

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
МИРОНІВСЬКИЙ ІНСТИТУТ ПШЕНИЦІ ІМЕНІ В.М. РЕМЕСЛА

ОЦІНКА ТА ДОБІР СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ЗЕРНОВИХ ЗА
СТІЙКІСТЮ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ

Методичні рекомендації

Центральне, 2024

УДК: 633.11:581.1:58.056:58.084

Оцінка та добір селекційного матеріалу зернових за стійкістю до абіотичних стресів / Демидов О.А., Кириленко В.В., Юрченко Т.В., Пикало С.В., Гуменюк О.В., Кузьменко Є.А., Близнюк Р.М. / За редакцією доктора с.-г. наук, професора, академіка НААН України О.А. Демидова. Центральне, 2024. 30 с.

ISBN 978-617-8571-90-0

Рецензенти:

Завідувач кафедри селекції, насінництва і генетики Полтавського державного аграрного університету МОН України, доктор сільськогосподарських наук, професор Тищенко Володимир Миколайович

Професор кафедри рослинництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, доктор сільськогосподарських наук, професор Новицька Наталія Валеріївна

Викладено методичні підходи оцінки та добору селекційного матеріалу зернових колосових культур (пшениця, ячмінь, тритикале) за морозо-, посухостійкістю. Наведено застосування комбінованого підходу, який передбачає поетапне проведення лабораторних і біотехнологічних методів для комплексної об'єктивної оцінки та добору стійких до абіотичних стресів генотипів зернових культур. Методичні рекомендації ілюстровані фотографіями відділу біотехнології, генетики і фізіології.

Для селекціонерів наукових установ, виробників, студентів і викладачів навчальних закладів сільськогосподарського профілю.

Розглянуто та затверджено до друку

Вченою радою Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААН України, протокол № 2 від 17 жовтня 2024 року

За довідками звертатися:

Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла НААН
Адреса: 08853, вул. Центральна, 68 корп. 2, с. Центральне Обухівського району Київської області; факс (04574)–74–446, тел. (04574)–74–135

3
ЗМІСТ

ВСТУП	4
МЕТОДИЧНІ АСПЕКТИ РІЗНИХ СПОСОБІВ ОЦІНКИ ТА ДОБОРУ РОСЛИН ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР (пшениця, ячмінь, тритикале) ЗА СТІЙКІСТЮ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ	6
1. ОЦІНКА МОРОЗОСТІЙКОСТІ	7
1.1. Метод прямого проморожування рослин у висівних ящиках	7
1.2. Оцінка відносної морозостійкості рослин пшениці в проростках	11
2. ОЦІНКА ПОСУХОСТІЙКОСТІ	14
2.1. Метод пророщування зерна на сахарозі	14
2.2. Метод виходу електролітів із тканин рослин	16
3. ОЦІНКА ТА ДОБІР МОРОЗОСТІЙКОГО СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ОЗИМИХ ЗЕРНОВИХ	21
4. ОЦІНКА ТА ДОБІР <i>IN VITRO</i> СТІЙКОГО ДО ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР	22
ВИСНОВКИ	27
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	28

ВСТУП

Виробництво сільськогосподарської продукції є стратегічною і ефективною галуззю народного господарства України. Основною складовою сільськогосподарського виробництва в Україні традиційно виступає зерновий сектор [1]. Провідну роль у харчовому забезпеченні людства відіграють зернові злаки, чільне місце з яких посідають пшениця, ячмінь та тритикале. Збільшення врожайності є найбільш важливим критерієм при вирощуванні будь-яких сільськогосподарських рослин. Генетичний потенціал вітчизняних сортів зернових колосових культур становить 8–13 т/га, проте у виробничих умовах реалізується лише на 50 % [2]. Існує багато чинників, що не дають можливості повною мірою втілити детермінований спадковий потенціал сортів. Реальна врожайність залишається невисокою внаслідок порушення технології вирощування інтенсивних сортів, а також через те, що не всі сорти захищені механізмами гомеостазу [3]. Проходження фаз розвитку, інтенсивність росту та продуктивність рослин цілком залежать від умов навколишнього середовища та оптимального забезпечення необхідними факторами життя [4]. Несприятливі погодні умови впродовж вегетації майже завжди впливають на зниження рівня врожайності як озимих, так і ярих культур, а також невисоких валових зборів зернової продукції [5]. Унаслідок глобальних кліматичних змін, збільшення площ зрошуваних земель на території України, що спричиняє вторинне засолення ґрунтів, діяльності підприємств металургійної та хімічної промисловості, а також бойових дій, виникає нагальна потреба щодо створення сортів, стійких до абіотичних факторів середовища [6].

Генетичне різноманіття сортів пшениці, які відрізняються за напрямом використання, якістю продукції, адаптивністю та іншими цінними господарськими ознаками є одним із головних чинників гарантування продовольчої безпеки і безперервного розвитку сільськогосподарського виробництва [7]. Із розвитком сучасної генетики та біотехнології виникають нові та удосконалюються класичні методи селекції, спрямовані на створення сортів за цінними господарськими ознаками [8]. У традиційній технології селекційного процесу пшениці на сучасному етапі особливої актуальності набуває концентрація, пошук і створення генетично різноманітного вихідного матеріалу [9]. З огляду на економічні та екологічні обмеження, пов'язані зі зменшенням посівних площ та інтенсифікацією сільськогосподарських витрат, створення високопродуктивних сортів розглядають як найреальніший і найрентабельніший спосіб підвищення врожайності [8]. Генетичне вдосконалення зернових має вирішальне значення через їх безпосередній вплив на економічний розвиток, міжнародну торгівлю зерном та продовольчу безпеку країни, тому актуальність досліджень у вирішенні багатьох генетико-селекційних задач стосовно цих культур зростає і набуває якісно нового характеру [10]. На сьогодні генетико-селекційні дослідження стосовно злакових спрямовані на поглиблення знань щодо стійкості рослин до стресових чинників довкілля та селекції високопродуктивних сортів, адаптованих до певних умов вирощування [9].

Зміни клімату все частіше стають основним стримуючим фактором у реалізації генетичного потенціалу високоврожайних сортів зернових культур. Періодичні нищівні кліматичні катаклізми зводять нанівець їх урожаї та роблять непридатними для вирощування цілі аграрні регіони [6]. Загальне забруднення навколишнього середовища, різке загострення екологічної ситуації у світі в результаті антропогенного впливу, аридизація клімату зробили проблему адаптації та стійкості однією з головних у біології та фізіології рослин [11]. Глобальне потепління і пов'язана з ним часта повторюваність посух зумовлюють необхідність об'єднання зусиль біотехнологів, генетиків і селекціонерів для створення адаптивних генотипів пшениці. Тому стійкість до абіотичних стресових чинників докільля для селекційного вдосконалення зернових є вкрай важливим та набуває особливої актуальності, оскільки дозволить розширити посіви цих культур в районах з несприятливими кліматичними умовами [12]. Для підвищення адаптивності необхідно збагачувати генофонд цих культур різними методами. Тому одним із пріоритетних напрямів генетики, селекції та біотехнології є створення сортів, стійких до несприятливих екологічних чинників докільля – посухи, екстремальних температур, засолення, забруднення іонами токсичних металів тощо [8, 13]. Проведення досліджень з оцінки генотипів за стійкістю до того чи іншого стресу є однією з умов підвищення ефективності селекційного процесу зернових культур [8, 12]. Зважаючи на це, методологічне забезпечення всебічного вивчення стрес-стійкості сільськогосподарських рослин є пріоритетним завданням багатьох селекційних установ України.

Задля прискорення селекційного процесу зернових й отримання достовірних результатів необхідно застосовувати різні методики дослідження зразків за конкретними ознаками стійкості. Слід підкреслити, що від достовірності методу залежить ступінь збігу результатів оцінки одного й того ж набору сортів у повторних циклах діагностики. Для тестування перспективних зразків злакових культур є багато методів, заснованих на різних принципах дії, і кожен із них має свої переваги і недоліки [14, 15]. Вибір способу значною мірою визначається ступенем його достовірності, трудомісткості, тривалості оцінки і пропускну здатності. Часто той чи інший спосіб чітко розділяє за стійкістю контрастні види рослин, проте не в змозі диференціювати за групами стійкості різні сорти однієї культури, що знижує його придатність для селекційної практики. Значна частина методів діагностики сортозразків передбачає нанесення певної шкоди рослині, що ускладнює або робить неможливим провести оцінку за іншою не менш важливою ознакою, а також вирощування рослин до отримання нащадків. Переважна їх більшість не є на сьогоднішній день оптимальними, внаслідок чого актуальним є завдання створення нових і вдосконалення вже наявних методів оцінки та добору селекційного матеріалу зернових колосових культур за стійкістю до несприятливих чинників докільля. Розробка сучасних методичних аспектів різних способів оцінки та добору селекційного матеріалу зернових культур у Миронівському інституті пшениці імені В.М. Ремесла НААН України (МІП) окреслена на рисунку 1.

