

УДК 561.143.6

СКРИНІНГ ГЕНОТИПІВ ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО НА СТІЙКІСТЬ ДО ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ В КУЛЬТУРІ АПІКАЛЬНИХ МЕРИСТЕМ ПАГОНІВ

С.В. ПИКАЛО¹, М.А. ЗІНЧЕНКО², С.І. ВОЛОЩУК¹, О.В. ДУБРОВНА²

¹ Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла Національної академії аграрних наук України

Україна, 08853, Київська обл., Миронівський р-н, с. Центральне

² Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17

e-mail: pykserg@ukr.net

Мета. Провести скринінг *in vitro* різних генотипів тритикале озимого на стійкість до водного дефіциту в культурі апікальних меристем пагонів. **Методи.** Методом прямого добору проведено скринінг генотипів тритикале на стійкість до водного дефіциту з використанням низькомолекулярного маніту концентрацією 0,2–0,8 М. **Результати.** Встановлено, що концентрація 0,6 М маніту дозволяє диференціювати генотипи тритикале за стійкістю до водного дефіциту. Калюси лінії 38/1296 характеризуються порівняно високим морфогенним потенціалом та приростом біомаси за присутності маніту концентрацією 0,8 М, яка для інших генотипів виявилась летальною. **Висновки.** Лінія 38/1296 може бути використана як цінний матеріал для подальшої селекції тритикале озимого. Культуру апікальних меристем пагонів можна використовувати як тест-систему для проведення скринінгу генотипів тритикале на стійкість до водного дефіциту.

Ключові слова: *Triticale*, апікальні меристеми, осмотичний стрес, стійкість.

Вступ. Тритикале, як нова сільськогосподарська культура, об'єднує в собі високий потенціал продуктивності та відмінних хлібопекарських властивостей пшениці з високою стійкістю до екологічних стресів і хвороб та біологічними властивостями білка жита [1–3]. Сьогодні селекцією тритикале займаються вчені багатьох країн світу. Світова площа його посіву становить понад 1,5 млн га, у тому числі в Україні більше 100 тис. га. Найбільшого поширення тритикале набуло в Австралії, Польщі, Білорусії, Іспанії [4–6].

Але в умовах глобальних змін клімату, коли на рослинний організм діє низка абіотичних стресових чинників, добір на посухостійкість є особливо актуальною і важливою частиною селекційного процесу даної культури [7]. Селекція на стійкість до водного дефіциту на основі оцінки урожайності є складним завданням, тому що успадковуваність урожайності в умовах стресу зазвичай низька у зв'язку з невеликою генотиповою дисперсією або через велику варіансу взаємодії генотип-середовище [8].

Поряд із застосуванням традиційних генетико-селекційних методів отримання високопродуктивних сортів та гібридів сільськогосподарських культур все більшого поширення набувають біотехнологічні прийоми при створенні вихідного матеріалу, стійкого до різних стресових чинників [9, 10]. Одним із таких

© С. В. ПИКАЛО, М. А. ЗІНЧЕНКО, С. І. ВОЛОЩУК, О. В. ДУБРОВНА, 2014

методів є клітинна селекція, тобто добір бажаних генотипів з новими спадковими ознаками на рівні культивованих *in vitro* клітин в умовах штучного моделювання стресового чинника [11]. Переваги добору *in vitro* над традиційними методами полягають перш за все у економії місця та можливості працювати з великими вибірками генотипів; більшій швидкості скринінгу селекційного матеріалу; менших об'ємах матеріальних витрат; можливості контролювати умови зовнішнього середовища.

Останнім часом значно зріс інтерес до апікальних меристем пагонів як найбільш перспективного експланта для злакових культур [12]. Перевагою даного типу експланта є можливість подолання генотипових особливостей форм, що характеризуються низьким регенераційним потенціалом, а також можливість отримання значної кількості вихідного матеріалу за короткий час [13]. Біотехнологи багатьох країн світу успішно працюють з апексами пагонів проростків кукурудзи, вівса, сорго, проса, пшениці, тритикале та ячменю для розробки ефективних і менш залежних від генотипу систем регенерації зернових [14]. Культуру апікальних меристем широко використовують як джерело калюсної тканини для клітинної селекції та генетичної трансформації рослин, оскільки меристемні сегменти пагонів містять пул клітин, що активно діляться та характеризуються високою частотою індукції калюсу – до 90 % [15].

