

## КЛІТИННА СЕЛЕКЦІЯ КАЛЮСНИХ КУЛЬТУР *TRITICUM AESTICUM* L. НА СТІЙКІСТЬ ДО ЗБУДНИКА БАЗАЛЬНОГО БАКТЕРІОЗУ

Л. М. БУЦЕНКО, кандидат біологічних наук, доцент

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України*

Ю. В. КОЛОМІЄЦЬ, доктор сільськогосподарських наук, доцент

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

E-mail: julyja@i.ua

<https://doi.org/10.31548/dopovidi2019.04.002>

**Анотація.** Зростання кількості і шкодочинності бактеріальних хвороб у сучасних умовах вирощування зернових культур робить необхідним використання у виробництві сортів пшениці, які характеризуються якісним врожаєм за високої стійкості до фітопатогенних бактерій. **Мета досліджень.** Відібрати методом прямої клітинної селекції калюсні культури *Triticum aestivum* L., що характеризуються високими значеннями ростового індексу і регенераційним потенціалом за умов спричиненого *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* бактеріального стресу. **Методи досліджень.** Матеріалом для селекційної роботи служило насіння озимої пшениці сортів Смуглянка, Фаворитка, Столична, Подолянка. Приготування живильних середовищ, введення в культуру і субкультивування проводили із застосуванням традиційних методик. **Результати.** Встановлено, що клітинну селекцію на стійкість до збудника базального бактеріозу можна здійснювати для сортів Подолянка і Столична за сублетальної концентрації 0,8 % ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400, сорту Фаворитка – 0,6 %, сорту Смуглянка – 0,4 %. Методом клітинної селекції отримані стійкі до *P. syringae* pv. *atrofaciens* здатні до регенерації калюсні лінії пшениці сортів Подолянка, Столична, Фаворитка і Смуглянка.

**Ключові слова:** калюс, *Triticum aestivum* L., клітинна селекція, збудник базального бактеріозу

**Актуальність.** В Україні серед зернових культур *Triticum aestivum* L. належить перше місце. Вона займає близько 6 млн га, що становить понад 22 % усіх посівних площ та майже 42% посівів зернових культур [1]. Цінність культури визначається складом зерна, яке містить до 13–15% білка, 2 % жирів і 79 % вуглеводів, залежно від сорту і умов

вирощування [2]. Білок насіння пшениці характеризується унікальним амінокислотним складом, який наближається за співвідношенням і вмістом амінокислот до повноцінного білка тваринного походження. У білку зерна пшениці міститься: лізину – 35, метіоніну – 53, триптофану – 86, валіну – 71, ізолейцину – 63, лейцину

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

– 74, фенілаланіну – 83, треоніну – 55 %, які добре засвоюються людським організмом [3].

У сучасних умовах вирощування зернових культур необхідно приділяти увагу використанню у виробництві сортів пшениці, які відрізняються якісним врожаєм за високої стійкості до збудників хвороб, у тому числі бактеріальних. Одним з основних збудників бактеріальних хвороб пшениці у світі і в Україні впродовж багатьох років є *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* – збудник базального бактеріозу [4, 5, 6, 7]. Цей фітопатоген уражує рослини в усіх фазах розвитку, знижує врожайність та погіршує якість зерна. Постійна присутність *P. syringae* pv. *atrofaciens* у фітосфері та загроза виникнення епіфітотій за настання сприятливих для розвитку патогена погодних умов робить необхідним вирощування стійких до збудника базального бактеріозу сортів пшениці.

#### **Аналіз літературних джерел, постановка проблеми.**

Перспективним підходом до створення стійких до бактеріальних хвороб сортів є використання методу прямої клітинної селекції на основі культури ізольованих клітин, тканин і органів рослин *in vitro*. Метод прямої селекції використовується також для виділення мутантних форм калюсних культур, стійких до гербіцидів, антибіотиків, токсинів патогенів, важких металів, посухи і

засолення [8]. В основі методу лежить підбір селективних концентрацій токсичних речовин у складі живильних середовищ. Ефективність використання методу прямої клітинної селекції на стійкість до збудників офіобольозної кореневої гнилі *G. graminis* var. *tritici*, фузаріозу колосу *Fusarium graminearum* Schwabe, септоріозу колосу *Septoria nodorum* була продемонстрована для низки сортів пшениці. Водночас для створення селективних умов автори вводили вклад живильного середовища культуральний фільтрат (КФ) гриба в різних концентраціях. За даними С. І. Волощук та ін. середня сублетальна концентрація КФ *Fusarium graminearum* Schwabe становила 25–27% і тривалість періоду субкультивування з КФ 4 тижні [9]. Частина стійких варіантів за селекції *in vitro* на рівні проліферуючого калюсу складала порядку  $10^{-4}$ , тоді як на рівні регенераційного калюсу – до  $10^{-3}$ . У роботі А. В. Бавол методом прямої клітинної селекції здійснено добір калюсних ліній пшениці сорту Зимоярка, стійких до КФ *G. graminis* var. *tritici* в концентрації 50 % [10]. Показано, що стійкі калюсні лінії, характеризуються стабільно-гетерогенною структурою клітинних популяцій, постійним рівнем росту (5–7 %) і схожим типом структурних перебудов хромосом. Калашніковою О. А. вперше розроблені індивідуальні схеми

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

селекції *in vitro* пшениці на стійкість до *Septoria nodorum* і встановлено, що для калюсної тканини пшениці доцільно використовувати 20 % КФ *Septoria nodorum* [11].

