

**СЕЛЕКЦІЯ В КУЛЬТУРІ IN VITRO НА СТІЙКІСТЬ ДО ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕННЯ  
ГЕНОТИПІВ КУКУРУДЗИ ЗАРОДКОВОЇ ПЛАЗМИ ЛАНКАСТЕР****К. В. Деркач<sup>1</sup>***Інститут сільського господарства степової зони НААН України*

*Наведено динаміку питомої маси та діаметра калусів ліній зародкової плазми Ланкастер культивованих на живильному середовищі під дією натрію хлориду. Показана можливість селекції на стійкість до хлоридного засолення на рівні калусної тканини. Виявлено генотипи з підвищеною стійкістю до дії натрію хлориду.*

**Ключові слова:** кукурудза, культура in vitro, засолення, натрію хлорид.

На сучасному етапі розвитку аграрної науки перед селекціонерами постає важливе завдання – створення нових генотипів кукурудзи, які поєднують в собі високу врожайність та стійкість до абіотичних факторів конкретної агрокліматичної зони, в тому числі до засолення ґрунтів, оскільки за таких умов пригнічуються ростові процеси і знижується продуктивність рослин.

Так, з одного боку, засолення ґрунту порушує водний обмін у рослин кукурудзи, викликаючи тим самим осмотичний стрес, а з іншого – накопичення  $\text{Na}^+$  у пагонах спричиняє порушення іонного балансу в рослинному організмі. Стійкість до абіотичних факторів, в тому числі до засолення, перебуває під полігенним контролем, що значно ускладнює селекційну роботу в даному напрямку [1].

Відомо, що рослина може вижити в умовах засолення ґрунту за рахунок механізму стійкості, що проявляється у зміні метаболічної активності, та механізму запобігання дії цього абіотичного фактора шляхом морфологічної адаптації [2].

Нині широко використовуються біотехнологічні методи, які істотно доповнюють і прискорюють селекційний процес зі створення нових високопродуктивних генотипів, стійких до засолення ґрунтів. Так, за допомогою методу культури тканин in vitro можливо моделювати сольове навантаження з отриманням стійких генотипів до цього фактора [3; 4]. Модель, що розглядається, може бути застосована і в разі селекції на стійкість до інших абіотичних факторів, зокрема гербіцидного навантаження.

Мета роботи – оцінка та відбір в культурі in vitro стійких до засолення генотипів кукурудзи. Об'єктами досліджень слугували лінії перспективної у селекційному відношенні зародкової плазми Ланкастер. Зародкова плазма Ланкастер походить від відомого вільно-запильного сорту з американського континенту Lancaster Sure Crop. Рослини середньо- та високорослі, качани видовжені з 12–14-рядами зубовидних зерен жовтого кольору. Лінії середньо- та пізньостиглі, виявляють високу комбінаційну здатність у схрещуваннях з лініями плазми Рейд, дещо меншу – з Айодент [5]. Для створення скоростиглих гібридів кукурудзи [6] в селекції на абіотичну стійкість [7] інтенсивно використовуються лінії зародкової плазми Ланкастер.

Донорні рослини вирощували у польових умовах відповідно до методичних рекомендацій з проведення польових дослідів із кукурудзою (Лебідь, 2008). Для індукції калусогенезу незрілі зародки ліній зародкової плазми Ланкастер: ДК267, ДК633, ДК3070, ДК633/325 та лінії-стандарту Chi31 (Lazanyi, 1990) довжиною 1–1,5 мм на 10–12 добу після штучного запилення експлантували щитком догори на живильне середовище  $\text{N}_6$  (Chu, 1975) з додаванням 100 мг/л гідролізату казеїну, 100 мг/л мезоінозиту, 690 мг/л L-проліну, 10 мг/л нітрату срібла, 1 мг/л 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти та 0,1 мг/л абсцизової кислоти [8] з підвищеним до 30 г/л вмістом сахарози [9] (контрольне середовище К). Калуси, отримані на даному живильному середовищі, на 60-ту добу культивування експлантували на експеримен-

