

## ВИКОРИСТАННЯ КУЛЬТУРИ *IN VITRO* В АДАПТИВНІЙ СЕЛЕКЦІЇ РОСЛИН (огляд літератури)

**І.О. Любченко**, аспірантка

**Л.О. Рябовол**, доктор сільськогосподарських наук

**А.І. Любченко**, кандидат сільськогосподарських наук

**Уманський національний університет садівництва**

*На основі проаналізованих джерел наукової літератури висвітлено аспекти застосування біотехнологічних методів створення форм рослин резистентних до дії негативних чинників навколишнього середовища. Розглянуто особливості використання стресового фону в культурі *in vitro* при проведенні клітинної селекції. Обґрунтовано доцільність проведення наукових досліджень з індукування *in vitro* вихідного матеріалу рижію ярого, стійкого до несприятливих абіотичних чинників.*

**Ключові слова:** *сомаклональна мінливість, селективний чинник, засолення, осмотичний стрес, іони важких металів, захисні амінокислоти.*

Несприятливі чинники навколишнього середовища здійснюють значний вплив на рослини. Їхня дія проявляється в зміні хімічного складу клітин і їх мембран, порушенні цитокінезу, припиненні синтезу нуклеїнових кислот, зниженні активності ферментів [1]. Вони спричиняють фізіологічні та біохімічні зміни, внаслідок чого відбувається зниження продуктивності або навіть загибель організму.

Під впливом стресу в організмі відбувається загальний адаптаційний синдром – зміни фізіологічних і біохімічних процесів, що направлені на подолання дії стресових чинників.

Загальний адаптаційний синдром відбувається у три стадії. На першій (стадія тривоги) – спостерігається активація захисних сил організму. Якщо дія стресового чинника не є летальною – відбувається перехід до другої стадії – резистентності, яка характеризується посиленням адаптаційних програм за всіма можливими напрямками. За продовження стресового тиску після вичерпання захисного потенціалу організму наступає третя стадія – виснаження, яка за своїм проявом є протилежною до стадії адаптації [2].

Адаптація відбувається на молекулярному, органельному, клітинному, органному, організменному та популяційному рівнях. Якщо взяти до уваги те, що рослинні організми весь час пристосовуються до умов навколишнього середовища, то можна стверджувати, що адаптивні зміни відбуваються впродовж всього еволюційного процесу [3].

Під адаптивною пластичністю вищих рослин розуміють їхню здатність до виживання, розмноження і саморозвитку в стресових умовах навколишнього середовища за рахунок взаємопов'язаного функціонування генетичних програм адаптації онтогенетичної і філогенетичної систем. Критерієм оцінки адаптивної пластичності рослин є їхня стійкість до несприятливих чинників навколишнього середовища [4, 5].

Використання нових високоврожайних, адаптованих до умов

вирощування сортів і гібридів є одним із найефективніших, дешевих і екологічно чистих способів підвищення врожайності сільськогосподарських культур у стресових умовах [6].

Останнім часом у селекційній практиці все частіше використовують біотехнологічні методи. Застосування культури *in vitro* дозволяє моделювати силу тиску стресового агента на організм, тотально дослідити його вплив на біооб'єкт, контролювати фізичні та хімічні показники вирощування рослинного матеріалу, проводити роботу незалежно від погодних умов та пори року. Цього важко досягти при роботі з інтактними рослинами. Проте, при застосуванні клітинної селекції виникають певні труднощі, основні з яких – складність отримання рослин-регенерантів унаслідок втрати тканиною здатності до морфогенезу, а також низька життєздатність і висока стерильність регенерантів  $R_0$ . Окрім цього, не завжди стійкість до стресового чинника на клітинному рівні зберігається під час переходу на організменний рівень рослини в цілому [1, 7].

У біотехнологічних дослідженнях з рослинами основним типом матеріалу є калюсна тканина та створені на її основі культури (суспензійна, ізольованих протопластів, поодиноких клітин тощо). Перенесення клітин у культуру *in vitro* призводить до істотних змін у системі регуляції клітинної активності, зокрема, виходу клітини з-під контролю корелятивних факторів, що спрямовують і регулюють діяльність різних органів, тканин і клітин як єдиного цілого об'єкту. У популяції калюсних тканин кожна клітина розглядається як індивідуальний організм з власними спадковими характеристиками [7].

У процесі дедиференціації клітин виникає соматональна мінливість, яка є джерелом генетичного різноманіття калюсних тканин та отриманих з них рослин-регенерантів. Природа виникнення соматональної мінливості пояснюється двома основними причинами: генетична гетерогенність соматичних клітин експланта вихідної рослини та генетична і епігенетична мінливість, що індукується умовами культивування [8].

За нинішніми уявленнями виділяють наступні молекулярно-генетичні механізми індукування соматональної мінливості – зміна кількості та морфології хромосом, точкові мутації, транспозиції генетичних елементів, ампліфікація генів, зміна експресії в мультигенних локусах та перегрупування цитоплазматичних геномів, соматичний кросинговер тощо [7, 9, 10].

Внаслідок мінливості *in vitro* в рослинах виникають морфологічні, фізіологічні та біохімічні зміни, що можуть мати як позитивні, так і негативні наслідки. У багатьох сільськогосподарських культур виділено соматональні варіації, що характеризуються високою продуктивністю, якістю продукції та стійкістю до несприятливих екологічних чинників [7].

Головним обмежуючим фактором урожайності сільськогосподарських культур в Україні є дефіцит опадів [11]. Посуха негативно впливає на оптимальне проходження фотосинтезу, транспорту асимілянтів рослиною та гормональний баланс. Спостерігається пошкодження мембран клітини внаслідок зміни ліпідного комплексу, денатурації і агрегації білків, посилюється інтенсивність дихання, при зниженні його енергетичної

ефективності, збільшується концентрація фітогормонів інгібуючого характеру, пригнічується поділ і ріст клітин [12, 13].