МЕТОДИЧНІ АСПЕКТИ РІЗНИХ СПОСОБІВ ОЦІНКИ ТА ДОБОРУ РОСЛИН ЗЕРНОВИХ (пшениця, ячмінь, тритикале) ЗА СТІЙКІСТЮ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ

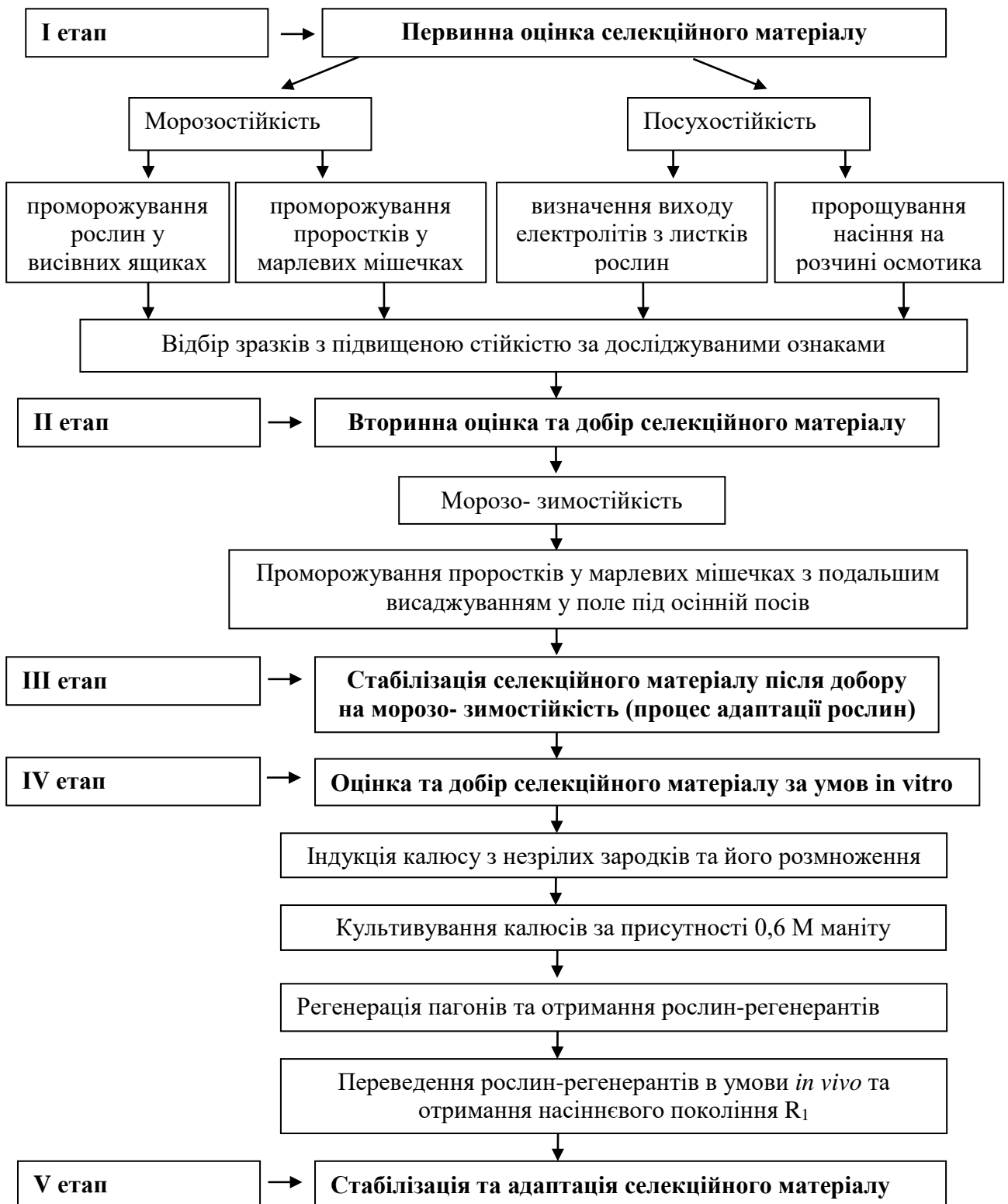


Рис. 1. Схема різних етапів оцінки та добору селекційного матеріалу озимих зернових культур за показниками адаптації

1. ОЦІНКА МОРОЗОСТІЙКОСТІ

1.1. Метод прямого проморожування рослин у висівних ящиках

Матеріали та обладнання для проведення дослідження: камери низькотемпературні (КНТ-1М), термометри зі шкалою від $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $+40\text{ }^{\circ}\text{C}$, ящики вегетаційні (дерев'яні) із внутрішніми розмірами: довжина 40 см, ширина 30 см, глибина 12 см, трамбівку дерев'яну розміром 28 см x 20 см x 2 см, маркер для сівби, ґрунтосуміш (ґрунт із піском у співвідношенні 3:1), дротяне сито, пінцет, візок з платформою, лійка для поливу рослин об'ємом до 15 л, ножиці, вегетаційна кімната (для дорошування рослин).

Хід роботи

1. Підбір насіння. Досліди проводили у трьох повтореннях використовуючи виповнене насіння однієї репродукції та однакової фракції (від якості насіння залежить точність даного аналізу).

2. Підбір стандарту. Для оцінки морозостійкості поряд із зразками необхідно досліджувати сорт-еталон зі стійкістю вище середньої.

3. Підготовка ґрунтосуміші. Ґрунтосуміш готують з родючого шару ґрунту (0–30 см) і промитого річкового піску. Ґрунт і пісок просівають крізь дротяне сито. Ґрунт і пісок змішують у співвідношенні 3:1 і ретельно перемішують до утворення однорідної маси. За використання піщаного чи супіщаного ґрунту пісок можна не додавати.

4. Підготовка і заповнення вегетаційних ящиків. Вегетаційні ящики ретельно очищують від залишків старої ґрунтосуміші і виставляють на підготовлений вегетаційний майданчик з твердим покриттям. Ящики заповнюють ґрунтосумішшю шаром завтовшки 6–7 см і злегка ущільнюють за допомогою трамбівки. Поверхню ґрунтосуміші маркірують за допомогою маркера для сівби. З одного боку під ящики підкладають дерев'яні кілочки завтовшки 1–2 см, щоб вирівняти поверхню ґрунтосуміші в ящиках до горизонтальної та запобігти примерзанню ящиків.

5. Сівба. Сіють у другій половині оптимальних строків згідно з рекомендаціями зональних с.- г. науково-дослідних установ (в МПП – 25 вересня). Відібране для сівби зерно викладають за допомогою пінцета у маркерні чарунки (рис. 2). Рядки розміщують паралельно до ширини ящика. В кожному ящику розміщують 12 рядків по 22 насінини у кожному. Сорт займає 3 рядки, кожний рядок є окремою повторністю. В ящику розміщують 3 сорти, що досліджували, а також сорт-еталон морозо- зимостійкості культури. Висіяне



зерно засипають шаром ґрунтосуміші завтовшки 3–4 см, злегка ущільнюють трамбівкою. Окремим блоком висівають набір сортів-еталонів культури. Після закінчення сівби проводять полив.

Рис. 2. Розкладання зерен у висівні ящики

У період осені та початку зими рослини перебувають на вегетаційному майданчику у природних умовах, де проходять першу і другу фази загартування (рис. 3, 4).



Рис. 3. Вегетаційний майданчик

Догляд за рослинами в цей період полягає у систематичному поливі та боротьбі зі шкідниками. У зимовий період регулярно спостерігають за температурою повітря і ґрунту на глибині вузла кущіння. За зниження температури ґрунту на глибині вузла кущіння до мінус 14 °С для пшениці м'якої озимої та мінус 12 °С для пшениці

твердої озимої, ящики обкладають снігом, а за його відсутності – матами або агроволокном.

Рис. 4. Рослини культур після загартування перед проморожуванням



6. Підготовка до проморожування. За настання строків проморожування ящики транспортують з вегетаційного майданчика і поміщають у низькотемпературні камери (рис. 5). Проморожування ведуть паралельно за двох температур (у двох камерах). У кожену камеру поміщають до 40 ящиків.