<sup>1</sup> Науковий керівник доктор біологічних наук Т. М. Сатарова

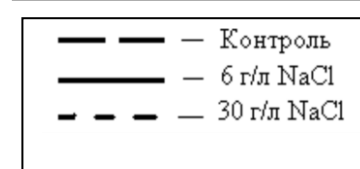
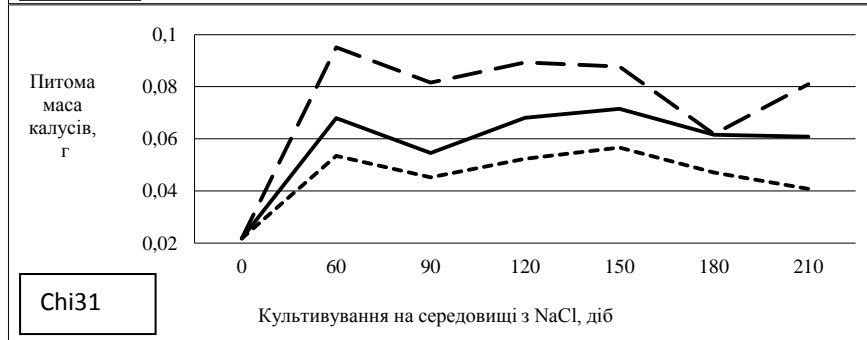
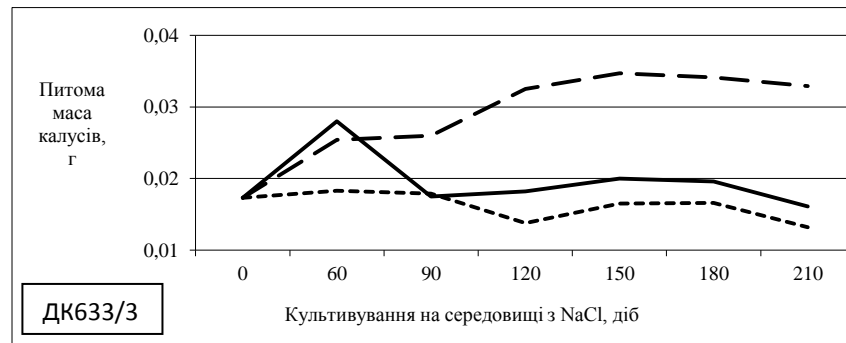
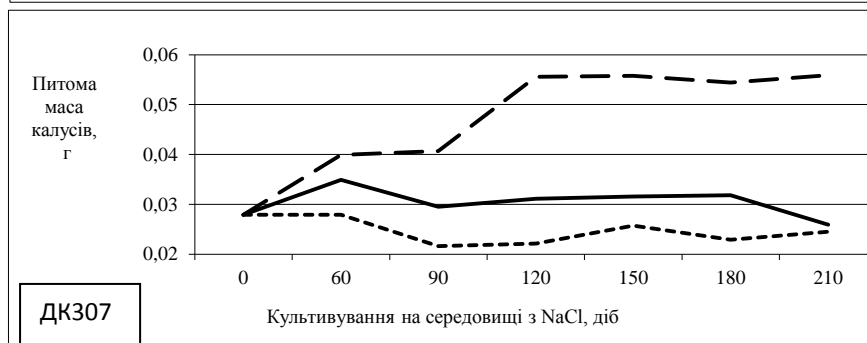
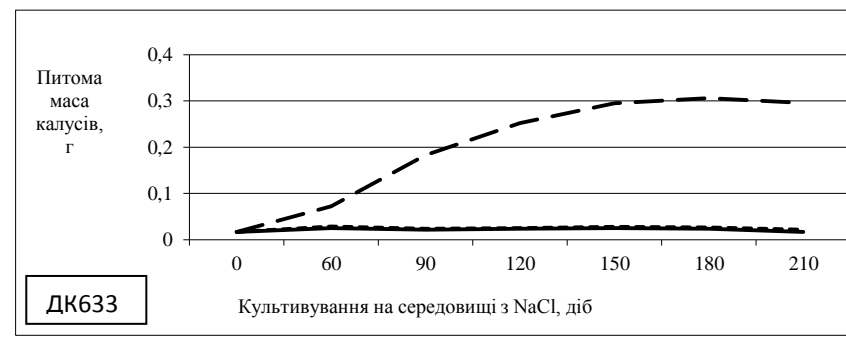
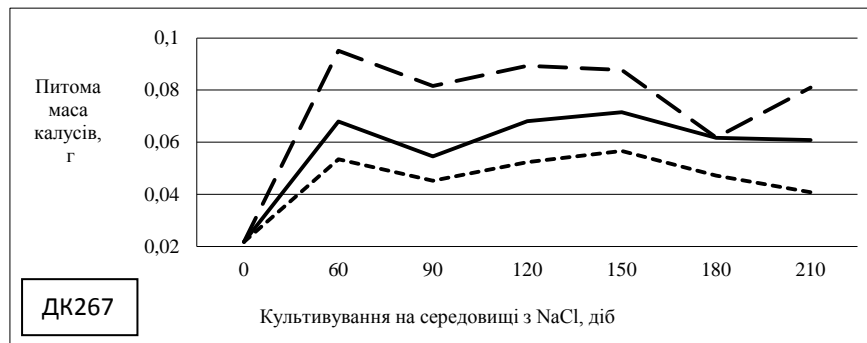