**Мета досліджень.** Відібрати методом прямої клітинної селекції калюсні культури *Triticum aestivum* L., що характеризуються високими значеннями ростового індексу і регенераційним потенціалом на живильних середовищах в умовах бактеріального стресу, спричиненого *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch 1920) Young, Dye & Wilkie 1978.

**Матеріали і методи дослідження.** Для дослідження використано штам *P.syringae* pv. *atrofaciens* 9400 – виділений з листя пшениці ярої сорту Рання 93 у фазі кушіння (Київська область), який зберігається у колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології НАН України. Матеріалом для селекційної роботи було насіння озимої пшениці сортів Смуглянка, Фаворитка, Столична, Подолянка, яке культивували в умовах лабораторії на безгормональному живильному середовищі Мурасіге і Скуга (Murashige, Skoog, 1962) (МС). Для отримання калюсу використовували сегменти молодих листків, стебла, коренів та насіння, стерилізацію експлантатів здійснювали 16,5 % розчином перекису водню в ламінарному боксі безпосередньо

перед розміщенням на живильне середовище. Приготування живильних середовищ, введення в культуру і субкультивування проводили із застосуванням традиційних методик [12]. Для індукції калюсоутворення і пасирування калюсу використовували живильне середовище МС, доповнене 6-бензиламінопурином (6-БАП), 2,4-дихлор-феноксіоцтовою кислотою (2,4-ДХФ), кінетином, індолілоцтовою кислотою (ІОК) у різних співвідношеннях (табл. 1). Для моделювання бактеріального стресу до складу живильного середовища додавали інактивовані клітини (ІК) *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400 в концентраціях 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 та 1,0 %. Як контроль використовували живильне середовище без стресового чинника. Вирощування калюсних культур проводили за температури 22–24 °С без освітлення. Кожні 21–24 доби здійснювали пасирування калюсних тканин. В кінці циклу вирощування визначали масу сирого калюсу і ростовий індекс [12]. Індекс стабільності стійкості (резистентності) обраховували як відношення кількості калюсних колоній в третьому пасажі до кількості калюсних колоній в першому пасажі, виражене у відсотках. Для цитологічних досліджень первинних і пасированих калюсних культур готували

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

тимчасові роздавлені препарати ділянок калюсу розміром не більше 2,0 мм, які поміщали на предметні скельця і фарбували водним розчином сафраніну, ДНК – за Фельгеном [13]. Препарати аналізували під мікроскопом Sigeta MB-201. Обсяг вибірки становив не менше 30 клітин кожного типу. Статистичну обробку результатів виконували за допомогою пакету прикладних програм STATISTICA v.6.0.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Першим етапом роботи було вивчення впливу гормонального складу живильного середовища на процес індукції калюсогенезу. Для проведення цього

експерименту було випробувано 9 модифікацій середовища МС, доповненого ауксинами (ІОК, 2,4-ДХФ) та цитокінінами (6-БАП, кінетин), на яких вирощували листові експлантати із стерильних проростків пшениці сорту Смуглянка.

Встановлено, що на безгормональному живильному середовищі (МС1), а також за введення до складу середовища тільки ауксинів (МС8) або цитокінінів (МС9) індукції калюсогенеза не відбувалося, або спостерігали початок утворення калюсу з частотою 4,2–9,6 % (табл. 1).

### 1. Частота калюсоутворення в культурі експлантатів *Triticum aestivum* L. на різних модифікаціях живильних середовищ МС

Варіант живильного середовища	Концентрація регулятора росту, мг/л				Частота калюсоутворення, %
	ІОК	2,4-ДХФ	Кінетин	6-БАП	
МС1	–	–	–	–	4,2±0,6
МС2	1	–	–	0,2	30,1±1,7
МС3	2	–	–	1	28,7±2,2
МС4	–	3,0	–	0,5	93,2±2,3*
МС5	2	–	0,5	–	24,3±1,2
МС6	1	1	1	1	68,8±2,8
МС7	1	1	–	0,5	81,5±4,3
МС8	1	1	–	–	8,2±1,1
МС9	–	–	1	0,5	9,6±1,4

\* – статистично достовірні відмінності при  $p < 0,05$

Кращі результати були отримані під час використання ауксинів в поєднанні з цитокінінами (МС2, МС3, МС4, МС5, МС6, МС7). Водночас на окремих варіантах середовищ (зокрема, МС5 з 2,0 мг/л ІОК і 0,5 мг/л кінетину) відзначений

процес калюсогенеза, однак калюс був невеликий і надалі майже не розвивався. Вища частота індукції калюсу до 68,8 % була на середовищі МС6, доповненому 1,0 мг/л ІОК, 1,0 мг/л 2,4-ДХФ, 1,0 мг/л кінетином, 1,0 мг/л 6-БАП. Проліферація калюсу з