Рис. 5. Камери низьких температур КНТ- 1 та проморожування рослин

У зв'язку з тим, що температурні умови загартовування, як впродовж кожного сезону, так і від року до року сильно різняться, то і критичну температуру проморожування необхідно вибирати заново для кожного циклу. Оптимальною температурою його є температура, за якої середньоморозостійкий сорт зберігається на 40–50 %, більш жорсткі режими проморожування дозволяли виявити різницю між сортами з підвищеною морозостійкістю.

Проморожування починають з температури, яка дорівнює температурі повітря зовні, і знижують її поступово з інтервалом 2 °С за годину до заданої. За заданої температури рослини витримують 24 години.

При оцінюванні зразків зернових на морозостійкість рекомендовано задавати мінусові температури відповідно до культури: для пшениці м'якої озимої -16 °С, -18 °С, -20 °С; твердої озимої -14 °С, -16 °С, -18 °С; ячменю озимого -12 °С, -14 °С; тритикале озимого -18 °С, -20 °С.

Після закінчення проморожування температуру у камері поступово підвищують на 2 °С щогодини до 0 °С. Щоб запобігти температурному стресу ящики ще на добу залишають у камері для поступового розмерзання. У подальшому ящики з рослинами розміщують в приміщення з температурою від плюс 18 °С до плюс 24 °С і готують їх до відрощування (через дві доби, коли ґрунт повністю відтане, рослини підстригають, щоб залишилась листова пластинка довжиною 0,5 см) (рис. 6, 7).



Рис. 6. Рослини до підстригання (а) та після підстригання (б)



Рис. 7. Відрощування рослин культур у вегетаційній кімнаті

7. Проведення обліків проморожених рослин. Строк попереднього обліку настає через 10–12 діб, другого (остаточного) – через 15–16 діб від початку відрощування. Кожен рядок обліковується як окреме повторення.

До живих (життєздатних) відносять тургорні зелені рослини, які за період відрощування до попереднього обліку дали приріст листків не менше 5 см. Кількість живих і загиблих рослин обліковують по кожному рядку окремо (рис. 8).



Рис. 8. Облік рослин після відрощування

8. Оформлення та опрацювання результатів. Результати підрахунків рослин заносять у відповідні карточки (табл. 1).

Таблиця 1. Карточка для підрахунку живих і мертвих рослин (на прикладі ящика № 15)

Температура проморожування -18 °С			Дата проморожування 25.01 2024 р.			Ящик № 15	
номер селекційного матеріалу	рядок	кількість рослин, шт	живих рослин, шт		кількість рослин, шт	живих рослин, шт	% живих рослин
			1 підрахунок	2 підрахунок			
605	1	20	14	15	63	45	71,4
	2	22	14	14			
	3	21	16	16			
606	4	22	18	18	65	56	86,1
	5	22	19	20			
	6	21	18	18			
607	7	21	13	15	61	40	65,6
	8	20	11	11			
	9	20	12	14			
Подолянка – еталон	10	22	16	16	64	49	76,5
	11	22	18	18			
	12	20	15	15			

Отримані результати обліків виражають у відсотках живих рослин до загальної кількості рослин у рядку (табл. 2). Температура, за якої відсоток живих рослин до загальної кількості рослин в рядку буде близьким до 50, є критичною температурою вимерзання даного сорту.

Таблиця 2. Шкала оцінки морозостійкості зернових культур та їх критична температура вимерзання

Кількість живих рослин у відсотках	Бал	Група морозостійкості	Критична температура, °С*
менше 21	1	дуже низька	-13,0
21–30	2	низька	-14,0
31–40	3	нижче середньої	-15,0
41–50	4	середня-нижче середньої	-16,0
51–60	5	середня	-16,5
61–70	6	середня-вище середньої	-17,0
71–80	7	вище середньої	-17,5
81–90	8	підвищена	-18,0–18,5
більше 90	9	висока	-19,0

1.2. Оцінка відносної морозостійкості рослин пшениці у проростках

Матеріали та обладнання для проведення дослідження: термостат, морозильна міні-камера ЛВН–200 Г, чашки Петрі, фільтрувальний папір, пергаментний папір, пінцет, олівець, марлеві мішечки, ексікатор, термометр із шкалою від -40 °С до +40 °С, контейнери для пророщування насіння.

Хід роботи

1. Підбір насіння. Для дослідження використовують (по 200 зерен із кожного зразка) виповнене насіння однієї репродукції та однакової фракції.

2. Підбір стандарту. Для оцінки морозостійкості поряд із зразками необхідно вивчати сорт-еталон зі стійкістю вище середньої.

3. Підготовка насіннєвого матеріалу. У чашки Петрі з фільтрувальним папером на дні засипають по 200 зерен кожного зразка, зволожують проточною водою та ставлять в термостат при температурі +21 °С до появи проростків (рис. 9). Далі відбирають зерно з проростками довжиною 3–5 мм і поміщають у зволожені водою марлеві мішечки, вкладають пергаментний аркуш (2 см x 2 см) з позначеним номером ділянки.



Рис. 9. Пророщування зерна у термостаті MIR-554-PE перед проморозуванням

Підготовлені таким чином зразки поміщають у скляний ексікатор, якого розміщують у морозильну камеру (рис. 10).



Рис. 10. Відбір пророслого насіння для подальшого проморожування

4. Проморожування селекційного матеріалу. Перед проморожуванням рослини повинні пройти дві фази загартування. Тому його здійснювали за схемою: перша фаза загартування за температури $0...+1$ °C – впродовж 8 діб, друга фаза загартування – 3 доби за температури -4 °C, надалі – зниження до наміченої температури проморожування по 2 °C на годину. Експозиція становила 24 год. Оптимальною для диференціації проростків за морозостійкістю є температура проморожування: пшениця м'яка – мінус $12,5$ °C, пшениця тверда – мінус $11,5$ °C, ячмінь – мінус $9,5$ °C. Для загартування та проморожування проростків використовували спеціально пристосовані камери ЛВН-200 Г (рис. 11). Після проморожування температуру у камері так само поступово підвищували.



Рис. 11. Морозильна камера ЛВН-200 Г

У подальшому зразки розкладають в контейнери на зволожений фільтрувальний папір, накривають склом (захист від пересихання) і через 7–10 діб здійснюють підрахунок життєздатних рослин (рис. 12, 13).



а *а* *б* *б*
Рис. 12. Проростки після проморожування (а) та відрощування (б)



Рис. 13. Дослідний матеріал на час проведення обліку

2. ОЦІНКА ПОСУХОСТІЙКОСТІ

2.1. Метод пророщування зерна на сахарозі

Матеріали та обладнання для проведення дослідження: зерно зразків, термостат, чашки Петрі, фільтрувальний папір, картонні перетинки, маркер, пінцет, флакон з розпилювачем, дистильована вода, розчин.

Хід роботи

1. Підбір зерна. Досліди проводять у трьох повтореннях (по 100 зерен у кожному), використовуючи виповнене зерно однієї репродукції та однакової фракції (від якості зерен залежить точність даного аналізу, у селекційному матеріалі давніх років репродукцій зменшується відсоток проростання, особливо на розчинах осмотиків).

2. Підбір стандарту. Для оцінки посухостійкості поряд із зразками необхідно вивчати сорти-еталони з різним рівнем стійкості або загально прийнятий районований сорт-стандарт для культури, яку вивчаєте.

3. Приготування розчину. Для приготування розчину беремо дистильовану воду та наважку осмотика (сахароза) відповідної концентрації. Концентрації розчину наведені у таблиці 3, які необхідні для отримання розчинів із потрібним осмотичним тиском.

Таблиця 3. Концентрація розчину сахарози на 100 мл для листків зернових культур (пшениця, ячмінь, тритикале)

Осмотичний тиск, атм	Концентрація сахарози, %
10	11,9
12	13,9
14	15,8
16	17,7
18	19,3
20	21,4
22	22,4
24	23,9

Після отримання розчину його необхідно прокип'ятити протягом 10–15 хв. Це необхідно для попередження розвитку пліснявих грибів та бактерій.