З метою імітації стресового ефекту посухи в умовах *in vitro* найчастіше використовують живильні середовища модифіковані осмотичноактивними речовинами, що знижують зовнішній водний потенціал.

М.В. Небиков [14] для добору посухостійких форм буряка цукрового на основі клітинної селекції, як селективний агент використовував поліетиленгліколь 600. У результаті досліджень було встановлено, що при збільшенні концентрації стресового чинника зменшувалась кількість життєздатних експлантів, а максимальна концентрація ПЕГ, при якій можливо проводити добір, становила 10 %.

В.С. Гірко [15] індукував осмотичний стрес калюсних культур пшениці за допомогою манітолу, ступінчато підвищуючи його концентрацію з кожним пасажем від 25 до 150 г/л. Підвищення вмісту селективного фактору суттєво пригнічувало приріст калюсної маси та її регенераційну здатність. При цьому рівень концентрації манітолу нормою 60 г/л є оптимальним для диференціації генотипів пшениці за стійкістю до осмотичного стресу, а також відмічено ефективність ступінчатої селекції за клітинними механізмами адаптації до посухи.

Обробка калюсної тканини картоплі 25 мМ ПЕГ та 0,2 М манітолом є оптимальною для проведення добору *in vitro* на посухостійкість. Підвищення концентрації стресових чинників значно знижують відсоток виживання мікрокалюсів та їх морфогенний потенціал. Також науковці відмічають сортові особливості стійкості до осмотичного стресу [16].

Значної шкоди аграрному виробництву завдає засолення ґрунту. В Україні ці ґрунти займають площу 1,92 млн га, з них 1,71 млн га – у сільськогосподарському використанні [17].

Високі концентрації солей викликають у рослин токсичний (іонний) стрес – відбувається надходження у рослину великої кількості іонів  $\text{Na}^+$  або  $\text{Cl}^-$ . При цьому, осмотичний стрес – є результатом збільшення зовнішнього осмотичного потенціалу клітин, а метаболітичний стрес – пов'язаний із заміщенням іонів  $\text{K}^+$  ( $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Mg}^{2+}$ ) на іони  $\text{Na}^+$  або  $\text{Cl}^-$  [18].

При дії солей на клітину спостерігається: відходження протоплазми від клітинних стінок, порушення міжклітинних зв'язків [19]; зміна процесів азотного обміну, при цьому уповільнюється синтез амінокислот і посилюється гідроліз запасних білків, що призводить до формування токсичних діамінів, які викликають у рослин некрози [20]; посилення інтенсивності дихання, при зниженні його енергетичної ефективності [21]; збільшення концентрації фітогормонів інгібуючого характеру, пригнічення поділу і росту клітин [22].

При селекції рослин на солестійкість, як селективний фактор використовують солі  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і морську воду [1]. Нині існує низка праць з отримання солестійких ліній культурних рослин методами клітинної селекції. Найбільше досліджень проведено з добору хлорстійких ліній сільськогосподарських культур: пшениці ярої, сорго, вівса, рису, буряка цукрового, бавовнику, рицини, ріпаку, тростини цукрової, томатів, моркви, тютюну тощо [23–34].

Деякі менших успіхів досягнуто в селекції на стійкість до сульфатного засолення, що пов'язано з високою фітотоксичністю сульфат-аніона і, можливо, з істотним поглинанням катіона  $\text{Na}^+$  [35].

Проводять і паралельну селекцію до декількох типів засолення. Так, для цикорію коренеплідного сульфатне засолення виявилось токсичнішим, аніж хлоридне [36]. Межею для добору *in vitro* була 1,5 %-ва концентрація солі в живильному середовищі. При цьому відносний приріст мікрокальцій в порівнянні з контролем становив 8–14 %.

Одними із найшкодочинних забруднювачів довкілля є іони важких металів. Надходження важких металів та їх вплив на біооб'єкти обумовлено взаємодією природних (фоновий вміст елементів у ґрунті) та антропогенних факторів. Основними джерелами забруднення навколишнього середовища важкими металами є металургійна та хімічна промисловість, автомобільний транспорт і сільськогосподарське виробництво [37].

Окрім значного пригнічення життєздатності та продуктивності рослин, іони важких металів мають здатність акумулюватись у рослинній біомасі, погіршуючи її якісні показники. Найбільше металів накопичується в корені та стеблах, найменше – в насінні [38].

Дослідження з вивчення впливу важких металів на рослинні організми займають меншу частину відносно загальної кількості робіт у цьому напрямку. Проліферуючі клітини є найчутливішими до дії важких металів. Вони навіть у незначних кількостях викликають сильний стрес в умовах *in vitro*. Так, при дії іонів  $\text{Cd}^{2+}$  в концентрації 12,5 мкМ на суспензійну культуру *Datura innoxia* виживає одна клітина з  $10^5$  [39]. Калюсна тканина цикорію коренеплідного при концентрації хлориду барію понад 1,0 мМ втрачає здатність до поділу та регенерації [40]. Оптимальний вміст кадмію в живильному середовищі для проведення клітинної селекції льону довгунця становить 15 мг/л [41].

Довгострокове культивування біоматеріалу на стресових середовищах у багатьох випадках спричиняє підвищення стійкості до дії іонів важких металів. Так, у клітинній лінії сої, після п'яти років культивування в присутності іонів  $\text{Zn}^{2+}$ , резистентність до селективного чинника збільшилась у 15 разів [1].

Існують дані про отримання клітинних ліній гвоздики стійких до нікелю [42], тютюну – до цезію [43] та барію [1], льону – до кадмію [41], люцерни [44], моркви [45] та сої [46] – до іонів алюмінію, рису [47] – до міді.

Фізіологічний вплив засолення, посухи, іонів важких металів де що подібний, тому у відселектованих клітинних ліній та отриманих з них рослин-регенерантів часто проявляється комплексна стійкість до несприятливих абіотичних чинників. Калюсні лінії сої, тютюну та соняшнику відібрані на середовищах, що містили іони  $\text{Ba}^{2+}$ , характеризувалися високими показниками солестійкості.  $\text{Ba}^{2+}$ -резистентні лінії сої та соняшника мали оптимальні ростові показники при 1,0 %-му, а тютюну – при 2,0 %-му рівні засолення [48].

