

УДК 561.143.6

СЕЛЕКЦІЯ *IN VITRO* М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ НА КОМПЛЕКСНУ СТІЙКІСТЬ ДО МЕТАБОЛІТІВ ЗБУДНИКА ОФІОБОЛЬОЗУ ТА ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ

М.А. ЗІНЧЕНКО, О.В. ДУБРОВНА, А.В. БАВОЛ

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська 31/17
e-mail: dubrovny@ukr.net

Мета. З метою одержання клітинних ліній та рослин-регенерантів м'якої пшениці, стійких до комплексу стресових чинників, зокрема метаболітів збудника офіобольозу та водного дефіциту, проведено селекцію *in vitro*. **Методи.** З використанням системи з низькомолекулярним манітом досліджено ефективність застосування прямої та ступінчастої клітинної селекції. **Результати.** Проведено пряму та ступінчасту селекцію *in vitro* та здійснено добір калюсних ліній пшениці, стійких до комплексу стресових чинників. Ступінчастий добір виявився ефективнішим, оскільки в результаті виділено більше стійких калюсних форм. Із стійких культур індуковано рослини-регенеранти та оптимізовано їхнє дорошування, укорінення та переведення в умови *in vivo*. **Висновки.** Вперше одержано клітинні лінії пшениці з перехресною стійкістю до метаболітів збудника офіобольозної кореневої гнилі та водного дефіциту. З'ясовано, що лінії резистентні до біотичного стресового фактора можуть мати перехресну стійкість і до абіотичного стресу.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., клітинна селекція, офіобольоз, осмотичний стрес, стійкість.

Вступ. В умовах глобальних змін клімату, коли на рослинний організм діє низка біотичних та абіотичних стресових чинників, добір на комплексну стійкість є особливо актуальною і важливою частиною селекційного процесу. Поряд із застосуванням традиційних генетико-селекційних методів отримання високопродуктивних сортів та гібридів сільськогосподарських культур все більшого поширення набувають біотехнологічні прийоми при створенні вихідного матеріалу, стійкого до комплексу різних стресових чинників. Одним із таких методів є клітинна селекція, тобто добір бажаних генотипів з новими спадковими ознаками на рівні культивованих *in vitro* клітин у специфічних умовах. На основі застосування методів клітинної селекції у пшениці вже одержано рослини, стійкі до хвороб [1–3] та різних видів абіотичних стресів [4–6].

Дослідження природи адаптивних реакцій рослин щодо дії різних стресів свідчить про існування як специфічних, так і загальних механізмів стійкості [7,8]. Завдяки загальним неспецифічним механізмам стійкості, резистентність до одного несприятливого чинника може призводити до підвищення стійкості й до іншого. Відібрані клітинні лінії та рослини-регенеранти можуть виявляти стійкість до двох і більше типів стресу, деколи навіть не схожим за фізико-хімічною природою та за мішенями дії [9,10]. Це розкриває перспективи для подальшого удосконалення біотехнології одержання форм з комплексною стій-

© М.А. ЗІНЧЕНКО, О.В. ДУБРОВНА, А.В. БАВОЛ, 2012

кістю до біотичних та абіотичних стресів. З використанням даного методу експериментально підтверджена можливість отримання рослин, стійких до кількох стресових чинників [11, 12].

Слід зазначити, що на сьогодні біотехнологічні підходи отримання рослин пшениці з перехресною та комплексною стійкістю практично не досліджені. Нами вперше біотехнологічним шляхом отримано соматональні лінії м'якої пшениці, стійкі до офіобольозної кореневої гнилі (збудник – *Gaeumannomyces graminis var. tritici*) [13, 14] та підтверджена стійкість отриманих форм у насінневих поколіннях. Для розробки ефективної системи методів, спрямованої на отримання нових форм пшениці з комплексною стійкістю до абіотичних та біотичних стресів, у калюсних ліній, резистентних до метаболітів збудника офіобольозної кореневої гнилі, було вивчено реакцію на модельований водний дефіцит [15]. З метою добору конкретних умов проведення селекції *in vitro* було апробовано дві селективні системи – із високомолекулярним (м.м. 6000) поліетиленгліколем та низькомолекулярним манітом. Показано, що селективна система з манітом є більш ефективною, оскільки забезпечила повнішу елімінацію чутливих клітин та вищу життєздатність рослин-регенерантів. У зв'язку з цим метою роботи було проведення селекції *in vitro* для

одержання клітинних ліній та рослин-регенерантів м'якої пшениці, стійких до комплексу стресових факторів, зокрема метаболітів збудника офіобольозу та водного дефіциту.