Метою нашої роботи було провести скринінг *in vitro* генотипів тритикале озимого на стійкість до водного дефіциту в культурі апікальних меристем пагонів з використанням маніту як стрес-чинника.

Матеріали і методи

Матеріалом досліджень були сорти тритикале озимого Обрій, Миролан, АДМ 11, лінії 38/1296, 1324 та гібрид F₂ 809, які були взяті з робочої колекції Миронівсько-

го інституту пшениці ім. В.М. Ремесла НААН України. Для отримання донорних рослин насіння спочатку стерилізували 1 %-вим розчином KMnO₄ протягом 3 хв. Потім впродовж 1 хв. його витримували у 1 %-вому розчині AgNO₃ і поміщали у 96 %-вий етанол на 1 хв. Кінцевим етапом стерилізації було 3-разове промивання стерильною дистильованою водою. Отримане простерилізоване насіння прощували на світлі при 24 °C на безгормональному середовищі МС [16]. Як експланти використовували апікальну меристему пагона 3-добових стерильних проростків. Розмір експлантів варіював у межах 1,5–2,0 мм. Для кожного генотипу було взято по 160 експлантів (4 чашки Петрі по 40 експлантів).

Культуру калюсної тканини отримували на середовищі МС, яке додатково містило L-аспарагін – 150 мг/л, AgNO₃ – 10 мг/л та 2 мг/л 2,4-Д. Експланти культивували при 26 °C в темряві впродовж трьох тижнів. Потім їх переносили на світло і далі вирощували при освітленні 3–4 клк, відносній вологості повітря 70 % і 16-годинному фотоперіоді ще протягом двох тижнів. Наприкінці пасажу визначали частоту індукції калюсу (у відсотках) як співвідношення числа експлантів, які утворили калюс, до їхнього загального числа. Отримані калюси пересаджували у чашки Петрі на селективне середовище і культивували протягом 4 тижнів (1 пасажу), визначаючи при цьому їхню виживаність та приріст сирової маси. Як селективний агент застосовували низькомолекулярний маніт, який додавали до модифікованого середовища МС у концентраціях 0,2, 0,4, 0,6 та 0,8 М. Контролем слугувало середовище без маніту.

Для індукції морфогенезу калюси переносили на регенераційне середовище МС, доповнене 1 мг/л БАП та 0,5 мг/л ІОК. Отримані пагони по мірі розвитку переносили на безгормональне середовище МС

без селективного фактора з половинним вмістом макросолей для укорінення. Укорінені регенеранти пересаджували в стерильний пісок і поміщали у вологу камеру на 7–14 діб. Добре укорінені рослини переносили у ґрунт.

Частоту морфогенезу та регенерації пагонів (у відсотках) по кожному варіанту визначали як співвідношення числа морфогенних калюсів або регенерантів до початкової кількості висаджених експлантів. Експериментально отримані дані обробляли за допомогою методів статистичного аналізу [17].

Результати та обговорення

Попередні експерименти з культивованими клітинами показали, що не тільки склад живильних середовищ, умови культивування, тип тканин експланта, умови підготовки рослинного матеріалу до введення його в культуру, але й генотипові особливості впливають на процеси морфогенезу [14]. Нами встановлено, що досліджувані генотипи характеризуються різною здатністю до утворення калюсу, яка варіює від 68,6 % у сорту АДМ 11 до 95,4 % у лінії 38/1296 (рис. 1). Початок калюсогенезу у деяких досліджених форм спостерігали вже на третю – четверту добу культивування. Утворювався прозорий світлий калюс аморфної консистенції. Після перенесення на світло через 10–16 діб культивування

було виявлено два типи калюсу, які розрізняли за морфофізіологічними властивостями: морфогенний калюс – щільний, жовтуватий, глобулярний, який виявився здатним на середовищі для регенерації утворювати пагони та корені (рис. 2, а), і неморфогенний калюс – пухкий, водянистий, прозорий (рис. 2, б).