Аналогічні дані отримано в дослідженнях з цикорієм коренеплідним. Рослини-регенеранти, одержані зі стійких до хлориду барію калюсних ліній, виявляли високу стійкість до хлоридного та сульфатного засолення [49].

Стойкі до іонів Cd клітинні лінії тютюну розвивались на живильних середовищах, що містили 0,8 М манітолу проте, для культур дикого типу цей вміст стресору був летальним [48].

Л.Є. Сергєвою [50] було висунуто гіпотезу одержання рослин з підвищеною комплексною стійкістю до низки несприятливих чинників за допомогою культури *in vitro*, при використанні в якості селективного агенту іонів важких металів.

При дії на рослинний організм стресових агентів у їх клітинах синтезуються захисні амінокислоти, зокрема пролін. Тому, як селективний чинник для добору на клітинному рівні, часто використовують аналоги проліну, серед яких найефективнішими виявились азетин-2-карбонова кислота і гідроксипролін. З використанням цих селективних речовин було відібрано соле- та посухостійкі форми картоплі, моркви, тютюну та сої. У відібраних клонах, стійких до аналогів амінокислоти, спостерігалось підвищення внутрішньоклітинного рівня проліну, проте прямої залежності між рівнем солестійкості і вмістом проліну в клітинах не відмічено [51, 52].

Схема проведення клітинної селекції *in vitro* на стійкість до несприятливих абіотичних чинників та її ефективність залежить від багатьох умов – видових і генотипових особливостей, типу біоматеріалу, рівня токсичності селективного агента. Для рижю ярого це питання є маловивченим, що і спонукало нас до проведення досліджень у цьому напрямку.

**Висновок.** Моделювання стресової системи в умовах *in vitro* дозволяє детально дослідити дію селективного чинника на біооб'єкт і відібрати резистентні генотипи, що можуть використовуватися для подальших генетично-селекційних досліджень.

Теоретично обґрунтовано доцільність вивчення питання впливу осмотичного стресу, засолення та дії важких металів при створенні стійкого до абіотичних чинників вихідного матеріалу рижю ярого.

## Література

1. Сергєва Л.Е. Изменение культуры клеток под действием стресса / Л.Е Сергєва. – К.: Логос, 2001. – 99 с.
2. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М.: Медгиз, 1960. – 254 с.
3. Косаківська І.В. Адаптація рослин: біосинтез та функції стресових білків / І.В. Косаківська, І.В. Голов'янюк // Український фітоценологічний збірник. – 2006. – Вип. 24. – С. 3–17.
4. Альтергот В.Ф. Физиологические механизмы адаптации и устойчивости у растений / В. Ф. Альтергот. – М.: Наука, 1982. – 307 с.
5. Жученко А.А. Адаптивный потенциал культурных растений / А.А. Жученко. – Кишенев: Штиинца, 1988. – 766 с.
6. Кильчевский А.В. Экологическая селекция растений / А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. – Минск: Тэхналогія, 1997. – 372 с.
7. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи / В.А. Кунах. – К.: Логос, 2005. – 730 с.
8. Константинов Ю.М. Возможный свободнорадикальный механизм

возникновения соматклональной изменчивости растений / Ю.М. Константинов, М.И. Ривкин // Молекулярные механизмы генетических процессов: Сб. докл. Всес. симпозиума. – 1991. – С. 166–185.

9. Чеченева Т.Н. Изменчивость злаков в культуре *in vitro* и в процессе регенерации растений / Т.Н. Чеченева // Физиология и биохимия культ. растений. – 2006. – Т. 38. – №2. – С. 163–175.

10. Larkin P.G. Somaklonal variation – source of variability from cell cultures for improvement / P.G. Larkin, W.R. Scorcoft // Theor. Appl. Genet. – 1981. – 60. № 4. – P. 197–214.

11. Пьянков В.И. Основные тенденции изменения растительности Земли в связи с глобальным потеплением климата / В.И. Пьянков, А.Т. Мокронос // Физиология растений. – 1993. – Т. 40. – № 4. – С. 515–531.

12. Мусієнко М.М. Молекулярні механізми індукції захисних реакцій рослин в умовах посухи / М.М. Мусієнко, І.В. Жук // Український ботанічний журнал. – 2009. – Т. 66. – № 4. – С. 580–595.

13. Жук О.І. Формування адаптивної відповіді рослин на дефіцит води / О.І. Жук // Физиология и биохимия культ. растений. – 2011. – Т. 43. – №1. – С. 26–35.

14. Небиков М.В. Добір посухостійких біотипів цукрового буряка в умовах культури *in vitro* / М.В. Небиков // Цукрові буряки. – 2003. – №4. – С. 18–19.

15. Гірко В.С. Скрінінг генотипів пшениці *in vitro* на стійкість до осмотичного стресу / В.С. Гірко, В.Д. Солодовниченко, С.І. Волощук // Зб. мат. II Міжнар. конф. «Використання сучасних молекулярно-генетичних і біотехнологічних розробок в генетично-селекційних дослідженнях». – Одеса, 1998. – С. 26–27.

16. Апушев А.К. Клеточная селекция картофеля на засухоустойчивость / А.К. Апушев, С.Є. Сулейменова, Р.К. Егизбаева // Известия национальной академии наук республики Казахстан. – 2014. – № 1. – С. 32–34.

17. Балюк С.А. Екологічний стан ґрунтів України / С.А. Балюк, В.В. Медведєв, М.М. Мірошніченко та ін. // Український географічний журнал. – 2012. – № 2. – С. 38–42.

18. Bernstein L. Salt tolerance of plants / L. Bernstein // USDA Agric. Inf. Bull. – 1965. – №. 283. – P. 28.

19. Филатова Л.А. Влияние экзогенных регуляторов роста на некоторые показатели азотного обмена в проростках пшеницы в условиях засоления / Л.А. Филатова, Е.Н. Мельникова // Рост, развитие и адаптация растений к экстремальным факторам: Сб. науч. тр. Пермского ун-та. – Пермь, 1987. – С. 110–120.