Матеріали і методи

Для введення в культуру *in vitro* використовували зріле насіння м'якої пшениці сорту Зимоярка (контроль), а також насіння рослин R₂, одержаних від соматональних ліній, стійких до метаболітів збудника офіобольозної кореневої гнилі. Насіння пророщували на модифікованому живильному середовищі МС [16] без фітогормонів. Материнські рослини культивували в скляному посуді об'ємом 200 мл, в який було розлито по 30 мл середовища.

Калюсну культуру було отримано із верхівки пагона 3-добових проростків, попередньо вирощених в умовах *in vitro* розміром 1,2–2 мм. Перевагою даних типів експлантів є можливість подолання особливостей генотипів, що характеризуються низьким регенераційним потенціалом, а також отримання значної кількості вихідного матеріалу за короткий час. На рис. 1 подано послідовні етапи індукції морфогенезу в культурі *in vitro* пшениці при використанні як експлантів верхівки пагона тридобових проростків.

Для індукції калюсу використовували середовище МС, доповнене 2,4-Д у кон-

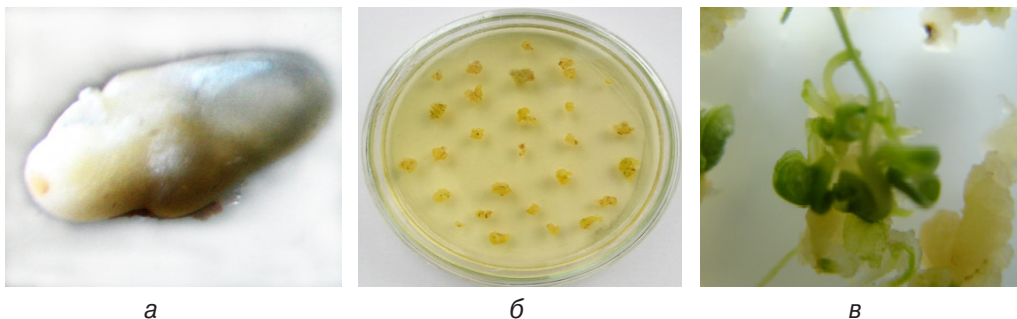


Рис. 1 . Морфогенез в культурі верхівки пагона тридобових проростків пшениці : а – верхівка пагона; б – індукований калюс; в – регенерація пагонів

центрації 2,0 мг/л. Експлантати культивували при 26 °С у темряві протягом двох тижнів. Потім їх переносили на світло і далі вирощували при освітленні 3–4 клк, відносній вологості повітря 70 % і 16-годинному фотоперіоді ще протягом трьох тижнів.

Як селективний агент застосовували низькомолекулярний маніт у різних концентраціях, які додавали до модифікованого середовища МС. Для того, щоб всі клітини підлягали осмотичному впливу, використовували маленькі інокулюми (не більше 10 мг). Калюси висаджували у чашки Петрі (по 40 – у кожній) у 10-ти повторностях. Калюс вирощували на середовищі з селективним фактором у наступних концентраціях – 0,4; 0,6; 0,8; та 1,0 М. Після 3 тижнів вирощування оцінювали частку живих калюсів.

Для індукції морфогенезу калюсні культури переносили на регенераційне середовище МС, доповнене 1 мг/л БАП та 0,5 мг/л ІОК. Після 3 тижнів культивування морфогенний калюс висаджували на живильне середовище без селективного чинника. Калюс, що утворював пагони, переносили на модифіковане середовище для укорінення. Експериментально отримані дані обробляли за допомогою методів статистичного аналізу [17].

Результати і обговорення

Можливість отримання стійких клітинних варіантів обумовлена наявністю соматоклональної мінливості, певною мутагенною дією рістрегулюючих речовин живильного та селективного середовища, а також дією селективного чинника, спрямованого проти виживання нестійких форм. У злаків, як правило, клітинну селекцію проводять на калюсах, оскільки інші технології, зокрема плейтинг суспензії ще недостатньо розроблені. Перевагами калюсних культур порівняно з клітинними є менший період необхідного культивування і, як наслідок, менша генетична нестабільність.