Варто зазначити, що порівняно з непроникаючим поліетиленгліколем маніт проникає у рослинну клітину та знижує нормальний водний потенціал, чим спричиняє зневоднення та гальмування багатьох фізіологічних та метаболічних процесів [18]. Єгипетські дослідники [19] встановили чітку позитивну кореляцію між виживаністю калюсів на селективних середовищах з різними концентраціями маніту і життєздатністю цих генотипів у польових умовах. Нами проведено скринінг *in vitro* генотипів тритикале озимого на стійкість до водного дефіциту в культурі апікальних меристем пагонів з використанням низькомолекулярного маніту як стрес-чинника. Виживаність калюсів визначали на селективних середовищах з осмотиком концентрацією 0,2–0,8 М на модифікованому середовищі МС 3 (табл. 1).

На варіантах з манітом концентрацією 0,2–0,8 М найбільшу частку живих калюсів мала лінія 38/1296. Більшість її калюсів продовжували свій ріст і виявляли ознаки

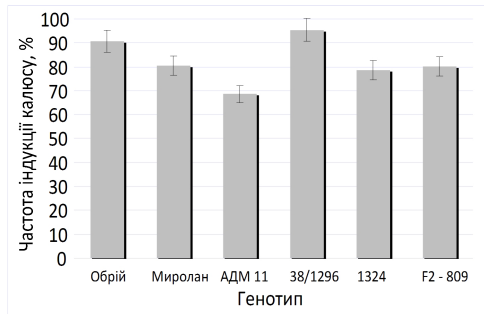


Рис. 1. Частота індукції калюсу у різних генотипів тритикале озимого

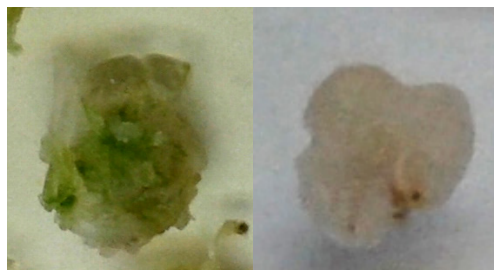
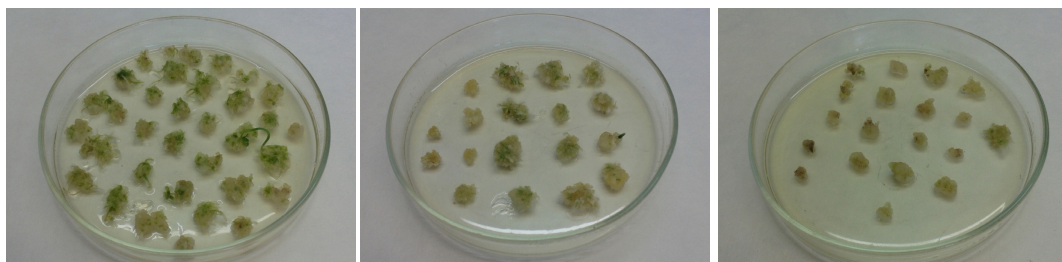


Рис. 2. Типи індуктованих калюсів тритикале: а – морфогенний; б – неморфогенний

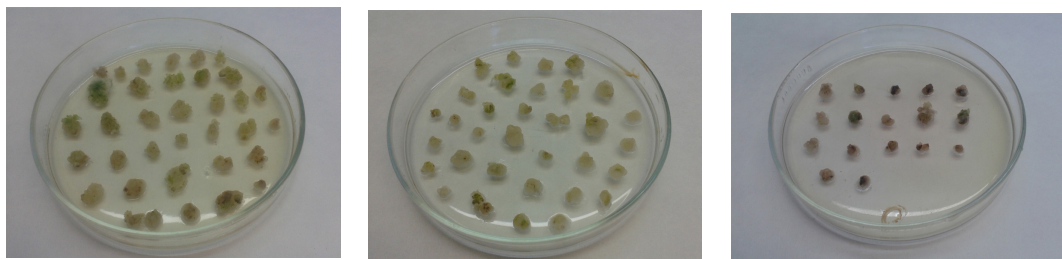


а

б

в

Рис. 3. Калюси лінії 38/1296: а – контроль; б – селективне середовище з 0,6 М маніту; в – селективне середовище з 0,8 М маніту