20. Исаенко С.В. Фізіологічні та молекулярні аспекти сольового стресу рослин / С.В. Исаенко // Цитология и генетика. – 2012. – Т. 46. – № 5. – С. 50–71.

21. Huang J. Root growth, respiration and ion relations of barley and wild barley under salt stress and contrasting calcium supply / J. Huang, R. Redmann // Amer. Soc. Agron. Annu. Meet. – Madison. – 1993. – P. 114.

22. Строгонов Б.П. Проблемы солеустойчивости растений / Б.П. Строгонов Л.К. Клышев. – Ташкент: ФАН, 1989. – 184 с.

23. Butenko R.G. Growth and morphogenesis in cell cultures of spring wheat under stress conditions and selection of tolerant cell lines / R.G. Butenko, L.D. Nikiforova, V.A. Chernov // Potsdam. – Forsch. – 1988. – 57. – P. 9–19.
24. Bhaskaran S. Sodium chloride tolerant callus of *Sorghum bicolor* L / S. Bhaskaran, R.H. Smith, K. Schertz // Z. Pflanzenphysiol. – 1983. – 112. – P. 459–463.
25. Nabors M.W. Green sports are predictors of high callus growth rates and shoot formation in normal and salt stressed tissue cultures of oat (*Avena sativa* L) / M.W. Nabors, C.S. Kroskey, D. McHugh // Z. Pflanzenphysiol. – 1982. – 105. – 4. – P. 341–349.
26. Kishor P.B. Salt stress in cultured rice cells: Effect of proline and abscisic acid / P.B. Kishor // Plant Cell Environ. – 1989. – 12. – 6. – P. 629–633.
27. Редько В.И. Реакция меристем сахарной свеклы на солевой стресс / В.И. Редько, В.В. Редько, Л.А. Сахно // Биотехнологические методы в селекции сахарной свеклы. – М., 1989. – С. 27–32.
28. Rodriguez G.B. Heat and drought tolerant cotton lines tolerate induced water and salinity stresses *in vitro* / G.B. Rodriguez, J.R. Barrow, G.C. Phillips // 6th Int. Congr. of plant tissue and cell culture, Abstr., 1986. – P. 62.
29. Jeschke W.D. Effect of NaCl salinity on growth development, ion distribution and ion translocation in castor bean (*Ricinus communis* L.) / W.D. Jeschke, O. Wolf // J. Plant Physiol. – 1988. – 132. – P. 45–53
30. McHughen A. Salt tolerance through increased vigor in a flax line selected for salt tolerance *in vitro* / A. McHughen // Theor. and Appl. Genet. – 1987. – 74, 6. – P. 727–732.
31. Liu M. Selection of NaCl tolerant line through stepwise salinized sugar cane cell cultures / M. Liu, H. Yeh // Plant tissue culture / Ed. A. Fujiwara, – Jap. Ass. Plant Tissue Culture, Tokyo. – 1982. – P. 477–478.
32. Rahman M.M. Differentiation of sodium chloride tolerant cell lines of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) / M.M. Rahman, K. Kaul // J. Plant Physiol. – 1989. – 133. – P. 710–712.
33. Riccardi G. Resistance to azetidine-2-carboxylic acid and sodium chloride tolerance in carrot cell cultures and *Spirulina platensis* / G. Riccardi, R. Cella, G. Camerino, O. Ciferri // Plant and Cell Physiol. – 1983. – 23. – 6. – P. 1073–1078.
34. Nabors M. Sodium chloride tolerant lines of tobacco cells / M. Nabors, A. Daniels, L. Nadolny, C. Brown // Plant Sci. Lett. – 1975. – 4. – 3. – P. 155–159.
35. Gulati A. Comparative salt responses of callus cultures of *Vigna radiata* L. *Wilczek* to various osmotic and ionic stresses / A. Gulati, P.K. Jiwali // J. Plant Physiol. – 1993. – 141. – 1. – P. 120–124.
36. Рябовол Л.О. Вплив сольового стресу на індукування клітинних ліній цикорію коренеплідного. / Л.О. Рябовол, А.І. Любченко // Збірник наук. праць УДАУ. – Умань, 2007. – Вип. 65. – С. 142–146.
37. Волощинська С.С. Біоіндексація стану забруднення довкілля важкими металами / С.С. Волощинська // Вісн. Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – Дніпропетровськ, 2008. – Вип. 16. – Т. 2. – С. 24–28.
38. Степанок В.В. Влияние сочетания соединений тяжелых металлов

на урожай сельськогосподарських культур и поступление тяжелых металлов в растения / В.В. Степанок // Агрехимия. – 2000. – № 1. – С. 78–80.

39. Jackson R.J. Selectio isolation and characterization of Cd-resistant *Datura innoxia* suspension cultures / R.J. Jackson, P.R. Roth, C.M. Naranjo // Ibit. – 1984. – 75. – № 4. – P. 914–918.

40. Рябовол Л.О. Добір стійких до іонів  $Ba^{2+}$  клітинних ліній цикорію коренеплідного та програмування їх морфогенної активності / Л.О. Рябовол, А.І. Любченко, О.В. Єщенко // Зб. наук. праць УДАУ «Основи формування продуктивності сільськогосподарських культур за інтенсивних технологій вирощування». – К., 2008. – С. 370–374.

41. Гончарук Е.А. Влияние кадмия на анатомию, морфогенез стебля и процесс регенерации льна-долгунца из клеточных и тканевых культур *in vitro*: Автореф. дис. на соискание науч. степени кандидата биол. наук / Е.А. Гончарук. – М., 2000. – 28 с.

42. Gabbrielli R. Ni-toxicity on carnation (*Dyanthus carriophyllus* L. cv. *Corrida*) cell cultures: Selection of Ni-tolerant lines and effects of Ca and Mg / R. Gabbrielli, P. Gori, A. Scala // Plant Sci. – 1995. – 104. – 2. – P. 225–230.