Слід зазначити, що до недоліків калюсних культур слід віднести те, що у частини клітин токсичні рівні селективного чинника згладжуються сусідніми клітинами і вони, таким чином, уникають селективного тиску. Крім того, можливе фенотипове маскування, якщо клітина має стійкість завдяки продукції певної речовини, остання може передаватися через плазмодесми до сусідніх чутливих клітин і надавати їм стійкості. Крім того, для експресії ознаки необхідний певний розмір інокулюму [3,18]. Оскільки багато клітин калюсу безпосередньо не контактують із селективним агентом, відібрані калюси можуть бути сумішшю змінених клітин та клітин дикого типу. Тому у своїй роботі ми використовували декілька циклів добору за прямої та ступінчастої клітинної селекції. Її здійснювали за схемою (рис. 2).

На рис.3 наведено різні етапи отримання *in vitro* стійких до осмотичного стресу калюсних ліній пшениці.

В табл. 1 наведено дані про динаміку виживання клітинних ліній при прямому переносі на селективні середовища з 0,8 М маніту. Згідно зі схемою клітинної селекції, калюси, що вирощували, перевіряли в селективних і неселективних умовах.

Виявлено, що до кінця першого пасажу виживало до 42 % калюсів на середовищі з 0,8 М маніту. Після трьох пасажів у селективних умовах кількість живих калюсів складала від 12,8 до 31 %. Після пасажу на середовищі без селективного фактора і перевірки росту в селективних умовах було виділено від 3 до 11,8 % резистентних клонів залежно від досліджуваної лінії. У результаті прямого добору виділено 12 варіантів, які характеризувались здатністю до росту на селективному середовищі з осмотиком та стабільно зберігали ознаку стійкості протягом 2 пасажів.

Поряд з експериментами по прямому переносу калюсних ліній на середовища з сублетальною дозою осмотика, проводи-

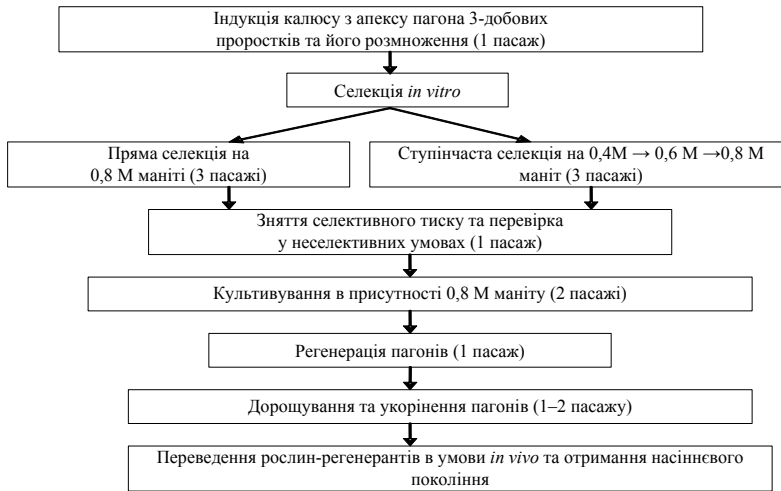


Рис. 2. Схема отримання толерантних до осмотичного стресу рослин пшениці

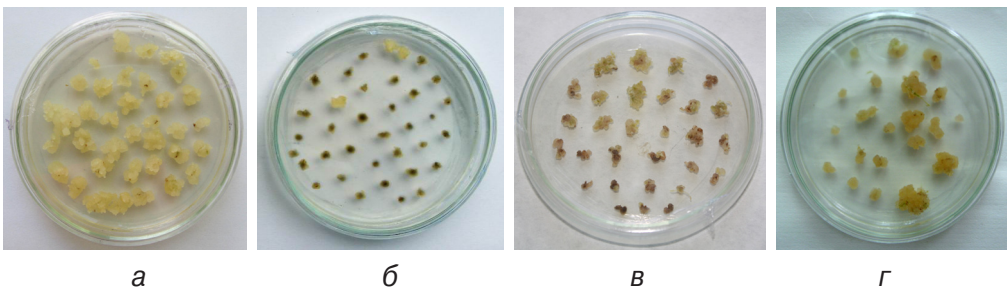


Рис. 3. Етапи прямої клітинної селекції: а – вихідний калус; б – другий пасаж на селективному середовищі з манітолом; в – пасаж на контрольному середовищі; г – 14 доба шостого пасажу, всі відібрані калуси зберігають здатність до нарощування біомаси в селективних умовах

Таблиця 1. Динаміка виживання калюсних ліній пшениці на селективному середовищі з 0,8 М маніту за прямої селекції