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

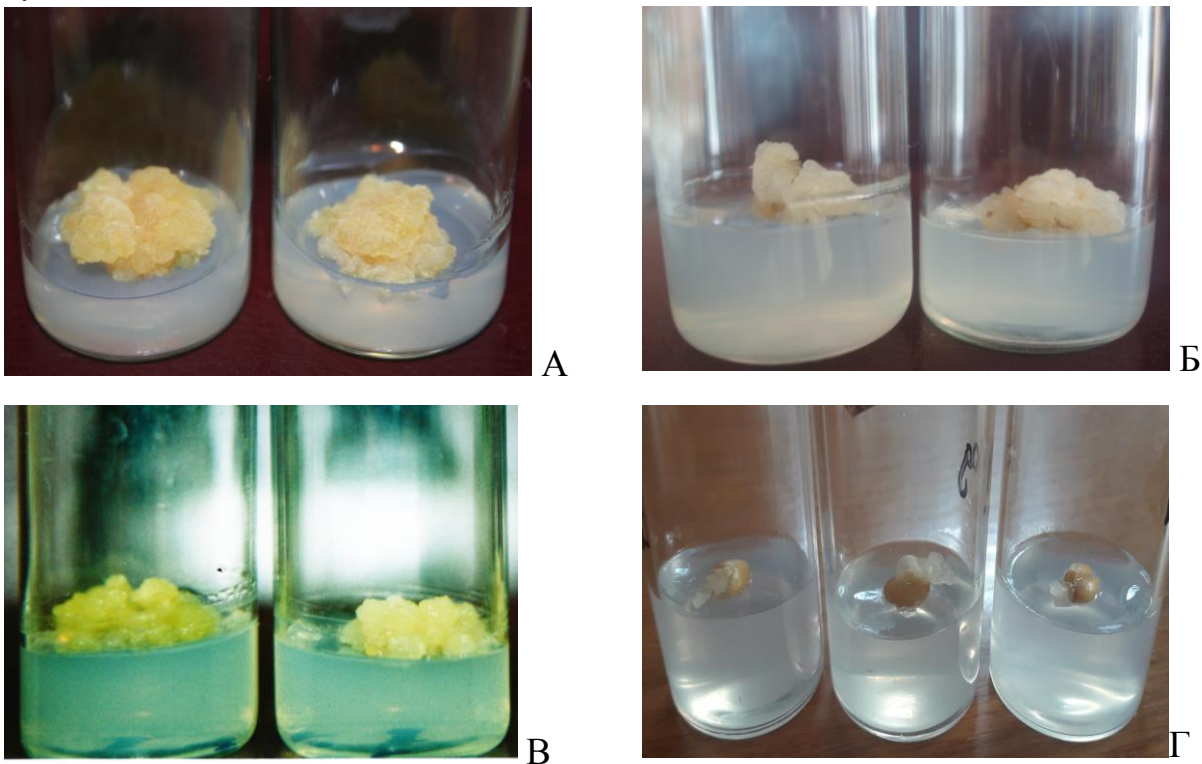
частотою 81,5 % спостерігалася на середовищі МС7, що містить 1,0 мг/л ІОК, 1,0 мг/л 2,4-ДХФ та 0,5 мг/л 6-БАП. Максимальна частота калюсоутворення була одержана на живильному середовищі МС4, доповненому 3,0 мг/л 2,4-ДХФ і 0,5 мг/л 6-БАП, за таких умов частота індукції калюсогенезу досягала 93,2 % і була достовірною вище у порівнянні з іншими варіантами досліду.

Запропоноване модифіковане середовище МС4 забезпечувало вищий відсоток індукції калюсогенезу порівняно з відомими із літератури середовищами. Так, максимальну частоту утворення калюсу (71,7 %) у пшениці сортів Kohsar і Kyber-87 N. Sabahat і співавт. відзначали на середовищі МС з 3 мг/л 2,4-ДХФ [14]. Для кращої індукції калюсогенезу Н. Rashid і співавт. у складі середовища використовували два ауксини і один цитокінін. У цих дослідженнях максимальна частота калюсогенезу до 81,2 % з експлантатів була отримана на середовищі МС, доповненому 2 мг/л 2,4-ДХФ, 0,1 мг/л ІОК і 0,5 мг/л 6-БАП [15]. У той же час U. Rashid і співавт. під час отримання калюсу з міжвузля і листків пшениці вказували на ефективність використання в середовищі МС 2,0-

3,0 мг/л 2,4-ДХФ і 0,1 мг/л кінетину [16].

Нами встановлено, що за культивування експлантатів листків, апікальних меристем коріння і стебла (міжвузля) на більшості аналізованих живильних середовищ вже на 20–24 добу відбувалася індукція калюсогенезу. Калюс, отриманий з різних типів експлантатів пшениці, мав морфологічні відмінності (рис. 1). З сегментів стебла зазвичай формувався щільний бежевий, іноді з білими ділянками калюс (рис. 1А). Калюсна тканина отримана з експлантатів апікальних меристем коріння і листків, також була щільною і мала зелене, або світло-зелене з бежевими вкрапленнями забарвлення (рис. 1Б, 1В). Морфологічна характеристика калюсу не залежала від використаних нами модифікацій живильного середовища.

Таким чином, індукція калюсогенезу пшениці залежала не тільки від складу живильного середовища, але і від типу експлантатів. Кращі показники калюсоутворення відзначені за використання в якості експлантатів листка або стебла, у яких частота утворення калюсу і його приріст на оптимальних середовищах був до 1,5–2,9 разів вище, ніж з апікальних меристем кореня.



**Рис. 1. Проліферація калюсної тканини: А – з сегментів стебла, Б – апікальних меристем коріння, В – листків, Г – насіння.**

Для відбору клітинних ліній пшениці, стійких до дії збудника базального бактеріозу, використовували листові експлантати та в якості базового живильного середовища модифіковане нами МС4 із додаванням селективного чинника інактивованих за температури 100°C клітин (ІК) *P. syringae* pv. *atofaciens* 9400 в концентраціях 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 та 1,0 %. Основною фітотоксичною складовою ІК є ліпополісахарид (ЛПС). Використання ЛПС *P. syringae* pv. *Atrofaciens*, як селективного чинника за відбору стійких ліній стало можливим завдяки даним, які було отримано в

результаті проведення досліджень, що підтвердили його токсичність для рослин пшениці та мутагенність в рослинній тест-системі [17].