4. Визначення схожості зерна у розчині сахарози. Визначення схожості зерна проводять у чашках Петрі. Попередньо у сушильній шафі стерилізують впродовж 1 год чашки Петрі та 20 хв фільтрувальний папір при температурі 160 °С. Після стерилізації на дно кожної чашки поміщають по дві штуки фільтрувального паперу, маркером підписують кожну чашку (ставлять № зразка, № повторення) та засипають по 100 зерен зразка. Сухе зерно перед тим, як заливати розчином осмотика, зволожують (флаконом з розпилювачем) дезінфікуючим розчином дистильованої води з комерційним препаратом «Білизна» у співвідношенні 3:1 для додаткового знезараження. Тільки після того як воно просохло, заливають осмотиком заданої концентрації по 10 мл у кожну чашку. Поряд із варіантом розчину осмотика ставлять 1–2 чашки цього

ж зразка, які заливають такою ж кількістю (10 мл) дистильованої води для контрольного визначення лабораторної схожості зерен. Після цього чашки Петрі з ним поміщають у термостат MIR-554-PE на 7 діб при температурі 19–21 °C (рис. 14).



Рис. 14. Пророщування зерна у термостаті MIR-554-PE у розчині сахарози

Насіння зразків пророщують в розчині осмотика з оптимальним осмотичним тиском: пшениця м'яка – 16 атм, пшениця тверда – 10 атм, ячмінь – 14 атм, тритикале – 18 атм.

Підрахунок зерна, яке проросло та наклонулося, проводимо на 7 добу (рис. 15).

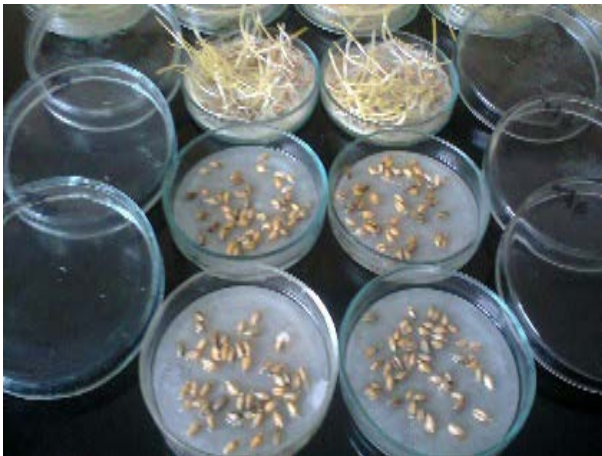


Рис. 15. Зразки зерна на час підрахунку

Підрахунок зерна дає можливість визначити середній відсоток схожості досліджуваних зразків, еталонів та стандарту. Для порівняння зразків поміж собою, з еталонами чи стандартом схожості зерна в розчині осмотика визначають як відсоток до контролю. Однак схожість їх також

необхідно визначати не тільки як відсоток до контролю, але порівнювати із сортом-стандартом, який характеризується високою стійкістю до посухи.

Посуhostійкість сортів визначають шляхом їх групування за рівнем стійкості: нестійкі (0–20 % проростків), слабостійкі (21–40 %), середньостійкі (41–60 %), зі стійкістю вище середньої (61–80 %); високостійкі (81–100 %).

На користь використання даного методу свідчать дані про те, що проростання зерна є найбільш чутливою стадією до дефіциту вологи у розвитку рослин. Вважається, що високий процент проростання зерна на розчинах осмотика свідчить про його стійкість до умов посухи.

2.2. Метод виходу електролітів з тканин рослин

Матеріали та обладнання для проведення дослідження: поліетиленові пакети з фіксатором, фільтрувальний папір, чашки Петрі, дистильована вода, маркер, ножиці, електричні ваги, пробірки, сушильна шафа, водяна баня, кондуктометр або реохордний міст Р-38.

Хід роботи

1. Підбір рослин. Оскільки різні сорти відрізняються різним темпом розвитку, при відборі проб в одну партію слід включати рослини, що знаходяться на одному і тому ж етапі органогенезу. При цьому в аналіз відбирають рослини, які закінчили зростання листя одного ярусу (зазвичай 2-го зверху) головного стебла, приблизно однаково розвинені. На листі повинні бути відсутні ураження хворобами та пошкодження шкідниками.

2. Підбір стандарту. Для оцінки посухостійкості поряд із зразками необхідно вивчати сорт-еталон.

3. Підготовка рослинного матеріалу. У полі зранку зрізують листки



(прапорцеві) з рослин, які знаходяться на VI – VIII етапах органогенезу. Поміщають у поліетиленові пакети (щоб уникнути підсихання чи зав'ядання) та переносять до лабораторії (рис. 16).

Рис. 16. Відбір листків культур у полі

За наявності вологи на листках їх промокають фільтрувальним папером. З листка видаляють центральну жилку та нарізають розміром 5 мм х 5 мм (рис. 17). Наважують по 0,1 г в 6-разовій повторності, чотири з яких зразу засипають у пробірки та заливають по 10 мл дистильованої води.



а

б

Рис. 17. Підготовка рослинного матеріалу до аналізу: а) нарізані листкові пластинки; б) наважка зразка

Два повторення селекційного зразка заливають дистильованою водою по 10 мл та залишають на чотири години для екстракції за кімнатної температури, а потім проводять заміри електропровідності кондуктометром N5721M (рис. 18).



Рис. 18. Заміри електропровідності селекційних зразків кондуктометром N5721M

Наступні два повторення проварюють – пробірки ставлять на водяну баню та кип'ячать продовж 10 хвилин (рис. 19). Після проварювання виймають та охолоджують, після чого проводять виміри.



Рис. 19. Водяна баня для проварювання 4BK

За контроль використовують значення електропровідності розчину, отриманого при виході електролітів із проварених листків. Інші два повторення дослідного матеріалу підсушують в кімнатних умовах (якщо температура повітря становить $+21$ – $+25$ °C) або у сушильній шафі за температури $+25$ °C до 50 % втрати ваги, заливають дистильованою водою, настоюють продовж чотирьох годин і проводять виміри (рис. 20, 21).

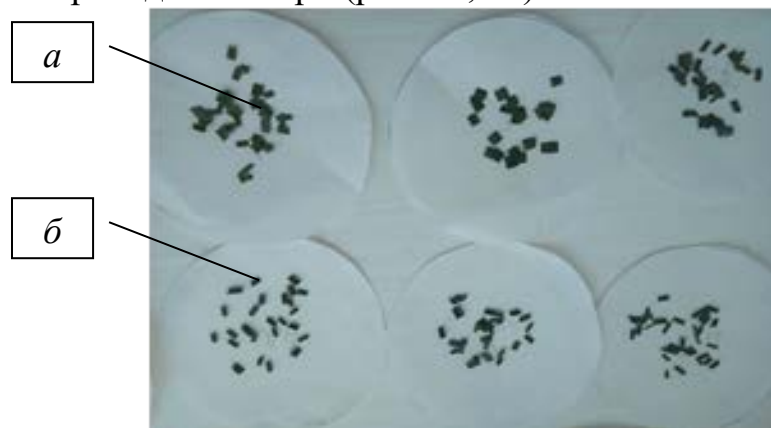


Рис. 20. Рослинні наважки: а – до підсушування; б – після підсушування.



Рис. 21. Рослинні наважки культур у пробірках:
а – підсушені та настояні; б – проварені

4. Результати та обрахунки. Вихід електролітів із тканин листків визначають кондуктометром N5721M (рис. 22).



Рис. 22. Вихід електролітів на кондуктометрі N5721M

Проміри розпочинають у наступній послідовності: 1) налаштування кондуктометра (натиснути кнопку з позначкою S/m); 2) при вимірах контрольного варіанту (проби рослинного матеріалу після проварювання) перемикач встановлюють на поділку S/m 0,3; 3) при вимірах двох інших варіантів (проби рослинного матеріалу після настоювання та підсушування і настоювання) перемикач встановлюють на поділку S/m 0,1; 4) проводять проміри по два рази у кожній пробірці; 5) перед початком вимірів пробірки добре струшують, щоб розчин був однорідний. Отримані результати вносять до журналу. Обрахунки проводять використовуючи програму Microsoft Excel.

Отримані дані вносять до програми у такому порядку: № пробірки; № ділянки; показник з приладу (дві пробірки, по два проміри – чотири значення). Потім кожен показник з приладу множать на відповідний коефіцієнт (0,3 – для провареного варіанту; 0,1 для настояного (4 год) та підсушеного і настояного (4 год), вираховується середнє значення між показниками помноженими на коефіцієнт (табл. 4).