Рис. 1. Варіювання питомої маси калусів залежно від тривалості культивування на середовищах з різним вмістом NaCl.

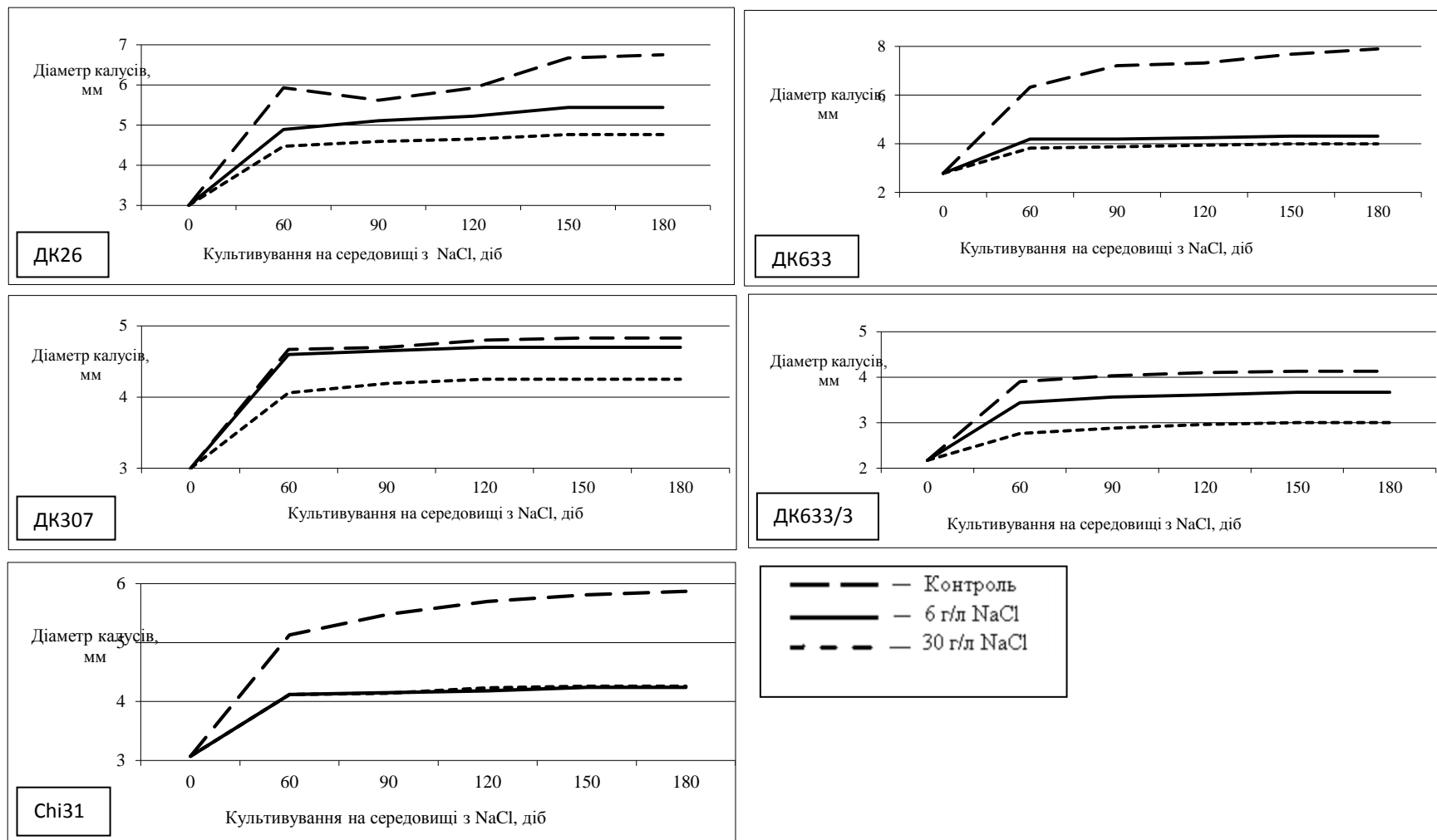


Рис. 2. Варіювання діаметра калусів залежно від тривалості культивування на середовищах з різним вмістом NaCl.

тальні середовища, які містили додатково 6 або 30 г/л натрію хлориду (відповідно середовища  $K^{6NaCl}$ ,  $K^{30NaCl}$ ). Культивування зародків проводили при 25–27°C у темряві. Результати аналізували, починаючи з 60-тої доби культивування на середовищах з NaCl, через кожні 30 діб – до 180-тої доби. Ефективність культивування на контрольному середовищі та на фоні різних концентрацій натрію хлориду оцінювали за питомою масою<sup>1</sup> та діаметром культивованих калусів (див. рис. 1, 2).

Як видно з рисунка 1, показники питомої маси калусів ліній ДК633 і Chi31 на середовищах з NaCl, були однакові, але помітно відрізнялися від контролю. У ліній ДК3070 і ДК633/325 виявлена деяка різниця за питомою масою калусів залежно від вмісту натрію хлориду в середовищі культивування, причому щодо контрольного середовища, то цей показник був найбільший, на середовищах  $K^{6NaCl}$  – середній і  $K^{30NaCl}$  – найменший. Разом з тим було деяке зниження питомої маси калусів на середовищах  $K^{6NaCl}$  та  $K^{30NaCl}$  порівняно з початком пасивування на середовищах з натрію хлоридом. Питома маса калусів цих ліній у контролі характеризувалася лише позитивним приростом від початку