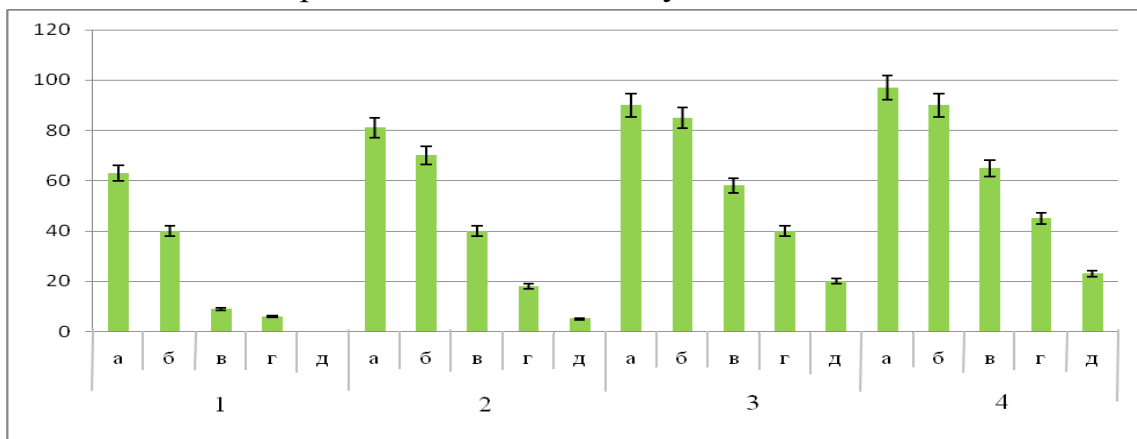
Для встановлення сублетальної концентрації ІК *P. syringae* pv. *atofaciens* 9400, яка необхідна для здійснення клітинної селекції, було вивчено стійкість генотипів пшениці до фітотоксичних метаболітів збудника. Відмінності вивчених генотипів за реакцією на фітотоксичні метаболіти в середовищі найбільш чітко проявилися за основними показниками – частотою проліферації і приростом калюсу (табл. 2, рис. 2).

**2. Вплив концентрації ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* на частоту проліферації в культурі калюсних клітин сортів пшениці, %**

Концентрація ІК, %	Частота профілерації калюсу сортів, %			
	Подольанка	Столична	Фаворитка	Смуглянка
0	96,8±2,8	98,2±3,0	96,2±2,8	96,5±2,8
0,2	83,5±3,2	81,8±3,0	75,3±3,2	71,4±3,2
0,4	77,4±2,4	75,6±2,6	64,3±2,2	30,0±2,4
0,6	52,8±2,2	50,4±2,0	34,5±2,0	12,5±2,2
0,8	42,8±2,0	38,7±1,8	17,2±1,4	5,9±0,6
1,0	24,1±1,8	20,6±1,6	10,0±0,8	4,5±0,6

Проведення клітинної селекції можливе за пригнічення проліферації калюсу в межах 60–80 % (сублетальна концентрація). Сублетальні концентрації ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400, за яких можна отримати нормально розвинені проростки, залежали від стійкості генотипу. У сортів Подольанка і Столична сублетальна концентрація ІК була 0,8 %, за якої частота проліферації калюсу становила 42,8 % і 38,7 % відповідно (табл. 2). За такої умови приріст калюсної маси був у межах від 40 до 43 % (рис. 3) Для сорту Фаворитка сублетальна концентрація ІК *P.*

*syringae* pv. *atrofaciens* 9400 становила 0,6 %, за якої проліферація калюсу була 34,5 %, що на 61,7 % менше ніж у контролі (табл. 2). За даної концентрації ІК приріст калюсної маси не перевищував 40 % (рис. 3). Для сорту Смуглянка сублетальна концентрація ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400 була 0,4 %, однак частота проліферації калюсу становила 30 % (табл. 2). Сорти за стійкістю до фітотоксичних метаболітів були розділені на дві групи, зокрема більш стійкі сорти Подольанка і Столична, менш стійкі сорти Фаворитка і Смуглянка.

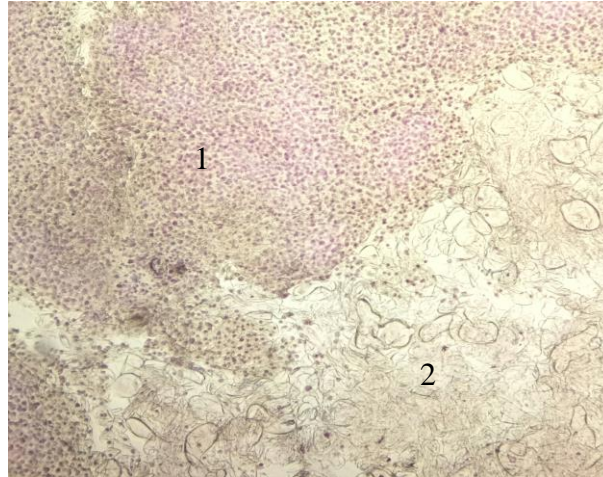


**Рис. 2. Приріст калюсної маси сортів пшениці залежно від концентрації ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400: 1 – Смуглянка, 2 – Фаворитка, 3 – Подольанка, 4 – Столична, а – 0,2% ІК, б – 0,4% ІК, в – 0,6% ІК, г – 0,8% ІК, д – 1,0% ІК.**

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

Для здійснення клітинної селекції одержані калюси на середовищі із сублетальними концентраціями токсичних метаболітів повинні бути морфогенними і здатними до регенерації рослин. Під час проведення цитологічних досліджень калюсних культур пшениці,

вирощених на середовищі із ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400, були виявлені клітини меристематичного типу, клітини паренхімного типу різних розмірів і форми, трахеїдоподібні клітини, а також морфогенні ділянки, пов'язані з закладкою адвентивних бруньок (рис. 3).