а

б

в

Рис. 4. Калюси сорту АДМ 11: а) контроль; б) селективне середовище з 0,4 М маніту; в) селективне середовище з 0,6 М маніту

Таблиця 1. Вживаність калюсів тритикале на селективному середовищі з манітом, %

Генотип	Варіант дослідю				
	Контроль	0,2 М	0,4 М	0,6 М	0,8 М
Обрій	90,7±2,3	80,5±3,1	56,2±3,9	38,1±3,8	–
Миролан	80,4±3,1	77,8±3,3	53,7±3,8	34,4±3,7	–
АДМ 11	68,6±3,6	58,1±3,9	46,6±3,9	23,5±3,4	–
38/1296	95,4±1,7	86,3±2,7	73,0±3,5	52,6±4,0	12,4±2,6
1324	78,6±3,2	69,7±3,6	49,6±4,0	26,4±3,5	–
F ₂ 809	80,3±3,1	72,3±3,5	53,5±3,9	30,7±3,6	–

морфогенезу навіть за концентрації 0,8 М (рис. 3).

Для решти генотипів дана концентрація виявилась летальною, оскільки їхні калюси при культивуванні на даному варіанті загинули. За критерієм толерантності до осмотичного стресу найгірше себе зарекомендував сорт АДМ 11, так як у нього вживаність калюсів на всіх варіантах була найменшою. Велика їхня частка спочатку потемніла, а потім підлягала некрозу (рис. 4).

Сорти Обрій та Миролан також мали порівняно високий процент вживаності за селективних умов. Більш чітку диференціацію всіх генотипів за стрес-толерантністю визначала концентрація 0,6 М. Також встановлено, що для кожної з концентрацій маніту порядок ранжування генотипів за часткою живих калюсів був таким: 38/1296 > Обрій > Миролан > F₂ 809 > 1324 > АДМ 11. Згідно з отриманими даними можна зробити попередній висновок, що лінія 38/1296 виявилась найменш чутливою до

дії осмотичного стресу, так як саме цей генотип мав найбільшу частку живих калюсів.

Ми також дослідили вплив маніту концентрацією 0,2–0,8 М на приріст сирої маси калюсів тритикале озимого (табл. 2). Інгібування росту калюсної культури виявлено вже при концентрації маніту 0,2 М у всіх генотипів, а при збільшенні концентрації з 0,2 до 0,8 М приріст маси калюсів поступово зменшувався. Як бачимо з даних табл. 2, концентрація 0,2 М незначно вплинула на приріст біомаси калюсів лінії 38/1296 (втрата лише 8,3%), чого не можна сказати про сорт АДМ 11, у якого втрата сирої маси калюсів на даному варіанті становила 34,3%, тобто третину. Решта генотипів займали проміжне положення за приростом біомаси в даному діапазоні концентрацій. На варіантах з 0,4 М маніту сира маса калюсів у лінії 38/1296 зменшилася майже у 1,5 раза, у сортів Обрій та Миролан і гібриду F₂ 809 – у 2 рази, у лінії 1324 – у 2,5 раза, а в сорту АДМ 11 – аж у 3 рази. При збільшенні концентрації осмотика до 0,6 М пригнічення росту було виражене ще сильніше і на частинах калюсів з'явилися зони некрозу. На середовищах з 0,8 М маніту ріст калюсу був присутній лише у лінії 38/1296, в решти ж генотипів спостерігалася масова загибель клітин, особливо це стосується сорту АДМ 11, де приріст взагалі був відсутній.

Найбільший приріст біомаси на всіх варіантах середовищ мала лінія 38/1296, що підтверджує достовірність раніше встановленого нами припущення про її меншу чутливість до впливу осмотичної речовини. Найбільшу втрату сирої маси спостерігали у сорту АДМ 11, оскільки переважна більшість калюсів даного генотипу вже при 0,4 М маніту гинули.

Варто зазначити, що за високих концентрацій осмотика проявлялася виражена гетерогенність калюсу: частина клітин ще зберігала здатність до проліферації, в той час як інша вже загинула. Однією із

можливих причин такої гетерогенності калюсу може бути різний рівень плодючості клітин.