Таблиця 4. Занесення даних промірів рослинного матеріалу до програми Microsoft Excel та обрахунок показників із приладу

№ пробірки	№ зразка	Показник із приладу Sm 0,3 (проба з проварених листків)				Показник із приладу (проба з проварених листків) помножений на коефіцієнт 0,3				Середнє
Варіант 1										
повторення		I	II	III	IV	I	II	III	IV	
1	54	5,8	5,9	5,8	5,9	1,74	1,77	1,74	1,77	1,76
2	55	5,2	5,4	5,2	5,4	1,56	1,62	1,56	1,62	1,59
3	56	6,1	6,3	6,1	6,3	1,83	1,89	1,83	1,89	1,86
4	85	6,4	6,6	6,4	6,6	1,92	1,98	1,92	1,98	1,95
№ пробірки	№ зразка	Показник із приладу Sm 0,1 (проба з настояних листків)				Показник з приладу (проба з настояних листків) помножений на коефіцієнт 0,1				Середнє
Варіант 2										
повторення		I	II	III	IV	I	II	III	IV	
1	54	2,5	2,1	2,5	2,1	0,25	0,21	0,25	0,21	0,23
2	55	2,3	2,4	2,3	2,4	0,23	0,24	0,23	0,24	0,24
3	56	2,9	3,0	2,9	3,0	0,29	0,30	0,29	0,30	0,30
4	85	4,4	4,6	4,4	4,6	0,44	0,46	0,44	0,46	0,45
№ пробірки	№ зразка	Показник із приладу Sm 0,1 (проба з підсушених та настояних листків)				Показник з приладу (проба з підсушених та настояних листків) помножений на коефіцієнт 0,1				Середнє
Варіант 3										
повторення		I	II	III	IV	I	II	III	IV	
1	54	7,2	7,6	7,2	7,6	0,72	0,76	0,72	0,76	0,74
2	55	5,9	5,9	5,9	5,9	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
3	56	4,3	4,2	4,3	4,2	0,43	0,42	0,43	0,42	0,43
4	85	10,4	10,0	10,4	10,0	1,04	1,00	1,04	1,00	1,02

Вихід електролітів визначають за опором розчинів, використовуючи відносну електропровідність: 1) % відношення провідності екстрактів настояних до проварених (даний показник актуальний тільки в тому випадку, коли перед відбором рослини піддавалися у природних умовах стресовому чиннику (атмосферна та комбінована посуха) 2) % відношення провідності екстрактів підсушених та настояних до проварених (табл. 5).

Таблиця 5. Визначення відносного показника виходу електролітів із тканин рослин (проба з проварених листків до проби з настояних)

№ пробірки	№ ділянки	Показник з приладу (проба з проварених листків) помножений на коефіцієнт 0,3	Показник з приладу (проба з настояних листків) помножений на коефіцієнт 0,1	Відносний показник виходу електролітів, % (природний стресовий чинник)
1	54	1,76	0,23	13,1
2	55	1,59	0,24	15,1
3	56	1,86	0,30	16,1
4	85	1,95	0,45	23,1
		Приклад обрахунку: $0,23 \times 100 / 1,76 = 13,1$		

При оцінюванні зразків вказаним методом прийнятий такий розподіл їх за групами стійкості: нестійкі (81–100 %), слабостійкі (61–80 %), середньостійкі (41–60 %), зі стійкістю вище середньої (21–40 %), високостійкі (0–20 %). Цей розподіл стосується тільки показників вимірів після підсушування листків до 50 %. Величина інтенсивності виходу електролітів із тканин листків вегетуючих рослин після дії посухи вказує на ступінь пошкодження клітинної мембрани під впливом стресу і має зворотній зв'язок із посухостійкістю.

Так, на прикладі, наведеному у таблиці 6, показано, що до групи зі стійкістю вище середньої (21–40 %) відносять зразки № 55, № 56, до групи середньостійкої (41–60 %) – № 54, № 85.

Таблиця 6. Визначення відносного показника виходу електролітів із тканин рослин (проба з проварених листків до проби з підсушених та настояних)

№ пробірки	№ ділянки	Показник з приладу (проба з проварених листків) помножений на коефіцієнт 0,3	Показник із приладу (проба з підсушених та настояних листків) помножений на коефіцієнт 0,1	Відносний показник виходу електролітів, % (штучна посуха)
1	54	1,76	0,74	42,0
2	55	1,59	0,59	37,1
3	56	1,86	0,43	23,1
4	85	1,95	1,02	52,3
		Приклад обрахунку: $0,74 \times 100 / 1,76 = 42,0$		

Розрізняють ґрунтову, атмосферну та змішану форму посухи. Перша наростає поступово, і рослини встигають певною мірою до неї пристосуватися, загартуватися, тоді як атмосферна настає раптово.

Так як зернові культури потрапляють під посуху на всіх етапах розвитку, постає важливе завдання створення сортів із стійкістю, яка буде лишатися впродовж усього вегетаційного періоду.

Таким чином, використання цього методу дає можливість оцінювати на більш чутливих етапах розвитку рослин та виділити генотипи з підвищеними адаптивними властивостями.

3. ОЦІНКА ТА ДОБІР МОРОЗОСТІЙКОГО СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ОЗИМИХ ЗЕРНОВИХ

Матеріали та обладнання для проведення дослідження: термостат, морозильна міні-камера ЛВН–200 Г, чашки Петрі, фільтрувальний папір, пергаментний папір, пінцет, олівець, марлеві мішечки, ексікатор, термометр зі шкалою від $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $+40\text{ }^{\circ}\text{C}$, контейнери для пророщування насіння.

Хід роботи

1. Підбір зерна. Для дослідження використовують (по 200 зерен з кожного зразка) виповнене зерно однієї репродукції та однакової фракції.

2. Підбір стандарту. Для оцінки морозостійкості поряд із зразками необхідно вивчати сорт-еталон зі стійкістю вище середньої.

3. Підготовка селекційного матеріалу. У чашки Петрі з фільтрувальним папером на дні засипають по 200 зерен кожного зразка, зволожують проточною водою та ставлять в термостат при температурі $+21\text{ }^{\circ}\text{C}$ до появи проростків. Потім відбирають зерно з проростками довжиною 3–5 мм і поміщають у зволожені водою марлеві мішечки, вкладають пергаментний аркуш (2 см x 2 см) із вказаним номером ділянки. Підготовлені зразки поміщають у скляний ексікатор, а ексікатор у морозильну камеру.

4. Проморожування матеріалу. Перед проморожуванням рослини повинні пройти дві фази загартування. Тому проморожували за схемою: перша фаза загартування за температури $0...+1,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ впродовж 8 діб, друга фаза загартування – 3 доби за температури $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, надалі – зниження до наміченої температури проморожування по $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ на годину. Експозиція становить 24 год. Оптимальною для диференціації проростків за морозостійкістю є температура проморожування: пшениця м'яка – мінус $12,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, пшениця тверда – мінус $11,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, ячмінь – мінус $9,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для загартування та проморожування проростків зернових культур використовують спеціально пристосовані камери ЛВН–200 Г. Після проморожування температуру у камері так само поступово підвищують. У подальшому матеріал висаджують у поле під осінній посів. Підрахунки рослин здійснюють після появи сходів та перезимівлі. Даний спосіб захищено патентом на корисну модель [16].



а



б

Рис. 23. Рослини пшениці озимої після перезимівлі: *а* – III етап органогенезу (кущіння); *б* – XI етап органогенезу (молочна стиглість)

4. ОЦІНКА ТА ДОБІР *IN VITRO* СТІЙКОГО ДО ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР

Багатогранність проблеми стійкості рослин до стресових чинників для її успішного розв'язання потребує інноваційних ефективних підходів. Принципово новим підходом на сьогоднішній день є застосування методів біотехнології, що значно полегшує та прискорює традиційний селекційний процес щодо створення нових ліній і сортів пшениці. Варто зазначити, що за останні десятиліття біотехнологічні підходи набули значного поширення і стали одними з новітніх інструментів сільськогосподарських досліджень [17]. У поєднанні з традиційною практичною селекцією біотехнології належить вагомий внесок у розвиток нових методів генетичного поліпшення рослин та підвищення їх продуктивності, а тому вона успішно застосовується селекціонерами всього світу [18]. Сучасні біотехнології дають змогу значно скоротити терміни добору та оцінки сортів і успішно застосовуються селекціонерами по всьому світу. Біотехнологічні підходи прискорюють селекцію сільськогосподарських культур завдяки скороченню часу, необхідного для створення сортів з поліпшеними характеристиками, а також доповнюють та розширюють генетичну мінливість, що є невід'ємною умовою для отримання нових сортів із заданими ознаками [19].