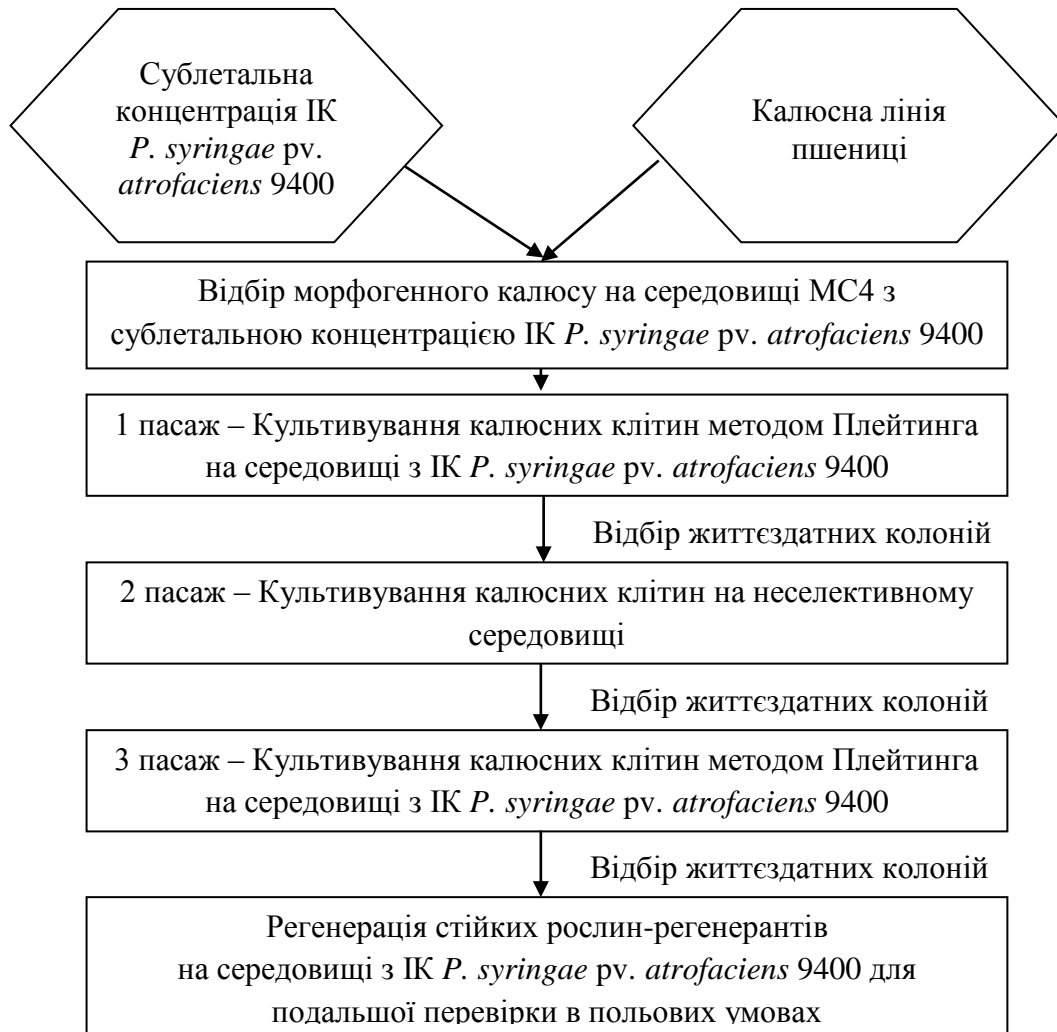


**Рис. 3. Формування морфогенних модулів у калюсі пшениці: 1 – морфогенний модуль з проваскулярними тяжами; 2 – паренхіматозні клітини калюсу.**

Клітини меристематичного типу мали відносно невеликі розміри, великі ядра і розташовувалися великими скупченнями в місцях локалізації трахеїдоподібних клітин (рис. 3). Клітини паренхімного типу відрізнялися більшими розмірами, невеликою кількістю цитоплазми і сильною вакуолізацією. Такі клітини мали округлу і подовжену форму. У калюсних культурах пшениці нами була виявлена диференціація вегетативних бруньок, пов'язана з проліферацією клітин

меристематичного типу. Це свідчить про здатність калюсних культур, вирощених на середовищі із ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400, до морфогенезу і подальшого розвитку рослин-регенерантів шляхом органогенезу.

Клітинну селекцію здійснювали пасируванням морфогенних калюсних культур, відібраних в ході цитологічних досліджень, на селективні середовища з одержанням стійких рослин-регенерантів (рис. 4).



**Рис. 4. Схема клітинної селекції пшениці на стійкість до збудника базального бактеріозу.**

Субкультивування калюсних культур пшениці на живильні середовища, які містять ІК, показало істотну залежність числа колоній, що вижили, від генотипу досліджуваних сортів.

У першому пасажі число життєздатних клітинних колоній зменшувалося до 31,2–47,5 % (табл. 3). Після третього селективного пасажу кількість живих колоній становила 8,2–23,2 %. Отримані калюсні лінії з стійкістю до стресового чинника

характеризувались щільною, глобулярною структурою, пастельного забарвлення і відзначались повільним ростом. Індекс стабільності стійкості в процесі пасирування калюсу досліджуваних сортів становив від 26,3 до 48,4, що свідчить про успішне використання методу клітинної селекції для отримання рослин-регенерантів *Triticum aestivum* L., стійких до збудника базального бактеріозу.