Загалом, зі збільшенням концентрації маніту з 0,2 до 0,8 М у всіх генотипів спостерігали пригнічення росту калюсної культури, що свідчить про токсичний вплив стресового фактора.

Утворення морфогенного калюсу в усіх досліджуваних генотипів, поряд з контролем, найкраще відбувалося на селективному середовищі з 0,2 та 0,4 М маніту (табл. 3). На варіантах з 0,6 та 0,8 М маніту у морфогенних калюсів більшості генотипів спостерігали лише процеси ризогенезу або утворювалися пагони, які поступово припиняли свій ріст, або не утворювалося повноцінне коріння. Варто зазначити, що лише лінія 38/1296 мала морфогенний калюс на середовищі з манітом концентрацією 0,8 М, тоді як калюси решти генотипів, окрім сорту АДМ 11, зберігали ознаки морфогенності лише при 0,2–0,6 М маніту. У сорту ж АДМ 11 утворення морфогенного калюсу за селективних умов спостерігали тільки на варіанті з 0,2 М маніту.

Протягом культивування усі морфогенні калюси по мірі розвитку пересаджували на модифіковане середовище для регенерації, відсаджуючи пагони, що утворилися, на середовище без фітогормонів. На калюсах спостерігали утворення щільних зелених або світло-жовтих глобулярних ділянок. При подальшому культивуванні на зелених ділянках відмічався інтенсивний ризогенез, в той час як на глобулярних ділянках утворювались пагони. Формування соматичних зародків спостерігали на 8–12 добу культивування на регенераційному середовищі. Максимальну частоту їх утворення спостерігали на 20–25 добу культивування. Важливо підкреслити, що соматичний ембріогенез біотехнологічно оптимальніший, оскільки в даному випадку рослина формується із зародка, що має зачатки всіх органів.

Таблиця 2. Приріст сирієї маси калюсів тритикале на середовищах з різною концентрацією маніту

Генотип	Сира маса калюсу										
	мг					% (відносно контролю)					
	Контроль	0,2 М	0,4 М	0,6 М	0,8 М	Контроль	0,2 М	0,4 М	0,6 М	0,8 М	
Обрій	292,8±9,1	258,0±6,4	171,9±9,2	75,5±4,7	34,8±3,1	100	88,1±2,2	58,7±3,1	25,8±1,6	11,9±1,1	
Миролан	288,5±6,7	246,4±9,1	160,1±9,4	67,8±5,1	30,6±2,1	100	85,4±3,2	55,5±3,3	23,5±1,8	10,6±0,7	
АДМ 11	279,2±7,8	183,3±8,1	96,9±6,1	43,6±4,1	–	100	65,7±2,9	34,7±2,2	15,6±1,5	–	
38/1296	297,4±7,4	272,7±9,1	218,5±8,1	99,3±4,1	45,8±3,1	100	91,7±3,1	73,4±2,7	33,4±1,4	15,4±1,0	
1324	286,0±7,1	210,8±7,5	120,7±7,4	56,6±5,1	24,9±2,1	100	73,7±2,6	42,2±2,6	19,8±1,8	8,7±0,7	
F ₂ 809	291,5±6,3	227,1±8,1	138,8±9,0	61,8±4,1	27,6±0,7	100	77,9±2,8	47,6±3,0	21,2±1,4	9,5±3,1	

Таблиця 3. Частота утворення морфогенного калюсу та регенерації пагонів за різних концентрацій маніту

Генотип	Частота утворення морфогенного калюсу, %					Частота регенерації, %				
	Контроль	0,2 М	0,4 М	0,6 М	0,8 М	Контроль	0,2 М	0,4 М	0,6 М	0,8 М
	Обрій	46,5±3,9	36,3±3,8	22,5±3,3	8,7±2,2	–	13,9±2,7	9,3±2,3	5,8±1,8	4,8±1,7
Миролан	49,7±4,0	33,8±3,7	20,4±3,2	6,4±1,9	–	12,7±2,6	8,8±2,2	6,4±1,9	5,2±1,8	–
АДМ 11	26,7±3,5	7,8±2,1	–	–	–	8,6±2,2	–	–	–	–
38/1296	58,4±3,9	47,9±3,9	32,6±3,7	12,2±2,6	8,9±2,3	36,4±3,8	22,9±3,3	18,7±3,1	12,3±2,6	5,1±1,7
1324	35,4±3,8	22,1±3,3	15,5±2,9	4,7±1,7	–	11,7±2,5	6,7±2,0	4,1±1,6	–	–
F ₂ 809	39,2±3,9	20,7±3,2	16,3±2,9	3,8±1,5	–	11,2±2,5	7,3±2,1	4,5±1,6	–	–