Особливої актуальності набуває застосування культури тканин і органів *in vitro* – біологічної системи, де відсутні механізми регуляції, що діють на рівні цілого організму [20, 21]. Клітинні технології, засновані на культивуванні *in vitro* тканин та органів рослин, можуть значно полегшити та прискорити традиційний процес створення нових сортів зернових культур [22, 23]. Вони пропонують принципово нові шляхи, такі як соматональна мінливість, клітинна селекція та віддалена гібридизація для створення генетичної різноманітності та добору форм з цінними господарськими ознаками [24]. Метод культури тканин та органів *in vitro* нині широко використовується для вирішення прикладних завдань селекції різних сільськогосподарських рослин [25]. Особливістю культури соматичних тканин рослин є можливість регенерації повноцінних організмів завдяки властивості тотипотентності рослинної клітини [21, 26]. Культура ізольованих тканин є екологічно безпечною, малозатратною за часом і ресурсами технологією для вивчення стрес-стійкості форм зернових, що базується на використанні калюсних культур та культивуванні *in vitro* клітин у специфічних умовах [27]. Ці підходи застосовуються для скринінгу стійких форм, створення та ідентифікації соматональних варіантів з підвищеною стійкістю, а також для вивчення реакції клітин на токсичність селективних агентів [28].

У злаків, як правило, оцінку *in vitro* проводять на калюсах, оскільки інші технології, зокрема протопластів, ембріокультури, культури пиляків ще недостатньо розроблені [18, 19]. Перевагами калюсних культур порівняно з клітинними є менший період необхідного культивування і, як наслідок, менша генетична нестабільність [21]. За умов *in vitro* можна задавати різні параметри, подібні до тих, в яких у подальшому зростатимуть дорослі рослини, у тому числі і екстремальні умови вирощування. При цьому стійкі форми можна

ідентифікувати шляхом порівняння росту калюсів на селективному середовищі за присутності і відсутності стресового агента [27, 28]. На даний час селективні системи для добору стійких до водного дефіциту форм розроблені для багатьох злакових культур. Показана можливість використання методу *in vitro* для тестування селекційного матеріалу на стійкість до несприятливих факторів середовища [29, 30].

На клітинному рівні стійкість до водного дефіциту виявляється у толерантності клітин до наявності у живильному середовищі осмотично активних речовин. Для імітації *in vitro* стресового ефекту водного дефіциту застосовують такі осмотики як поліетиленгліколь (ПЕГ) або маніт [30, 31]. Варто зазначити, що у більшості робіт для отримання посухостійких рослин як селективний фактор використано ПЕГ. Через його високу молекулярну масу ПЕГ не може проникати крізь мембрану клітини, щоб змінити її осмотичний потенціал [30]. Механізм моделювання ним умов дефіциту вологи в культивованих клітинах подібний до того, який спостерігають у клітинах інтактних рослин за умов посухи [32]. Значно рідше під час добору та скринінгу *in vitro* стійких до водного стресу зразків застосовують маніт. Слід відмітити, що, порівняно з непроникаючим ПЕГ, маніт проникає у рослинну клітину та знижує нормальний водний потенціал, чим спричиняє зневоднення й гальмування багатьох фізіологічних і метаболічних процесів [27]. Показано позитивну кореляцію між виживаністю калюсів пшениці на селективних середовищах із різними концентраціями маніту й життєздатністю цих генотипів у польових умовах [31]. Встановлено [30], що селективна система з манітом є ефективнішою порівняно з ПЕГ, оскільки забезпечує повнішу елімінацію чутливих клітин і вищу життєздатність рослин-регенерантів.

Матеріали та обладнання для проведення досліджень: незріле колосся, взяте з поля на 12–15 добу після запилення; чашки Петрі, лабораторні столи, шафа для зберігання реактивів, холодильник для зберігання концентрованих розчинів живильних середовищ, аналітичні ваги, водяна баня, магнітний змішувач, автоклав, сушильна шафа для стерилізації сухим жаром, ламінарний бокс, бактерицидні лампи, спиртівки, пінцети, посуд для приготування і зберігання живильних середовищ, піпетки градуйовані, скляні палички різних розмірів, ножиці, вата, етиловий спирт 96 %, етиловий спирт 70 %, пакувальна плівка, промисловий препарат «Білизна», 0,01 Н розчин соляної кислоти, стерильна дистильована вода, медичні маски, білі халати, заздалегідь приготовлене середовище Мурасіге-Скуга (МС), ґрунтова суміш.

Хід роботи

1. Відбір зразків в полі та стерилізація вихідного матеріалу. У фазі молочної стиглості на 12–15 добу після запилення рослин в польових умовах зрізають молоде колосся. В подальшому його переносять у лабораторні умови, після чого відокремлюють зернівки центральної частини колосу та поміщають в стерильні чашки Петрі (рис. 24).

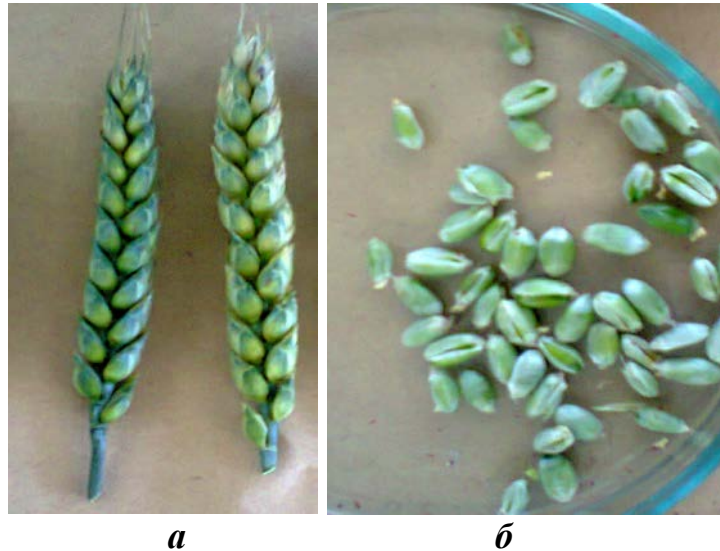


Рис. 24. Колоси донорної рослини (а) та відокремлені з них зернівки (б)

Незріле зерно польових рослин витримують дві доби у холодильнику при температурі $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$, після чого стерилізують в умовах ламінар-боксу за розробленою нами методикою у декілька етапів: 1) 70 % етанол – 3 хв; 2) розчин гіпохлориту натрію, збагачений активним хлором (промисловий препарат «Білизна»), у концентрації 30 % – 5 хв; 3) 0,01 Н розчин соляної кислоти – 3 хв; 4) 3-кратне промивання стерильною дистильованою водою. Розроблений спосіб стерилізації захищено патентом на корисну модель [33].

2. Введення в культуру *in vitro* та індукція калюсоутворення. У подальшому з асептичних зернівок із допомогою пінцету і скальпеля виділяють зародки і висаджують у стерильні чашки Петрі з живильним середовищем Мурасіге-Скуга для індукції калюсоутворення, поміщуючи їх щитками вниз на відстані 8–10 мм один від одного (рис. 25).

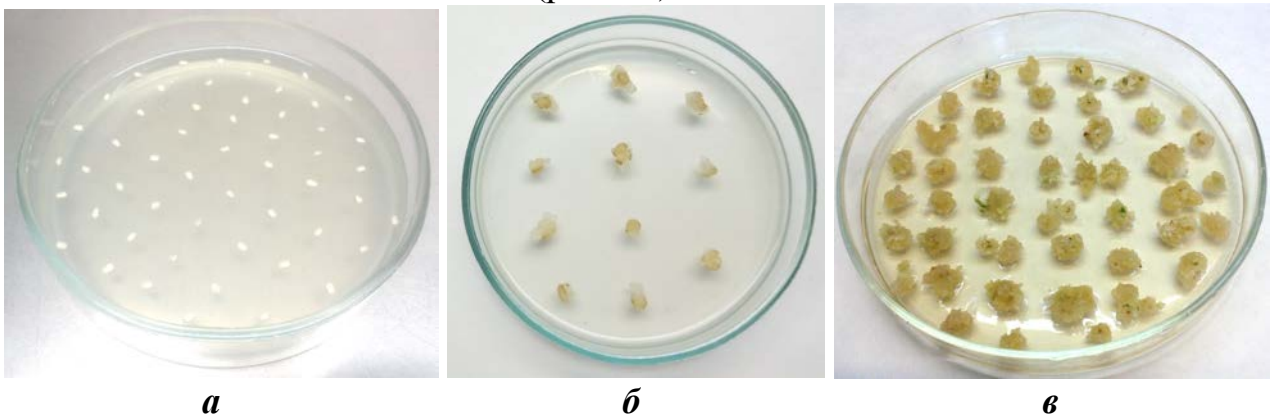


Рис. 25. Етапи індукції калюсу з незрілих зародків: *а* – вихідні експланти; *б* – початок калюсоутворення; *в* – сформовані калюси