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

Найбільшою регенераційною здатністю характеризувався стабільні калюсні лінії, відібрані після третього пасажу, більш стійких сортів Столичний і Подолянка, у яких частота регенерації рослин з морфогенних калюсів становила

40,8–42,4 % (рис. 5). Низькою здатністю до регенерації відрізнялись калюсні клітини після третього пасажу сортів Смуглянка і Фаворитка, у яких частота регенерації була на рівні 26,5 – 31,2 %.

### 3. Індекс стабільності стійкості в процесі пасирування калюсу сортів пшениці на живильних середовищах з ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400

Сорт	Число живих колоній у пасажах (% від числа висаджених на живильне середовище з селективними чинниками)			Індекс стабільності стійкості
	1	2	3	
Смуглянка	31,2±2,9	14,1±1,1	8,2±0,8	26,3
Фаворитка	34,7±3,2	15,0±1,2	10,7±0,9	30,8
Подолянка	44,3±4,1	23,7±2,1	18,1±0,9	40,8
Столична	47,5±4,3	26,8±2,4	23,2±1,1	48,4

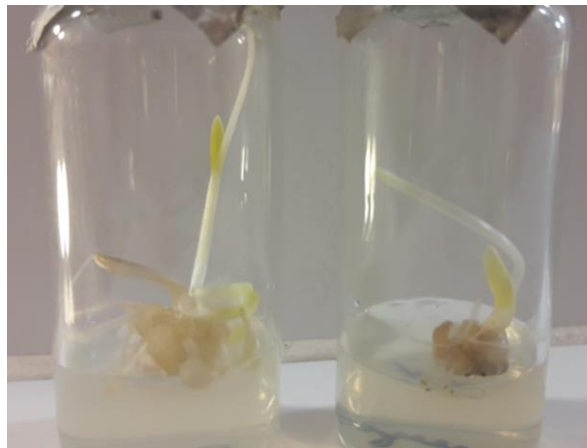


Рис. 5. Рослини-регенеранти пшениці сорту Подолянка на середовищі МС9 з ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400.

Отже, у результаті проведених досліджень показана можливість одержання здатних до регенерації калюсних культур пшениці стійких до фітотоксичних метаболітів збудника базального бактеріозу за пасирування на живильні середовища з сублетальними концентраціями ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400.

**Висновки і перспективи.** Встановлено, що за реакцією калюсних клітин пшениці на фітотоксичні метаболіти *P. syringae* pv. *atrofaciens* сорти Подолянка і Столична є більш стійкими до збудника базального бактеріозу, тоді як сорти Фаворитка і Смуглянка менш стійкі. Встановлено, що клітинну селекцію на стійкість до

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

збудника базального бактеріозу можна здійснювати для сортів Подолянка і Столична за сублетальної концентрації 0,8% ІК *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400, сорту Фаворитка – 0,6%, сорту Смоглянка – 0,4%. Методом клітинної селекції отримані стійкі здатні до регенерації калюсні лінії пшениці сортів

#### Список використаних джерел

1. Маслак О., Томашевська А. Ринок пшениці в Україні та світі. *Агробізнес сьогодні*. 2016. 12(331). URL: <http://www.agro-business.com.ua/ekonomichnyi-gektar/5671-rynok-pshenytsi-v-ukraini-ta-sviti.html>

2. Ларченко К. А., Моргун Б. В. Ознаки якості зерна та методи їх поліпшення. *Фізіологія і біохімія культурних рослин*. 2010. Т. 42. №6. С. 463–474

3. Hospodarenko H. M., Karpenko V. P., Liubych V. V., Novikov V. V. Characterization of amino acid content of grain of new wheat varieties and lines. *Agricultural Science and Practice*. 2018. Vol. 5. №. 3. С. 12–18.

4. Maraite H., Bragard C., Duveiller E. The status of resistance to bacterial diseases of wheat. In: Buck H.T., Nisi J.E., Salomon N. *Wheat Production in Stressed Environments*. Springer; 2007. P. 37–50.

5. Duveiller E., Fucikovsky L., Rudolph K. *The Bacterial Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management*. Mexico, D.F.: CIMMYT; 1997.

6. Valencia-Botín A.J., Cisneros-López M.E. A Review of the Studies and Interactions of *Pseudomonas syringae* Pathovars on Wheat.

Подолянка, Столична, Фаворитка і Смоглянка. Калюсні лінії сортів Подолянка і Столична перспективні для селекційної роботи зі створення сортів стійких до збудника базального бактеріозу пшениці, а одержані рослини-регенеранти потребують подальшої перевірки на стійкість у польових умовах.

*International Journal of Agronomy*. 2012. URL: <https://doi.org/10.1155/2012/692350>.

7. Matveeva Ye.V., Pekhtereva E.S.H., Polityko V.A., Ignatov A.N., Nikolaeva E.V., Schaad N.W. Distribution and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, causal agent of basal glume rot, in Russia. In: Iacobellis N.S., Collmer A., Hutcheson S.W., Mansfield J.W., Morris C.E., Schaad N.W., Stead D.E., Surico G., Ullrich M.S. (eds). *Presentations from the 6th International Conference on Pseudomonas syringae pathovars and related pathogens*, (Maratea, Italy, September 15–19). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands; 2003. P. 97–105.

8. Дубровна О.В., Чугункова Т.В., Бавол А.В., Лялько І.І. Біотехнологічні та цитогенетичні основи створення рослин, стійких до стресів. К.: Логос, 2012. 428 с.