Внаслідок культивування калюсів на селективному середовищі за присутності маніту концентрацією 0,8 М регенерацію спостерігали лише у лінії 38/1296, що свідчить про наявність у неї ознаки толерантності до негативної дії осмотика. Регенерацію зелених пагонів після культивування на середовищі з манітом концентрацією 0,2 та 0,4 М поряд з контролем спостерігали у всіх генотипів, крім сорту АДМ 11. На варіантах з 0,6 М маніту процес утворення рослин-регенерантів відбувався, поряд з лінією 38/1296, у сортів Обрій та Миrolан. Сорт АДМ 11 виявився найчутливішим до дії стрес-чинника, оскільки його калюси проявляли регенераційну здатність лише в умовах контролю.

Розвиток отриманих рослин-регенерантів після культивування на селективному середовищі йшов подібно з розвитком донорних рослин тритикале в умовах *in vivo* (рис. 5).

Під час регенерації пагонів відзначалися типові фенофази сходів, третього листа, куціння, тривалість яких практично збігалася з аналогічними показниками донорної рослини. Рослини-регенеранти у фенофазі куціння переносили в умови *ex vitro* у горщики зі стерильним піском для укорінення.

У результаті проведених досліджень нами виділено генотипи, які характеризувались здатністю до росту на селективному середовищі з осмотично активною речовиною та зберігали ознаку стійкості протягом циклу культивування. Калюси різних генотипів тритикале, відібрані методом прямого добору, не тільки проявляли ознаки життєздатності у селективних умовах, а й зберігали приріст біомаси та морфогенетичний потенціал.

Варто також зазначити, що на контрольному середовищі калюсогенез та регенерація пагонів між генотипами також відрізнялись. Це свідчить про те, що не тільки негативна дія стресового чинника

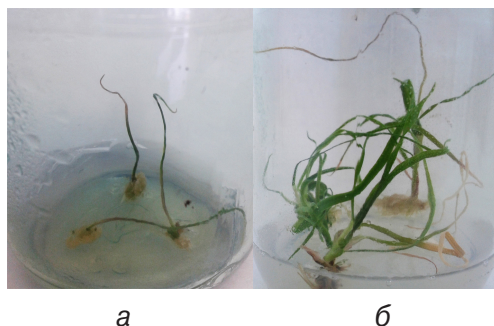


Рис. 5. Регенерація зелених пагонів тритикале лінії 38/1296 після культивування на селективному середовищі з манітом концентрацією 0,8 М: а – початок регенерації; б – сформовані рослини-регенеранти, готові до пересадки у горщики зі стерильним піском

впливає на ці процеси, а й великою мірою генотипові особливості [20]. Значні розходження між генотипами за частотою індукції калюсу та регенерації пагонів підтверджують існування різних генетичних систем регуляції цих процесів [21]. За допомогою діалельного аналізу дослідники довели справедливості такого припущення для культури тканин незрілих зародків ячменю. У низці робіт показано вплив генотипу на регенераційну здатність культивованих тканин пшениці [22]. Таким чином, для підвищення морфогенетичного потенціалу калюсної тканини необхідно підбирати індивідуальні умови культивування для кожного досліджуваного зразка, враховуючи при цьому його генотипові особливості.