культивування. У лінії ДК267, як і у ліній ДК3070 і ДК633/325, значення питомої маси дещо різнилися залежно від середовища культивування, але у лінії ДК267, порівняно з початковими значеннями, зниження питомої маси калусів не було зафіксовано в жодному з варіантів культивування.

Варто відмітити, що зниження маси калусів при культивуванні під дією натрію хлориду порівняно з початковими значеннями протягом періоду ведення досліджень не відмічалось [2].

Тенденція до приросту діаметра калусів впродовж періоду культивування простежувалася у всіх ліній (рис. 2). Діаметр калусів ліній ДК633 і Chi31 на середовищах  $K^{6NaCl}$  та  $K^{30NaCl}$  майже не змінювався, проте його показники відрізнялися від контролю. У ліній ДК267 і ДК633/325 діаметр калусів залежно від вмісту натрію хлориду в середовищі змінювався. У лінії ДК3070 як в контролі, так і на середовищі з 6 г/л натрію хлориду діаметр калусів був майже однаковий.

Аналіз динаміки питомої маси і діаметра калусів при культивуванні на живильних середовищах показує, що концентрація натрію хлориду 30 г/л була кращим інгібітором, ніж 6 г/л (лінії ДК267, ДК3070 та ДК633/325). У деяких випадках вплив обох концентрацій натрію хлориду на ріст калусів (лінії ДК633 та Chi31) був однаковий. Лінії ДК267, ДК3070 та ДК633/325 мають певний потенціал стійкості до засолення *in vitro* на відміну від ліній ДК633 та Chi31, для яких характерне повне пригнічення росту калусів при дії натрію хлориду.