43. Fenik S. Selection of the CsCl-tolerance callus lines of *Nicotiana plumbaginifolia* and characterizing their growth in the presence of the buthioninesulfoximine / S. Fenik, T. Trofimyak, J. Blume // Докл. АН Украины. – 1993. – 12. – С.148–151.

44. Parrot W.A. Aluminum tolerance in alfalfa as expressed in tissue culture / W.A. Parrot, J.H. Bouton // Grop Sci. – 1990. – 30. – 2. – P. 387–389.

45. Ojima K. Release of citric acid into the medium by aluminum-tolerant carrot cells / K. Ojima, H. Abe, K. Ohira // Plant and Cell Physiol. – 1984. – 25. – 5. – P. 855–858.

46. Zakri A.H. Induction and selection of aluminium-resistant variants from soybean cultures / A.H. Zakri // Nucl. Techn. and *in vitro* Cult. Plant Improv. Proc. Int. Symp, Vienna, 1986. – P. 267–273.

47. Tobita S. Selection and partial characterization of copper-resistant line of rice (*Oryza sativa*) callus culture / S. Tobita, H. Takahashi, H. Miyake, T. Totsuka // J.Plant Physiol. – 1988. – 133. – 5. – P. 545–549.

48. Сергеева Л.Е. Солеустойчивость  $Ba^{2+}$ -резистентных клеточных линий растений / Л.Е. Сергеева, С.И. Михальская // Физиология и биохимия культ. растений. – 2006. – Т. 38. – № 6. – С. 491–497.

49. Любченко А.І. Використання біотехнологічних методів для отримання вихідного матеріалу цикорію коренеплідного резистентного до абіотичних стресових чинників/ А.І. Любченко, Л.О. Рябовол, О.В. Єщенко // Мат. міжвузівської наук. конф. «Екологія – шляхи гармонізації відносин природи та суспільства». – Умань, 2009. – С. 61.

50. Сергеева Л.Е. Новая селективная среда с ионами бария – альтернативная система для отбора солеустойчивых клеточных линий / Л.Е. Сергеева // Биотехнология. – 2002. – № 2. – С. 47–51.

51. Riccardi G. Resistance to azetidine–2–camoxiic acid and sodium chloride tolerance in carrot cell cultures and *Spirulina platensis* / G. Riccardi, R. Cella, G. Camerino, O. Ciferri // Plant and Cell Physiol. – 1983. – 23. – 6. – P. 1073–1078.

52. Дридзе И.Л. Использование аналога пролина для отбора



стрессоустойчивых вариантов в культуре тканей сои и табака: автореф. на соискание науч. степени канд. биол. наук / И.Л. Дридзе. – М., 1990. – 24 с.

## References

1. Sergeeva L.E. (2001) *Izmenenie kultury kletok pod dejstviem stressa* [Changing cell culture under stress]. Kyiv, 99 p. [in Ukraine].
2. Sele G. (1960) *Ocherki ob adaptacionnom sindrome* [Essays about adaptation syndrome]. Moscow, 254 p. [in Russian].
3. Kosakivska I.V., Holovianko, I.V. (2006) *Adaptatsiia roslyn: biosynteza ta funktsii stresovykh bilkiv* [Adaptation of plants: biosynthesis and function of stress proteins]. *Ukrayinskyj fitocenologichnyj zbirnyk*, 24, pp. 3–17 [in Ukraine].
4. Altergot V.F. (1982) *Fiziologicheskie mehanizmy adaptatsii i ustojchivosti u rastenij* [Physiological mechanisms of adaptation and resistance in plants]. Moscow, 307 p. [in Russian].
5. Zhuchenko A.A. (1988) *Adaptivnyj potencial kulturnykh rastenij* [The adaptive capacity of cultivated plants]. Kishinev, 766 p. [in Moldova].
6. Kilchevskij A.V., Hotyleva L.V. (1997) *Jekologicheskaja selekcija rastenij* [Ecological plant breeding]. Minsk, 372 p. [in Belarus].
7. Kunakh V.A. (2005) *Biotekhnolohiia likarskykh roslyn. Henetychni ta fizioloho-biokhimichni osnovy* [Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological and biochemical basis]. Kyiv, 730 p. [in Ukraine].
8. Konstantynov Yu.M., Ryvkyn M.Y. (1991). *Vozmozhnyj svobodnoradykalnyj mekhanyzm voznyknovenyia somaklonalnoj yzmenchivosti rastenij* [Possible free radical mechanism of occurrence of somaclonal variation of plants]. *Molekuliarnye mekhanyzmy henetycheskykh protsessov: Sb. dokl. Vses. Sympozyuma*, pp. 166–185 [in Russian].
9. Checheneva T.N. (2006) *Izmenchivost zlakov v kulture in vitro i v processe regeneratsii rastenij* [Variability in grain *in vitro* culture and plant regeneration]. *Fiziologija i biohimija kult. Rastenij*, T. 38, №2, pp. 163–175 [in Ukraine].
10. Larkin P.G., Scorcoft W.R. (1981) *Somaklonal variation – source of variability from cell cultures for improvement*, *Theor. Appl. Genet.*, 60, № 4, pp. 197–214.
11. Pjankov V.I., Mokronosov A.T. (1993) *Osnovnye tendencii izmenenija rastitel'nosti Zemli v svjazi s global'nym potepleniem klimata* [Main trends in the vegetation of the earth due to global warming]. *Fiziologija rastenij*, T. 40, № 4, pp. 515–531 [in Russian].
12. Musiienko M.M., Zhuk I.V. (2009) *Molekuliarni mekhanizmy induktsii zakhysnykh reaktsij roslyn v umovakh posukhy* [Molecular mechanisms of induction of defense reactions of plants to drought conditions]. *Ukrayinskyj botanichnyj zhurnal*, T. 66, № 4, pp. 580–595 [in Ukraine].
13. Zhuk O.I. (2011) *Formuvannia adaptyvnoi vidpovidi roslyn na defitsyt vody* [Formation of the adaptive response of plants to water shortage]. *Fyziolohyia y byokhymyia kult. rastenij*, T. 43, № 1, pp. 26–35 [in Ukraine].
14. Nebykov M.V. (2003) *Dobir posukhostijkykh biotypiv tsukrovoho buriaka v umovakh kultury in vitro* [Selection habitats drought-tolerant sugar beet in a culture *in vitro*]. *Tsukrovi buriaky*, № 4, pp. 18–19 [in Ukraine].