Висновки

Методом прямого добору проведено скринінг генотипів тритикале на стійкість до водного дефіциту. Різна генотипова реакція на осмотичний стрес у культурі апікальних меристем пагонів тритикале озимого проявлялась у різній реакції калюсів на дію селективного чинника. Більш чітку диференціацію спостерігали за концентрації 0,6 М маніту. Встановлено, що найбільшою стійкістю до водного дефіциту ха-

рактизувалась лінія 38/1296, оскільки каюси цього генотипу за селективних умов виділялись підвищеним морфогенним потенціалом, мали найбільший приріст біомаси і лише з експлантів цієї лінії після культивування на середовищі з манітою концентрацією 0,8 М було отримано рослини-регенеранти. Для решти генотипів концентрація маніту 0,8 М виявилась летальною. Лінія 38/1296 може бути цінним матеріалом для подальшої селекції тритикале озимого.

Перелік літератури

1. Пома Н.Г., Сергеев А.В., Федорова Т.Н., Зимина Т.К., Поленова И.Н. Итоги и перспективы селекции озимого тритикале // Вестник Российской академии с.-х. наук. – 1994. – Вып. 2. – С. 26–28.
2. Білітюк А.П., Гірко В.С., Каленська С.М., Андрушків М.І. Тритикале в Україні. – К: Арістей, 2004. – 388 с.
3. Волощук С.І., Заліський О.О., Філонченко П.О., Волощук Г.Д. Удосконалення методів масового отримання рекомбінантних дигаплоїдних ліній тритикале // НБТ МІП ім. В.М. Ремесла. – 2012. – Вип. 11. – С. 320–334.
4. Сечняк Л.К., Суліма Ю.Г. Тритикале. Всесоюз. акад. с.-х. наук ім. Лєніна. – М.: Колос, 1984. – 317 с.
5. Шленкер Р., Шекке Э. Успехи в селекции тритикале – результат международного сотрудничества // Международный агропромышленный журнал. – 1991. – Вып. 1. – С. 43–45.
6. Шевченко В.Е., Гончаров С.В. Состояние и перспективы селекционной работы по тритикале в России // Биологические основы и методы селекции и семеноводства культурных растений. – Воронеж: Сб. научн. тр. ВГАУ. – 1997. – С. 30–38.
7. Тимофеев В.Б. Селекция озимых гексаплоидных тритикале в Краснодарском крае // Тритикале России. – Ростов-на-Дону. – 2000. – С. 15–19.
8. Almansouri M., Kinet J.M., Lutts S. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Des.) // Plant and Soil. – 2001. – Vol. 231, № 2. – P. 243–254.
9. Джос Л., Калашникова Е. Клеточная селекция пшеницы на устойчивость к септориозу // Сельскохозяйственная биотехнология. – Избранные работы / Под ред. Шевелухи В.С. – М.: Евразия, 2000. – С. 61–71.
10. Lu W., Zhou M., Zhang X. Studies and improvement of wheat breeding for scab resistance using biotechnology // Wheat improvement for Scab resistance: Proc. Intern. Symp. 5 – 11 May 2000. – Sunghou and Nanjing, China, 2000. – P. 151–156.
11. Дубровна О.В., Моргун Б.В. Клітинна селекція пшениці на стійкість до стресових чинників довкілля // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – 41, № 6. – С. 463–475.
12. Ahmad A., Zhong H., Wang W., Sticklen M. Shoot apical meristem: *In vitro* regeneration and morphogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *In vitro* cellular and development biology. – 2002. – Vol. 38, № 2. – P. 163–168.
13. Patnaik D., Khurana P. Wheat Biotechnology: a minireview plant biotechnology // Electronic J. Biotech. – 2001. – Vol. 4. – P. 74–102.
14. Sharma V., Hänsch R., Mendel R., Schulze J. A highly efficient plant regeneration system through multiple shoot differentiation from commercial cultivars of barley (*Hordeum vulgare* L.) using meristematic shoot segments excised from germinated mature embryos // Plant Cell Rep. – 2004. – Vol. 23. – P. 9–16.
15. Sharma V.K.R., Hänsch R., Mendel R., Schulze J. Node-derived cultures with high-morphogenic competence in barley and wheat // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2007. – Vol. 88, № 1. – P. 21–33.
16. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures // Phisiol. Plant. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–479.
17. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
18. Генерозова И.П., Маевская С.Н., Шугаев А.Г. Ингибирование метаболической активности митохондрий этиолированных проростков гороха, подвергнутых водному стрессу // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 1. – С. 45–52.
19. Ahmed A. Response of immature embryos *in vitro* regeneration of some wheat (*T. aestivum*) genotypes under different osmotic stress of mannitol // J. Agric. Sci. – 1999. – Vol. 30, № 3. – P. 25–34.
20. Бавол А.В., Дубровна О.В., Лялько І.І. Селекція *in vitro* м'якої пшениці на стійкість до *Gaeumannomyces graminis var. tritici* // Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – 41, № 4. – С. 314–320.
21. Komatsuda T., Enomoto S., Nekajima K. Genetics of callus proliferation and shoot differentiation in barley // J. Hered. – 1989. – Vol. 80. – P. 345–350.
22. Henry Y., Marcotte J., De Buyser J. Chromosomal location of genes controlling short-term and long-