Залежність між питомою масою, діаметром і тривалістю культивування свідчить про неоднозначну реакцію калусів на рівень засолення в культурі *in vitro*, тобто має місце генотипова реакція ліній на дію абіотичного фактора – натрію хлориду. V. Urechaen також вказує, що генотип – це основний фактор, який визначає проліферацію клітин за умови дії натрію хлориду [2]. Як на рівні проростків, так і калусної тканини виявлено більш високу активність супероксиддисмутази у солестійких форм і зниження активності фермента при стресі [10].

В результаті проведеної роботи були відібрані морфогенні калуси ліній ДК267, ДК633 та ДК3070, які здатні існувати на середовищах з 6 г/л натрію хлориду.

Таким чином, виявлено можливість селекції в культурі *in vitro* на стійкість до засолення генотипів кукурудзи зародкової плазми Ланкастер на рівні калусної тканини. Встановлено, що стійкість до засолення в культурі *in vitro* є генетично зумовленою. Лінії ДК267, ДК633 та ДК3070 рекомендуються до використання у подальших біотехнологічних та селекційних дослідженнях в культурі *in vitro* як генотипи з підвищеною стійкістю до засолення.

<sup>2</sup> Під питомою масою розуміють питому масу сирих калусів.

## Бібліографічний список

1. *NaCl* effects in *Zea mays* L. x *Tripsacum dactyloides* (L.) L. calli and plant / *J. Pesqueira, M. D. Garcia, S. Staltari, M. dC. Molina* // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2006. – V. 3, № 3. – P. 286–290.
2. *Urechean V.* The influence of stress induced by NaCl on morphogenetic aspects of the callus initiated from immature maize embryos / *V. Urechean* // *Bulgarian Journal of Plant Physiology. Special Issue*. – 2003. – P. 336–352.
3. *Dolgykh Y. I.* Use of tissue culture to test plant resistance to abiotic stresses / *Y. I. Dolgykh, S. N. Larina, Z. B. Shamina* // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. – 1992. – V. 66. – P. 82.
4. *Lupotto E.* Tissue culture, characterization and evaluation of in vitro salt tolerance in Arizona 8601 / *E. Lupotto, M. S. Lusardi, F. Locatelli* // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. – 1990. – V. 64. – P. 24–25.
5. Селекционная оценка элитных самоопыленных линий кукурузы из основных гетерозисных групп зародышевой плазмы / *В. М. Соколов, Б. Ф. Вареник, А. С. Пилюгин, Д. В. Гужва* // *Генетика, селекция и технология возделывания кукурузы*. – Краснодар: Майкоп РИПО Адыгея, 1999. – С. 92–96.
6. *Олешко О. Г.* Оцінка нових самозапильних ліній кукурудзи споріднених з генетичною плазмою Ланкастер / *О. Г. Олешко* // *Бюл. Ін-ту зерн. госп-ва*. – 2003. – № 21–22. – С. 65–69.
7. *Боденко Н. А.* Добір та оцінка вихідного матеріалу на посухо- та жаростійкість для селекції середньостиглих гібридів кукурудзи: дис. кандидата с.-г. наук: 06.01.05 «Селекція і насінництво» / *Боденко Наталія Анатоліївна*. – Дніпропетровськ, 2003. – 172 с.
8. *Абраїмова О. Є.* Біотехнологічна характеристика калусогенезу в культурі незрілих зародків кукурудзи під впливом абсцизової кислоти та 6-бензиламінопурину / *О. Є. Абраїмова, Г. Р. Піралов, Т. М. Сатарова* // *Вісн. Дніпропетровського нац. ун-ту*. – 2010. – Вип. 18 (Т. 1.) – С. 3–8.
9. *Сатарова Т. М.* Оцінка реципрокного ефекту в культурі in vitro у генотипів кукурудзи зародкової плазми Ланкастер / *Т. М. Сатарова, К. В. Деркач, О. Є. Абраїмова* // *Бюл. Ін-ту зерн. госп-ва*. – 2011. – № 40. – С. 20–24.
10. *Терлецкая Н. В.* Использование культуры клеток при изучении устойчивости зерновых злаков к абиотическим стрессам / *Н. В. Терлецкая* // *Тезисы IX Междунар. конф. [«Биология клеток растений in vitro и биотехнология»]*, (Звенигород, 8 – 12 сент. 2008 г.). – М., 2008. – С. 390.