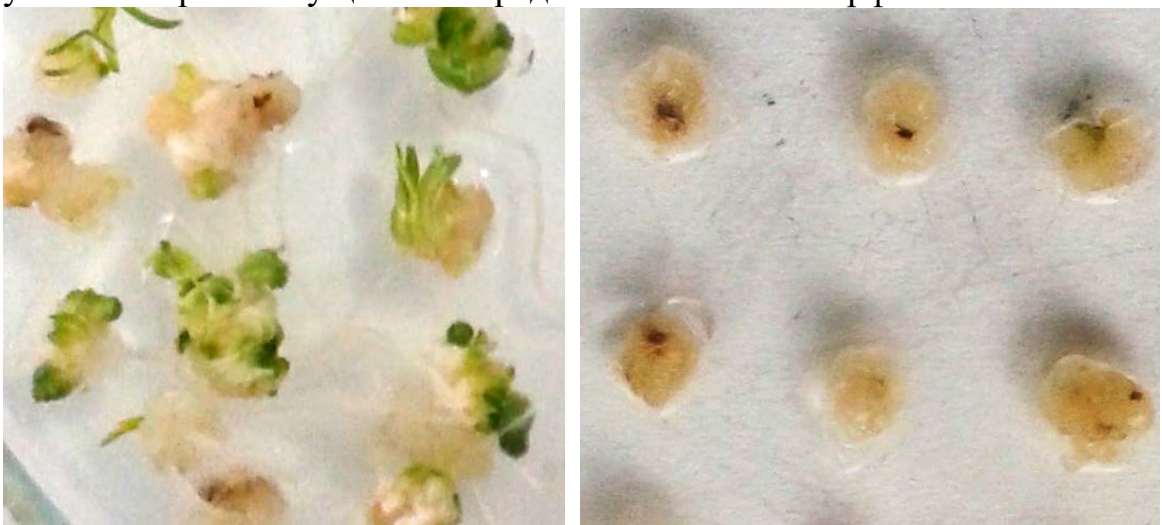
У процесі дослідження потрібно періодично стерилізувати робочі інструменти вогнем на спиртівці. Чашки Петрі накривають верхньою їх частиною, обгортають краї пакувальною плівкою задля уникнення попадання інфекції і поміщають в термостат без освітлення за температури $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 21 добу до отримання калюсу. Культуру калюсної тканини отримували на середовищі МС, яке додатково містило 2 мг/л 2,4-Д (табл. 7).

Таблиця 7. Склад живильного середовища Мурасіге-Скуга для культивування ізолюваних тканин рослин [34]

Компоненти середовища	Вага, мг	Компоненти середовища	Вага, мг
Макросолі		Мікросолі	
NH ₄ NO ₃	1650	H ₃ BO ₃	6,2
KNO ₃	1900	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025
KH ₂ PO ₄	170	KI	0,83
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	37,3	MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3
Вітаміни		Вуглеводи	
Мезоінозит	100,0	Сахароза	30000
Гліцин	2,0	Агар-агар	8000
PP	0,50	Стимулятори росту	
B ₁	0,10	2,4 Д	2,0
B ₆	0,50		

На початку культивування на експлантах утворюється калюсна тканина і вони збільшуються у розмірах (рис. 25). В подальшому отримані калюси переносять на аналогічне свіже живильне середовище і далі вирощують при освітленні 3–4 клк, відносній вологості повітря 70 % і 16-годинному фотоперіоді ще протягом трьох тижнів.

Після трьох тижнів культивування зазвичай формується два типи калюсу, які розрізняють за морфологічними властивостями: морфогенний калюс – здатний до регенерації і містить агрегати клітин із щільних сегментів жовтувато-білого кольору з ділянками зелених хлорофіловмісних клітин; неморфогенний калюс – пухкий і водянистий, при подальшому культивуванні якого спостерігався некроз (рис. 26). Варто зазначити, що для подальшого добору *in vitro* практичну цінність представляють саме морфогенні калюси.



a

б

**Рис. 26. Типи калюсів пшениці м'якої озимої:
a – морфогенні калюси; *б* – неморфогенні калюси**

3. Умови добору стійких до водного дефіциту калюсних культур. Добір *in vitro* селекційного матеріалу зернових проводиться згідно розробленого нами способу, який захищено патентом на корисну модель [35]. Одержані морфогенні калюси пересаджують у чашки Петрі і культивують за температури 26 °С в темряві на селективному середовищі протягом трьох пасажів. Тривалість 1 пасажу – 21 доба. Як селективний агент застосовують маніт, який додають до середовища МС у концентрації 0,6 М. Контроль – середовище без маніту. В кінці кожного пасажу визначають частку живих калюсів як відсоткове відношення кількості життєздатних калюсів до їх початкової кількості. При цьому до мертвих відносять калюси, які побуріли на 2/3 своєї поверхні й більше, а решту вважають живими (рис. 27).

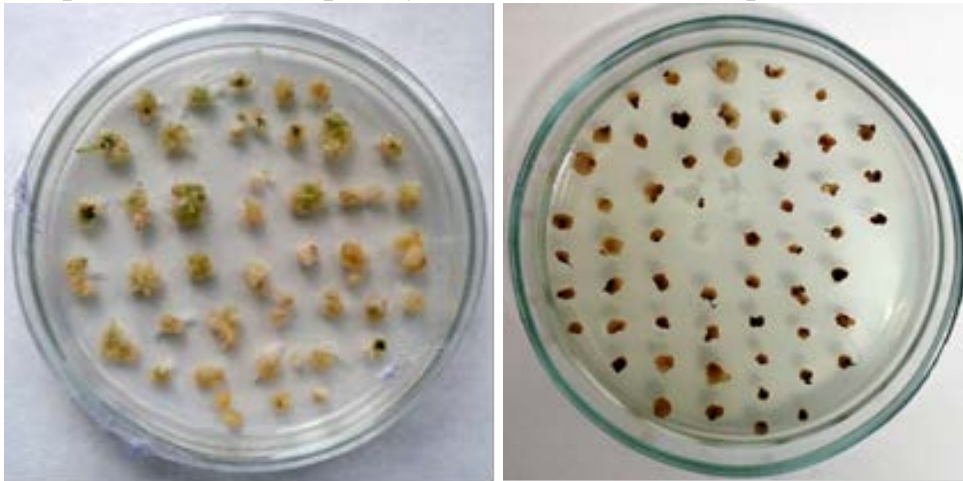


Рис. 27. Стійкі (а) та нестійкі (б) калюси пшениці озимої

4. Регенерація пагонів та отримання рослин-регенерантів. Для індукції морфогенезу калюси переносять на модифіковане середовище МС для регенерації, доповнене 1 мг/л 6-бензиламінопурину та 0,5 мг/л індолілоцтової кислоти. Отримані рослини-регенеранти по мірі розвитку переміщують на модифіковане безгормональне середовище МС з половинним вмістом макросолей для укорінення. Укорінені регенеранти пересаджували у горщики з ґрунтовою сумішшю і поміщають у вологу камеру на 7–14 діб, після чого їх висаджують у ґрунт (рис. 28). Для цього відбирають рослини з добре розвиненими листками та кореневою системою. Потім їх яровизують в холодильній камері при температурі +4 °С і далі вже вирощують в умовах вегетаційної кімнати до фази повної стиглості зерна.



Рис. 28. Регенерація пагонів (а), укорінення (б) та переведення рослин-регенерантів (в) в умови ґрунту

Таким чином, використання тканинних і клітинних культур дає можливість ефективно прискорити селекційний процес і вважається важливим доповненням до класичних методів селекції зернових. Впровадження інноваційних біотехнологічних розробок надасть селекціонерам потужні інструменти для виявлення форм із цінними господарськими ознаками. Дослідження, спрямовані на розв'язання цих проблем, є актуальними і значущими, оскільки орієнтовані на розвиток розуміння реакцій рослин на дію стресу та широке впровадження нових підходів для вирішення прикладних завдань селекції злакових.

