., Kunakh V.A. *Biotehnolohiia roslyn*. Kyiv: Polihraf Konsalting, 2003. 520 p. [in Ukrainian] / Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин. К.: Поліграф Консалтинг, 2003. 520 с.
8. Sairam R.V., Franklin G, Hassel R. et al. A study on the effect of genotypes, plant growth regulators and sugars in promoting plant regeneration via organogenesis from soybean cotyledonary nodal callus. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2003. Vol. 75, № 1. P. 79–85.
9. Zabeida O.F., Zhuk V.P., Naumenko V.D. Introduction in vitro culture different varieties of soybean (*glycine max* (L.) merr.), sterilization and dynamics of callus formation. *Factors in experimental evolution of organisms*. 2015. Т. 17. P. 156–159. [in Ukrainian] / Забейда О.Ф., Жук В.П., Науменко В.Д. Введення в культуру *in vitro* різних сортів сої (*Glycine max* (L.) Merr.), стерилізація та динаміка калусоутворення. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2015. Т. 17. С. 156–159. doi: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo\\_2015\\_17\\_35](http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo_2015_17_35).
10. Kershanskaya O.I. Genetic engineering of soybeans to improve resistance to abiotic stresses. *Biotehnologiya. Teoriya i praktika*. 2013. № 1. P. 3–8. [in Russian] / Кершанская О.И. Генетическая инженерия сои для улучшения устойчивости к абиотическим стрессам. *Биотехнология. Теория и практика*. 2013. № 1. С. 3–8.
11. Avksent'ieva O.O., Shulik V.V. Higher plant biotechnology: *in vitro* culture. Kh.: KhNU imeni V.N. Karazina, 2017. 92 p. [in Ukrainian] / Авксентьева О.О., Шулік В.В. Біотехнологія вищих рослин: культура *in vitro*. Х.: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2017. 92 с.
12. Polevoy V.V., Chirkova T.V., Lutova L.A. et al. Workshop on plant growth and resistance. SPB.: Izd-vo S.-Peterb. un-ta, 2001. 212 p. [in Russian] / Полевой В.В., Чиркова Т.В., Лутова Л.А. и др. Практикум по росту и устойчивости растений. СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2001. 212 с.
13. Atramentova L.A., Utevskaia O.M. Statistical methods in biology. Gorlovka: «Vidavnitstvo Lihtar», 2008. 248 p. [in Russian] / Атраментова Л.А., Утевская О.М. Статистические методы в биологии. Горловка: «Видавництво Ліхтар», 2008. 248 с.

**AVKSENTIEVA O.O.**

V.N. Karazin Kharkiv National University,

Ukraine, 61022, Kharkiv, Svobody sq., 4, e-mail: [avksentyeva@karazin.ua](mailto:avksentyeva@karazin.ua)**SCREENING CULTIVARS OF SOYBEAN, CONTRASTING FOR RAPIDITY MATURITY, OF THE DEGREE FOR HEAT- AND DROUGHT RESISTANCE, IN VIVO AND IN VITRO**

**Aim.** Screening for complex heat and drought resistance in varieties of soybeans that differ for maturity in growing experiences and *in vitro* culture. **Methods.** To create the conditions of "artificial drought" experimental seedlings and calluses with the addition of 10% mannitol solution were cultured, heat resistance analysis out under the influence of temperature shock (60 ° C) of different duration (10-30 minutes) was carried. Drought and heat resistance by rapid analysis of seed germination and growth inhibition were determined, and *in vitro* by growth index (RI) and protein coagulation temperature (PCT). **Results.** During drought and hyperthermia tested varieties with different ripening differ in the degree of resistance to these stressors. Increased drought and heat resistance in conditions, both *in vivo* and *in vitro* middle-matured Yatran and middle-early Ustyia, lowered – ultra-ripe Anushka were showed. The ripening Hajibey variety the lowest level of complex drought and heat resistance was characterized. **Conclusions.** It is assumed that the level of drought and heat resistance is determined by the genotypic characteristics of the varieties and may be related to the sign of the duration of the growing season – rapidity of maturity.

**Keywords:** *Glycine max* (L.) Merr., duration of growing season, drought resistance, heat resistance, callus culture.