term somatic embryogenesis in wheat revealed by immature embryo culture of aneuploid lines // Theor. Appl. Genet. – 1994. – Vol. 89. – P. 344–350.

Представлено В.А. Кунахом
Надійшла 10.06.2014

**СКРИНИНГ ГЕНОТИПОВ ТРИТИКАЛЕ
ОЗИМОГО НА УСТОЙЧИВОСТЬ
К ВОДНОМУ ДЕФИЦИТУ В КУЛЬТУРЕ
АПИКАЛЬНЫХ МЕРИСТЕМ ПОБЕГОВ**

С.В. Пыкало¹, М.А. Зинченко², С.И. Волощук¹,
О.В. Дубровная²

¹ Мироновский институт пшеницы имени В.Н. Ремесло НААН Украины

Украина, 08853, Киевская обл., Мироновский р-н, с. Центральное

² Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

Украина, 03022, г. Киев, ул. Васильковская, 31/17
e-mail: pykserg@ukr.net

Цель. Провести скрининг *in vitro* различных генотипов тритикале озимого на устойчивость к водному дефициту в культуре апикальных меристем побегов. **Методы.** Методом прямого отбора проведено скрининг генотипов тритикале на устойчивость к водному дефициту с использованием низкомолекулярного маннита концентрацией 0,2–0,8 М. **Результаты.** Установлено, что концентрация маннита 0,6 М позволяет дифференцировать генотипы тритикале по устойчивости к водному дефициту. Каллусы линии 38/1296 характеризуются сравнительно высоким морфогенным потенциалом и приростом биомассы в присутствии маннита концентрацией 0,8 М, которая для остальных генотипов оказалась летальной. **Выводы.** Линия 38/1296 может быть использована как ценный материал для дальнейшей селекции тритикале озимого. Культуру апикальных меристем побегов можно использовать как тест-систему для проведения скрининга генотипов тритикале на устойчивость к водному дефициту.

Ключевые слова: *Triticale*, апикальные меристемы, осмотический стресс, устойчивость.

SCREENING OF WINTER TRITICALE GENOTYPES FOR RESISTANCE TO WATER DEFICIT IN *IN VITRO* CULTURE OF SHOOT APICAL MERISTEMS

S.V. Pykalo¹, M.A. Zinchenko², S.I. Voloshchuk¹, O.V. Dubrovna²

¹ The V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat, NAAS of Ukraine
Ukraine, 08853, Kyiv region, Myronivka district, Tsentralne vil.

² Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine

Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 31/17
e-mail: pykserg@ukr.net

Aim. To conduct *in vitro* screening of different genotypes of winter triticale for resistance to water deficit in culture of shoot apical meristems.

Methods. By direct recruitment selection the screening of triticale genotypes for resistance to water deficit was conducted using low molecular mannitol concentration 0.2–0.8 M.

Results. Concentration of manitol 0.6 M was found to allow differentiating triticale genotypes by the resistance to water deficit. Calluses of 38/1296 line are characterized by relatively high morphogenic potential and biomass increment in the presence of 0.8 M mannitol concentration, which for other genotypes proved fatal.

Conclusions. 38/1296 line can be used as a valuable material for further breeding of winter triticale. Culture of shoot apical meristems can be used as a test-system for triticale genotypes screening for resistance to water deficit.

Keywords: *Triticale*, apical meristems, osmotic stress, resistance.