ВИСНОВКИ

1. Висвітлені методичні аспекти різних способів оцінки та добору рослин зернових культур (пшениця, ячмінь, тритикале) за стійкістю до абіотичних стресів в умовах нестійкого клімату дадуть змогу об'єктивно характеризувати рівень адаптації перспективних зразків і прогнозувати їхню реакцію у відповідних екологічних умовах.

2. Комплексне оцінювання генотипів зернових культур на різних етапах розвитку рослин дозволяє достовірно оцінити вихідний матеріал за морозо-, посухостійкістю, прискорити селекційний процес та ефективно відібрати генетичні джерела з цінними господарськими ознаками.

3. Вдосконалені біотехнологічні способи доповнять методологію задля розширення генетико-селекційного потенціалу зернових та створення нових сортів із цінними селекційними властивостями.

4. Подані методичні рекомендації сприятимуть розв'язанню проблеми стійкості зернових колосових культур до несприятливих кліматичних чинників та впровадженню нових підходів для вирішення прикладних завдань сучасної селекції.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Ткачук В.І. Інновації як фактор підвищення ефективності виробництва зерна. *Ефективна економіка*. 2014. № 2. С. 1–3.
2. Васильківський С.П., Паустовський В.М., Худолій О.Л. Проблема реалізації потенціалу продуктивності сучасних сортів озимої пшениці. *Аграрні вісті*. 2002. № 2. С. 6–8.
3. Пірич А.В. Морозостійкість нових сортів пшениці м'якої озимої миронівської селекції. *Миронівський вісник*. 2018. Вип. 7. С. 85–92.
4. Лихочвор В.В., Петриненко В.Ф., Іващук П.В. Зерновиробництво. Львів: НВФ «Українські технології». 2008. 624 с.
5. Дем'янюк О. С. Зміни клімату – глобальна екологічна і продовольча проблема людства. *Збалансоване природокористування*. 2016. Вип. 4. С. 6-13.
6. Рибалка О.І. Геноміка, транскриптоміка, протеоміка і біоінформатика на службі сучасної селекції пшениці. *Збірник наукових праць Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення*. 2013. Вип. 21 (61). С. 18–38.
7. Базалій В.В., Ларченко О.В., Лавриненко Ю.О., Базалій Г.Г. Адаптивний потенціал сортів пшениці м'якої озимої залежно від умов вирощування. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2009. Т. 6. С. 272–276.
8. Дубовик Н.С., Кириленко В.В., Дергачов О.Л. Вихідний матеріал для селекції пшениці м'якої озимої за пластичністю та стабільністю. *Вісник ЦНЗ АПВ Харківської області*. 2015. Вип. 18. С. 132–138
9. Васильківський С.П., Гудзенко В.М., Кочмарський В.С., Кириленко В.В. Реалізація потенціалу сортів зернових культур – шлях вирішення продовольчої проблеми. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. Т. 21. С. 47–51.
10. Raveena, Bharti R., Chaudhary N. Drought resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.): a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2019. Vol. 8, № 9. P. 1780–1792.
11. Мусянко М.М. Фізіологія рослин. Київ: Либідь, 2005. С. 135–255.
12. Blum A. The abiotic stress response and adaptation of triticale – a review. *Cereal Research Communications*. 2014. Vol. 42, Iss. 3. P. 359–375.
13. Mwadzingeni L., Shimelis H., Dube E., Laing M.D., Tsilo T.J. Breeding wheat for drought tolerance: Progress and technologies. *Journal of Integrative Agriculture*. 2016. Vol. 15. № 5. P. 935–943.
14. Пикало С., Демидов О., Юрченко Т., Хоменко С., Гуменюк О., Харченко М., Прокопик Н. Методи оцінки посухостійкості селекційного матеріалу пшениці. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2020. Вип. 82. С. 63–79.
15. Пикало С.В., Демидов О.А., Юрченко Т.В., Рибка К.М., Харченко М.В., Прокопик Н.І. Методи оцінки морозостійкості селекційного матеріалу пшениці. *Екологічні науки*. 2021. № 2 (35). С. 82–89.
16. Спосіб оцінювання та добору морозостійкого селекційного матеріалу озимих зернових культур: пат. 153824 Україна: МПК А01Н 1/04. № 202202833; заявл. 08.08.2022; опубл. 06.09.2023, Бюл. № 36. 5 с.

17. Дубровна О.В., Моргун Б.В., Бавол А.В. Біотехнології пшениці: клітинна селекція та генетична інженерія. Київ: Логос, 2014. 375 с.
18. Моргун В.В., Дубровна О.В., Моргун Б.В. Сучасні біотехнології отримання стійких до стресів рослин пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. 2016. Т. 48, № 3. С. 196–214.
19. Дубровна О.В., Чугункова Т.В., Бавол А.В., Лялько І.І. Біотехнологічні та цитогенетичні основи створення рослин, стійких до стресів. Київ: Логос, 2012. 428 с.
20. Бавол А.В., Дубровна О.В., Лялько І.І. Регенерація рослин із експлантів верхівки пагона проростків пшениці. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2007. Т. 5, №1/2. С. 3–10.
21. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ: Логос, 2005. 730 с.
22. Гончарук О.М., Бавол А.В., Дубровна О.В. Морфогенний потенціал високопродуктивних сортів озимої пшениці в культурі апікальних меристем пагонів. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2011. Т. 11. С. 237–241.
23. Dodig D., Zorić M., Mitić N., Nikolić R., Šurlan-Momirović G. Tissue culture and agronomic traits relationship in wheat. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2008. Vol. 95, N 1. P. 107–114.
24. Гончарук О.М., Бавол А.В., Дубровна О.В. Морфогенез у культурі апікальних меристем пагонів високопродуктивних сортів озимої пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*. 2014. Т. 46, № 3. С. 245–251.
25. Бавол А.В., Дубровна О.В., Лялько І.І. Регенерація рослин із різних типів експлантів м'якої пшениці. *Фізіологія і біохімія культурних рослин*. 2008. Т. 40, № 2. С. 150–156.
26. Бавол А.В., Дубровна О.В., Лялько І.І. Регенерація рослин із експлантів верхівки пагона проростків пшениці. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2007. Т. 5, №1/2. С. 3–10.
27. Дубровна О.В., Моргун Б.В. Клітинна селекція пшениці на стійкість до стресових чинників довкілля. *Фізіологія і біохімія культурних рослин*. 2009. Т. 41, № 6. С. 463–476.
28. Зінченко М.О., Дубровна О.В., Бавол А.В. Селекція *in vitro* м'якої пшениці на комплексну стійкість до метаболітів збудника офіобольозу та водного дефіциту. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2012. Т. 10, № 1. С. 20 – 27.
29. Gawande N.D., Mahurkar D.G., Rathod T.H., Jahagirdar S.W., Shinde S.M. In vitro screening of wheat genotypes for drought tolerance. *Annals of Plant Physiology*. 2005. Vol. 19, Iss. 2. P. 162–168.
30. Дубровна О.В., Бавол А.В., Зінченко М.О., Лялько І.І., Круглова Н.М. Вплив осмотичних речовин на калюсні лінії м'якої пшениці, стійкі до культурального фільтрату *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2011. Т. 9, № 1. С. 10–16.
31. Ahmed A. Response of immature embryos in vitro regeneration of some wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under different osmotic stress of mannitol. *Journal of Agricultural Science*. 1999. Vol. 30, Iss. 3. P. 25–34.

32. Butt A., Ahmed N., Mubin M. et al. Effect of PEG and mannitol induced water stress on regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 2015. Vol. 52. N 4. P. 1025–1033.

33. Спосіб стерилізації незрілого насіння пшениці та тритикале для введення в культуру *in vitro*: пат. 152327 Україна: МПК А01Н 1/00. No 202202662, заявл. 25.07.2022; опубл. 11.01.2023 р., Бюл. № 2. 5 с.

34. Murashige T. Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. P. 473–497.

35. Спосіб відбору *in vitro* посухостійких генотипів тритикале озимого: пат. 132656 Україна. МПК А01Н 4/00; заявл. 16.07.2018; опубл. 11.03.2019, Бюл. № 5.

Видавець ФОП Ямчинський О.В.
03022, Київ, вул. Васильківська, 32
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру
суб'єкта видавничої справи ДК № 6554 від 26.12.2018 р.

Формат 60×84/16. Наклад 100 пр. Ум. друк. арк. 2,5. Зам. № 290.

Виготовлювач ТОВ «ЦП «КОМПРИНТ»
03022, Київ, вул. Васильківська, 32
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру
суб'єкта видавничої справи ДК № 4131 від 04.08.2011 р.