15. Hirko V.S., Solodovnychenko V.D., Voloschuk S.I. (1998) Skrininh henotypiv pshenytsi *in vitro* na stijkist do osmotychnoho stresu [Screening *in vitro* genotypic wheat on stability to osmotic stress]. Zb. mat. II Mizhnar. konf. «Vykorystannia suchasnykh molekuliarno-henetychnykh i biotekhnolohichnykh rozrobok v henetychno-seleksiynykh doslizhdenniakh», Odesa, pp. 26–27 [in Ukraine].
16. Apushev A.K., Sulejmenova S.E., Egizbaeva R.K. (2014) Kletochnaja selekcija kartofelja na zasuhoustojchivost [Cellular selection of potatoes to drought]. Izvestija nacionalnoj akademii nauk respubliki Kazahstan, № 1, pp. 32–34 [in Kazakhstan].
17. Baliuk S.A., Medvediev V.V., Miroshnychenko M.M. (2012) Ekolohichnyj stan hruntiv Ukrainy [Ecological condition of soil Ukraine]. Ukrainskyj heohrafichnyj zhurnal, № 2, pp. 38–42 [in Ukraine].
18. Bernstein L. (1965) Salt tolerance of plants, USDA Agric. Inf. Bull., № 283.
19. Filatova L.A., Melnikova E.N. (1987) Vlijanie jekzogennyh reguljatorov rosta na nekotorye pokazateli azotnogo obmena v prorostkah pshenicy v uslovijah zasolenija [Effect of exogenous growth regulators on some parameters of nitrogen metabolism in wheat seedlings under saline conditions]. Rost, razvitie i adaptacija rastenij k jekstremalnym faktoram: Sb. nauch. tr. Permskogo un-ta, Perm, pp. 110–120 [in Russian].
20. Isaenko S.V. (2012) Fiziolohichni ta molekuliarni aspekty solovoho stresu roslyn [Physiological and molecular aspects of plant salt stress]. Citologija i genetika, T. 46, № 5, pp. 50–71 [in Ukraine].
21. Huang J., Redmann R. (1993) Root growth, respiration and ion relations of barley and wild barley under salt stress and contrasting calcium supply, Amer. Soc. Agron. Annu. Meet, Madison, 114p.
22. Strogonov B.P., Klyshev L.K. (1989) Problemy soleustojchivosti rastenij [Problems salt tolerance]. Tashkent, 184 p. [in Uzbekistan].
23. Butenko R.G., Nikiforova L.D., Chernov V.A (1988) Growth and morphogenesis in cell cultures of spring wheat under stress conditions and selection of tolerant cell lines. Potsdam, 19 p.
24. Bhaskaran S., Smith R.H., Schertz K. (1983) Sodium chloride tolerant callus of *Sorghum bicolor* L. Z. Pflanzenphysiol, 112, pp. 459–463.
25. Nabors M.W., Kroskey C.S., McHugh D. (1982) Green sports are predictors of high callus growth rates and shoot formation in normal and salt stressed tissue cultures of oat (*Avena sativa* L). Z. Pflanzenphysiol, 105,4, pp. 341–349.
26. Kishor P.B. (1989) Salt stress in cultured rice cells: Effect of proline and abscisic acid. Plant Cell Environ, 12, 6, pp. 629–633.
27. Redko V.I., Redko L.A., Sahnó V.V. (1989) Reakcija meristem saharnoj svekly na solevoj stress [Reaction meristems sugar beet salt stress]. Biotehnologicheskie metody v selekcii saharnoj svekly, pp. 27–32 [in Russian].
28. Rodriguez G.B., Barrow J.R., Phillips G.C. (1986) Heat and drought tolerant cotton lines tolerate induced water and salinity stresses *in vitro*. 6th Int. Congr. of plant tissue and cell culture, Abstr., pp. 62.
29. Jeschke W.D., Wolf O. (1988) Effect of NaCl salinity on growth

development, ion distribution and ion translocation in castor bean (*Ricinus communis* L.). J. Plant Physiol. 132, pp. 45–53.

30. McHughen A. (1987) Salt tolerance through increased vigor in a flax line selected for salt tolerance *in vitro*. Theor. and Appl. Genet. 74, 6, pp. 727–732.

31. Liu M., Yeh H. (1982) Selection of NaCl tolerant line through stepwise salinized sugar cane cell cultures. Plant tissue culture, Ed. A. Fujiwara, Jap. Ass. Plant Tissue Culture, Tokyo, pp. 477–478.

32. Rahman M.M., Kaul K. (1989) Differentiation of sodium chloride tolerant cell lines of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). J. Plant Physiol. 133, pp. 710–712.

33. Riccardi G., Cella R., Camerino G., Ciferri O. (1983) Resistance to azetidine-2-camoxiic acid and sodium chloride tolerance in carrot cell cultures and *Spirulina platensis*. Plant and Cell Physiol. 23, 6, pp. 1073–1078.

34. Nabors M., Daniels A., Nadolny L., Brown C. (1975) Sodium chloride tolerant lines of tobacco cells. Plant Sci. Lett. 4, 3, pp. 155–159.

35. Gulati A., Jiwani P.K. (1993) Comparative salt responses of callus cultures of *Vigna radiata* L. Wilczek to various osmotic and ionic stresses. J. Plant Physiol. 141, 1, pp. 120–124.