9. Волощук С.І. Клітинна селекція пшениці на стійкість до *Fusarium graminearum* Schwabe: автореф. дис. ... канд. с.-г. наук: 03.00.15 / Інститут агроєкології УААН. Київ, 2006. 16 с.

10. Бавол А.В., Дубровна О.В., Лялько І.І. Добір та цитологічний аналіз стійких до культурального

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

фільтрату *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* клітинних ліній пшениці та регенерантів з них. Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. 2008. Т. 6. № 2. С.191–200.

11. Калашникова Е.А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням. автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.20 / Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева. Москва, 2003. 40 с.

12. Мельничук М. Д., Кляченко О. Л., Коломієць Ю. В. Біотехнологія рослин: практикум. К.: Компрінт 2012. 120 с.

13. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. 4-е изд., перераб. и доп. М., 1988. 271 с.

14. Sabahat N., Ghulam M.A., Umer R., Muhammad A., Shaukat A. Optimization of callus induction and regeneration system for Pakistani wheat cultivars Kohsar and Kyber-87. *African Journal of Biotechnology*. 2009. Vol. 8(20). P. 5554–5558

15. Rashid H., Ghani R. A., Chaudhry Z., Naqvi S. M. S., Quraishi A. Effects of media, growth regulators and genotypes on callus induction and regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biotechnology*. 2002. Vol. 1. № 1. P. 46–54.

16. Rashid U, Ali S., Ali G.M., Ayub N., Masood M.S. Establishment of an efficient callus induction and plant regeneration system in Pakistani wheat (*Triticum aestivum*) cultivars. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2009. №12, P. 1–8.

17. Богдан Ю.М., Буценко Л.М., Пасічник Л.А., Гвоздяк Р.І. Вивчення мутагенної активності ліпополісахариду *Pseudomonas*

*syringae* pv. *atrofaciens* 9400 у *Allium cepa*-тесті. Наукові записки НАУКМА: Біологія та екологія. 2008. Т. 80. С. 22–26.

### References

1. Maslak, O. & Tomashevskaya, A. (2016) Rynok pshenytsi v Ukraini ta sviti [Wheat market in Ukraine and the world] *Ahrobiznes sohodni* [Agribusiness today] 12(331). URL: <http://www.agro-business.com.ua/ekonomichnyi-gektar/5671-rynok-pshenytsi-v-ukraini-ta-sviti.html> [in Ukrainian]

2. Larchenko, K. A. & Morhun, B. V. (2010) Oznyaky yakosti zerna ta metody yikh polipshennia [Signs of grain quality and methods for their improvement] *Fiziologhiia i biokhimiia kulturnykh roslyn* [Physiology and biochemistry of cultivated plants]. 42(6), 463–474. [in Ukrainian]

3. Hospodarenko, H. M., Karpenko, V. P., Liubych, V. V. & Novikov, V. V. (2018) Characterization of amino acid content of grain of new wheat varieties and lines. *Agricultural Science and Practice*. Vol. 5. №. 3. С. 12–18. [in English]

4. Marathe, H., Bragard & C., Duveiller, E. (2007) The status of resistance to bacterial diseases of wheat. In: Buck H.T., Nisi J.E., Salomon N. *Wheat Production in Stressed Environments*. Springer. P. 37–50. [in English]

5. Duveiller, E., Fucikovsky, L. & Rudolph, K. (1997) *The Bacterial Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management*. Mexico, D.F.: CIMMYT. 110 p. [in English]

6. Valencia-Botín, A.J. & Cisneros-López, M.E. (2012) A Review of the Studies and Interactions of

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

*Pseudomonas syringae* Pathovars on Wheat. *International Journal of Agronomy*. URL:

<https://doi.org/10.1155/2012/692350>.

[in English]

7. Matveeva, Ye.V., Pekhtereva, E.S.H., Polityko, V.A., Ignatov, A.N., Nikolaeva, E.V. & Schaad, N.W. (2003) Distribution and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, causal agent of basal glume rot, in Russia. In: Iacobellis N.S., Collmer A., Hutcheson S.W., Mansfield J.W., Morris C.E., Schaad N.W., Stead D.E., Surico G., Ullrich M.S. (eds). Presentations from the 6th International Conference on *Pseudomonas syringae* pathovars and related pathogens, (Maratea, Italy, September 15–19). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. P. 97–105. [in English]

8. Dubrovna, O.V., Chuhunkova, T.V., Baval, A.V. & Lialko, I.I. (2012) Biotekhnolohichni ta tsytohenetychni osnovy stvorennia roslyn, stiikykh do stresiv. [Biotechnological and cytogenetic foundations of creating plants resistant to stress] Kyev: Lohos. 428 p. [in Ukrainian]

9. Voloshchuk, S.I. (2006) Klitynna selektsiia pshenytsi na stiikist do *Fusarium graminearum* Schwabe [Cell selection of wheat for resistance to *Fusarium graminearum* Schwabe] (Candidate of Agricultural Sciences Dissertation) Institute of Agroecology UAAN. Kiev, Ukraine. [in Ukrainian]

10. Baval, A.V., Dubrovna, O.V. & Lialko, I.I. (2008) Dobir ta tsytolohichniy analiz stiikykh do kulturalnoho filtratu *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* klitynnykh linii pshenytsi ta rehenerativ z nykh [Selection and cytological analysis of

culture-resistant *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* cell lines of wheat and regenerants from them] Visnyk Ukrainskoho tovarystva henetykiv i selektsioneriv [Bulletin of the Ukrainian Society of Geneticists and Breeders] 6(2), 191–200. [in Ukrainian]