36. Riabovol L.O., Liubchenko A.I. (2007) Vplyv solovoho stresu na indukuvannya klitynykh linij tsykoriuu koreneplidnoho [Effect of salt stress on inducing cell lines Chicory Root]. Zbirnyk nauk. prats UDAU, Uman, Vyp. 65, pp. 142–146 [in Ukraine].

37. Voloschynska S.S. (2008) Bioindeksatsiia stanu zabrudnennia dovkillia vazhkymy metallamy [Bioindication state pollution by heavy metals]. Visn. Dnipropetrovskoho universytetu. Biologiya. Ekologiya, Dnipropetrovsk, Vyp. 16, T. 2, pp. 24–28 [in Ukraine].

38. Stepanok V.V. (2000) Vlihanie sochetanija soedinenij tjazhelyh metallov na urozhaj selskohozjajstvennykh kultur i postuplenie tjazhelyh metallov v rastenija [Effect of combinations of compounds of heavy metals on agricultural crops and of heavy metals in plants]. Agrohimiya, № 1, pp. 78–80 [in Russian].

39. Jackson R.J., Roth P.R., Naranjo C.M. (1984) Selectio isolation and characterization of Cd-resistant *Datura innoxia* suspension cultures. Ibit., 75, № 4, pp. 914–918.

40. Riabovol L.O., Liubchenko A.I., Yeschenko O.V. (2008) Dobir stijkykh do ioniv Ba<sup>2+</sup> klitynykh linij tsykoriuu koreneplidnoho ta prohramuvannia ikh morfohennoi aktyvnosti [Choosing resistant to Ba<sup>2+</sup> ion cell lines Chicory Root and programming their morphogenic activity]. Zb. nauk. prats UDAU «Osnovy formuvannia produktyvnosti sil'skohospodars'kykh kul'tur za intensyvnykh tekhnolohij vyroschuvannia», pp. 370–374 [in Ukraine].

41. Goncharuk E.A. (2000) Vlihanie kadmija na anatomiju, morfogenez stblja i process regeneracii lna-dolgunca iz kletochnyh i tkanevyh kultur *in vitro* [Influence of cadmium on the anatomy, morphogenesis of the stem and the regeneration of fiber flax from the cell and tissue cultures *in vitro*]. Moscow, 28 p. [in Russian].

42. Gabbrielli R., Gori P., Scala A. (1995) Ni-toxicity on carnation (*Dyanthus carriophyllus* L. cv. *Corrida*) cell cultures: Selection of Ni-tolerant lines and effects of Ca and Mg. Plant Sci., 104, 2, pp. 225–230.

43. Fenik S., Trofimyak T., Blume J. (1993) Selection of the CsCl-tolerance callus lines of *Nicotiana plumbaginifolia* and characterizing their growth in the presence of the buthioninesulfoximine. Dokl. Academy of Sciences of Ukraine, 12, pp. 148–151.
44. Parrot W.A., Bouton J.H. (1990) Aluminum tolerance in alfalfa as expressed in tissue culture. Grop Sci. 30, 2, pp. 387–389.
45. Ojima K., Abe H., Ohira K. (1984) Release of citric acid into the medium by aluminum-tolerant carrot cells. Plant and Cell Physiol, 25, 5, pp. 855–858.
46. Zakri A.H. (1986) Induction and selection of aluminium-resistant variants from soybean cultures. Nucl. Techn. and *in vitro* Cult. Plant Improv. Proc. Int. Symp, Vienna, pp. 267–273.
47. Tobita S., Takahashi H., Miyake H., Totsuka T. (1988) Selection and partial characterization of copper-resistant line of rice (*Oryza sativa*) callus culture. J.Plant Physiol, 133, 5, 545–549.
48. Sergeeva L.E., Mihalskaja S.I. (2006) Soleustojchivost Ba<sup>2+</sup>-rezistentnyh kletochnyh linij rastenij [Salt tolerance Ba<sup>2+</sup>-rezistentnyh cell lines of plants]. Fiziologija i biohimija kult. Rastenij, T. 38, № 6, pp. 491–497 [in Ukraine]
49. Liubchenko A.I., Riabovol L.O., Yeschenko O.V. (2009) Vykorystannia biotekhnolohichnykh metodiv dlja otrymannia vykhidnoho materialu tsykoriuu koreneplidnoho rezystentnoho do abiotychnykh stresovykh chynnykiv [The use of biotechnological methods for source material Chicory Root resistant to abiotic stress factors]. Mat. mizhvuzivs'koi nauk. konf. «Ekolohiia – shliakhy harmonizatsii vidnosyn pryrody ta suspil'stva», Uman, pp. 61 [in Ukraine].
50. Sergeeva L.E. (2002) Novaja selektivnaja sreda s ionami barija – alternativnaja sistema dlja otbora soleustojchivykh kletochnyh linij [New selective medium with barium ions - an alternative system for the selection of salt-tolerant cell lines]. Biotehnologija, № 2, pp. 47–51 [in Russian].
51. Riccardi G., Cella R., Camerino G., Ciferri O. (1983) Resistance to azetidine–2–camoxiic acid and sodium chloride tolerance in carrot cell cultures and *Spirulina platensis*. Plant and Cell Physiol, 23, 6, pp. 1073–1078.
51. Dridze I.L. (1990) Ispolzovanie analoga prolina dlja otbora stressoustojchivykh variantov v kulture tkanej soi i tabaka [Using the analog of proline for the selection of stress resistant variants in tissue culture soybean and tobacco]. Moscow, 24 p. [in Russian].

Одержано 03.11.2015

#### Аннотация

**Любченко И.О., Рябовол Л.О., Любченко А.И.**

**Использование культуры *in vitro* в адаптивной селекции растений (обзор литературы)**

*Неблагоприятные факторы окружающей среды оказывают значительное влияние на рост, развитие и продуктивность растения. Они вызывают различные изменения, в результате чего происходит уменьшение продуктивности или гибель организма.*

*Под влиянием стресса в организме происходит общий адаптационный синдром – изменение физиологических и биохимических процессов, которые направлены на преодоление действия стрессовых факторов. Использование новых высокоурожайных, адаптированных к условиям выращивания сортов и гибридов является одним из наиболее*

эффективных, дешевых и экологически чистых методов повышения урожайности сельскохозяйственных культур в стрессовых условиях.

В последнее время в селекционной практике все чаще используют культуру *in vitro*. Основным типом материала для получения новых генетических форм является каллусная ткань и созданные на ее основе культуры. В процессе дедифференциации клеток возникает соматоклональная изменчивость, которая является источником генетического разнообразия. У многих сельскохозяйственных культур выделены соматоклональные вариации, которые характеризуются комплексом хозяйственно-ценных признаков.

Значительное количество биотехнологических исследований посвящено созданию форм растений устойчивых к абиотическим стрессовым факторам окружающей среды.

С целью имитации стрессового эффекта засухи в условиях *in vitro* наиболее часто используют питательные среды модифицированные осмотически активными веществами, которые снижают внешний водный потенциал (полиэтиленгликоль, маннитол, высокие концентрации углеводов). При селекции растений на солеустойчивость, в качестве селективного фактора используют соли  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и морскую воду.

Исследования по изучению влияния тяжелых металлов на растительные организмы занимают незначительную часть работ относительно общего количества публикаций в этом направлении. Однако пролиферирующие клетки являются наиболее чувствительными к воздействию тяжелых металлов.

Физиологическое влияние засоления, засухи, ионов тяжелых металлов во многом аналогично, поэтому в отобраных клеточных линиях и полученных из них растениях-регенерантах часто проявляется комплексная устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам.

При воздействии на растительный организм стрессовых факторов в их клетках синтезируются защитные аминокислоты, в частности пролин. Поэтому, в качестве селективного агента для отбора на клеточном уровне, часто используют аналоги пролина – наиболее эффективными оказались азетин-2-карбоновая кислота и гидроксипролин.

Моделирование стрессовой системы в условиях *in vitro* дает возможность детально исследовать действие селективного фактора на биообъект и отобрать резистентные генотипы, которые могут быть использованы в дальнейших генетических и селекционных исследованиях.

Для рыжика ярового этот вопрос является малоизученным, что и стало причиной проведения исследований в этом направлении.

**Ключевые слова:** соматоклональная изменчивость, селективный фактор, засоление, осмотический стресс, ионы тяжелых металлов, защитные аминокислоты.

#### *Annotation*

**Lybchenko I.O., Ryabovol L.O., Lybchenko A.I.**

**Using *in vitro* methods in adaptive selection of plant (literature review)**

*Negative environmental factors have a significant impact on the plants. They cause various changes resulting in a decrease of productivity or destruction of the organism.*

*General adaptative syndrome in the organism occurs under the influence of stress. That is change in physiological and biochemical processes which are aimed at overcoming the effect of stress factors. Using new high-yielding varieties and hybrids adapted to growing conditions is one of the most efficient, cheap and environmentally friendly ways to increase the level of crop yield under the stress conditions.*

*Recently *in vitro* culture is used more often in selection. The main type of the material for the production of new genetic forms is callus tissue and cultures created on its basis.*

*Somaclonal variability which is a source of genetic diversity occurs in the process of cells dedifferentiation. Somaclonal variations characterized by the complex of economically valuable features are marked out in many crops.*

*A great number of biotechnological researches are dedicated to creation of plant forms resistant to abiotic stress factors of the environment.*

*Nutrient medium modified by osmotic-and-active substances which reduce external water potential (polyethylene glycol, mannitol, high concentrations of sugar) are commonly used in order to simulate a stress effect of drought under in vitro conditions. Salts of NaCl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and sea water are used as a selective factor in plant selection for salt resistance.*

*Researches by studying the influence of heavy metals upon plant organisms take up a smaller part concerning the total amount of researches in this field. Proliferating cells are the most sensitive to the effect of heavy metals.*

*Physiological influence of salinity, drought, and heavy metal ions is similar in many aspects therefore complex resistance to negative abiotic factors often appears in the selected cell lines and regenerated plants derived from them.*

*Protective amino acids, particularly proline are synthesized in the cells of plant organisms by effecting of stress factors on them. Therefore, proline analogs are often used as a selective agent for choice at the cellular level. It appears that the most effective were azetidine-2-carboxylic acid and hydroxyproline.*

*Simulation of stress system under in vitro conditions makes it possible to research the effect of a selective factor in detail on the biological object and choose resistant genotypes that can be used for further genetic selective studies.*

*The issue concerning Camelina sativa is unstudied and this fact stimulated us to conduct research in this field.*

**Key words:** *somaclonal variability, selective factor, salinity, osmotic stress, heavy metal ions, protective amino acids.*

**УДК 634.54:631.559**

## **УРОЖАЙНІСТЬ ТА ЯКІСТЬ ГОРІХІВ ФУНДУКА ЗАЛЕЖНО ВІД СОРТУ**

**О.А. Балабак, кандидат сільськогосподарських наук**

**Національний дендрологічний парк «Софіївка»**

**В.В. Любич, кандидат сільськогосподарських наук**

**Уманський національний університет садівництва**

*У статті наведено врожайність горіхів фундука, вміст олії в ядрі та її вихід з урожаєм залежно від сорту. Встановлено, що врожайність горіхів фундука змінюється від 126 кг/га (сорт Урожайний - 80) до 448 кг/га (сорт Дохідний). Найвищий вміст олії (74,2–74,5 %) був у ядрі горіхів сортів Грандіозний, Фундук-85 і Урожайний-80, найменший – у ядрі горіхів сорту Лозівський урожайний (67,3 %).*

**Ключові слова:** *фундук, вміст олії, чорнозем опідзолений*

**Постановка проблеми.** Особливе місце серед горіхоплідних культур займають культивовані сорти і гібриди фундука, які сформовані, переважно, з видів *C. avellana* L., *C. maxima* Mill. та *C. pontica* C. Koch, а також *C. colurna* L. і