11. Kalashnikova, E.A. (2003) Kletochnaya selektsiya rasteniy na ustoychivost' k gribnym bolezniam [Cell selection of plants for resistance to fungal diseases] (Doctor of Biological Sciences Dissertation) Moscow Academy of Agriculture named after KA Timiryazev. Moscow, Russia. [in Russian]

12. Melnychuk, M. D., Kliachenko, O. L. & Kolomiets, Yu. V. (2012) Biotekhnolohiia roslyn: praktykum. [Plant biotechnology: a workshop.] Kyev: Komprynt. 120 p. [in Ukrainian]

13. Pausheva, Z. P. (1988) Praktikum po tsitologii rasteniy [Workshop on plant cytology] Moscow. 271 p. [in Russian]

14. Sabahat, N., Ghulam, M.A., Umer, R., Muhammad, A. & Shaukat, A. (2009) Optimization o callus induction and regeneration system for Pakistani wheat cultivars Kohsar and Kyber-87. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 8(20). P. 5554–5558. [in English]

15. Rashid, H., Ghani, R. A., Chaudhry, Z., Naqvi, S. M. S. & Quraishi, A. (2002) Effects of media, growth regulators and genotypes on callus induction and regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biotechnology*. Vol. 1. № 1. P. 46–54. [in English]

16. Rashid, U, Ali, S., Ali, G.M., Ayub, N. & Masood, M.S. (2009) Establishment of an efficient callus

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

induction and plant regeneration system in pakistani wheat (*Triticum aestivum*) cultivars. *Electronic Journal of Biotechnology*. №12, P. 1–8. [in English]

17. Bohdan, Yu. M., Butsenko, L. M., Pasichnyk, L. A. & Hvozdiak R. I. (2008) Vyvchennia mutahennoi aktyvnosti lipopolisakharydu

*Pseudomonas syringae* pv. *atofaciens* 9400 u *Allium cepa*-testi [Study of the mutagenic activity of the lipopolysaccharide *Pseudomonas syringae* pv. *atofaciens* 9400 in *Allium cepa*-test] *Naukovi zapysky NaUKMA: Biolohtia ta ekolohtia* [Scientific notes of NaUKMA: Biology and Ecology]. 80, 22–26. [in Ukrainian]

**КЛЕТОЧНАЯ СЕЛЕКЦИЯ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР  
TRITICUM AESTIVUM L. НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ВОЗБУДИТЕЛЮ  
БАЗАЛЬНОГО БАКТЕРИОЗА  
Л. Н. Буценко, Ю. В. Коломієць**

**Аннотація.** Рост количества и вредоносности бактериальных болезней в современных условиях выращивания зерновых культур делает необходимым использование в производстве сортов пшеницы, которые характеризуются качественным урожаем за высокой устойчивости к фитопатогенным бактериям. Цель исследований. Отобрать методом прямой клеточной селекции каллусные культуры *Triticum aestivum* L., которые характеризуются высокими значениями ростового индекса и регенерационным потенциалом в условиях бактериального стресса вызванного *Pseudomonas syringae* pv. *atofaciens*. Методы исследований. Материалом для селекционной работы служили семена озимой пшеницы сортов Смуглянка, Фаворитка, Столичная, Подолянка. Приготовление питательных сред, введение в культуру и субкультивированием проводили с применением традиционных методик. Результаты. Установлено, что клеточную селекцию на устойчивость к возбудителю базального бактериоза можно осуществлять для сортов Подолянка и Столичная при сублетальной концентрации 0,8 % ИК *P. syringae* pv. *atofaciens* 9400, сорта Фаворитка – 0,6 %, сорта Смуглянка – 0,4 %. Методом клеточной селекции получены устойчивые к *P. syringae* pv. *atofaciens*, способные к регенерации каллусные линии пшеницы сортов Подолянка, Столичная, Фаворитка и Смуглянка.

**Ключевые слова:** каллус, *Triticum aestivum* L., клеточная селекция, возбудитель базального бактериоза

**CELL SELECTION OF TRITICUM CALLUS CULTURES  
TRITICUM AESTIVUM L. ON STABILITY TO AGENT  
BASAL BACTERIOSIS  
L. N. Butsenko, J. V. Kolomiets**

**Abstract.** The increase in the number and severity of bacterial diseases in modern conditions of growing crops makes it necessary to use in the production of

Буценко Л. М., Коломієць Ю. В.

*wheat varieties, which are characterized by high-quality yield for high resistance to phytopathogenic bacteria. The purpose of research. Select by the method of direct cell selection callus cultures of *Triticum aestivum* L., which are characterized by high growth index values and regeneration potential under the conditions of bacterial stress caused by *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*. Research methods. The material for the selection work was the seeds of winter wheat of the varieties Dark-skinned, Favorite, Metropolitan, Podolyanka. Preparation of nutrient media, introduction to culture and subculturing were carried out using traditional techniques. Results. It has been established that cell selection for resistance to the causative agent of basal bacteriosis can be carried out for the Podolyanka and Stolichnaya varieties with a sublethal concentration of 0,8 % IR *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9400, Favoritka varieties – 0,6 %, Smuglyanka varieties – 0,4 %. The method of cell selection obtained resistant to *P. syringae* pv. *atrofaciens*, regenerative callus lines of wheat varieties Podolyanka, Stolichnaya, Favoritka and Smuglyanka.*

**Key words:** *callus, *Triticum aestivum* L., cell selection, causative agent of basal bacteriosis*