Генотип	Кількість висаджених калюсів, шт.	Кількість живих калюсів по пасажах, %		
		1	3	6
Контроль	400	31,0 ± 2,3	17,0 ± 1,9	3,0 ± 1,7
Лінія 2/9	400	38,8 ± 2,4	24,5 ± 2,1	8,5 ± 1,4
Лінія 2/13	400	42,0 ± 2,5	31,2 ± 2,3	11,8 ± 1,6
Лінія 19/6	400	31,8 ± 2,3	18,0 ± 1,9	6,8 ± 1,3
Лінія 19/7	400	27,5 ± 2,2	12,8 ± 1,7	3,0 ± 1,7

ли селекцію цих форм на середовищах з поступовим підвищенням концентрації селективного чинника (ступінчасту селекцію). В табл. 2 наведено дані про динаміку виживання калюсів на селективних середо-

вищах з 0,4 – 0,8 М маніту за ступінчастого добору.

Виявлено, що на відміну від контролю, концентрація в середовищі 1М маніту не спричиняє летальної дії на калюсні лінії,

Таблиця 2. Динаміка виживання калюсів на селективних середовищах за ступінчастого добору

Генотип	Кількість висаджених калюсів, шт.	Кількість живих калюсів по пасажах, %			
		1 (0,4 М маніту)	3 (0,8М маніту)	6 (0,8М маніту)	7 (1М маніту)
Контроль	400	50,0±2,5	24,5±2,1	6,8±1,3	-
Лінія 2/9	400	54,0±2,5	37,5±2,4	13,3±1,7	2,0±0,7
Лінія 2/13	400	50,5±2,5	28,8±2,3	17,0±1,9	2,8±0,8
Лінія 19/6	400	48,5±2,5	23,8±2,0	12,0±1,6	1,5±0,6
Лінія 19/7	400	40,8±2,5	18,3±1,9	8,8±1,4	1,3±0,6

резистентні до метаболітів збудника офіобольозної кореневої гнилі. На середовищі з 1М маніту виживало від 1,3 до 2,8 % калюсів, які добиралися методом ступінчастої селекції. В цілому, за ступінчастого добору життєздатність клітинних культур виявилася порівняно вищою – вижило від 8,8 до 17 % калюсів. У результаті селекції виділено 23 варіанти, які характеризувались здатністю до росту на селективному середовищі з осмотично активною речовиною та стабільно зберігали ознаку стійкості протягом 2 пасажів. Таким чином, ступінчастий добір виявився ефективнішим, оскільки в результаті його застосування виділено більше стійких калюсних форм.

За послідовних субкультивувань було виділено варіанти, які здатні рости на селективних середовищах з 0,8М та 1М маніту і стабільно зберігали ознаку резистентності. З них було отримано 6 стійких ліній (№ 1стм – 6стм (стійкі до маніту)), які не тільки мали приріст маси у селективних умовах, а й зберігали морфогенетичний потенціал. Клітинні лінії з перехресною стійкістю мали такі морфологічні характеристики: щільний калюс з глобулярною структурою темно-жовтого кольору. Такий калюс ідентифікується нами як регенераційний.

Проблема отримання рослин із стійких клітинних ліній є однією із найбільш важливих та складних у клітинній селекції. Відомо, що регенерація з таких форм значно ускладнена, і частота індукції рослин дуже

низька, що може бути пов'язано з мутаційними змінами, що виникають в культурі *in vitro* [19]. Регенерацію пагонів індуквали на середовищі МС-3 без селективного фактора, відсаджуючи пагони, що утворилися, на середовище без фітогормонів. Слід зазначити, що зі стійких калюсів, отриманих шляхом прямої селекції, було отримано менше повноцінних рослин-регенерантів. У морфогенних калюсів за прямої селекції часто спостерігався ризогенез, або утворювалися пагони, які поступово припиняли свій ріст, або не утворювалося повноцінне коріння.

У наших дослідженнях частота регенерації зі стійких клітинних ліній, отриманих шляхом ступінчастого добору, була на рівні 3–9 %, що достовірно нижче ніж у контролі (табл.3).

Таблиця 3. Частота регенерації рослин на середовищі МС-3/7 із стійких калюсних ліній пшениці

Калюсна лінія	Частота регенерації, %	Всього отримано рослин-регенерантів, шт.
Контроль	33,0±4,7	42
Лінія 1стм	5,7±2,8	4
Лінія 2стм	8,8±3,2	7
Лінія 3стм	4,0±2,3	3
Лінія 4стм	7,5±2,9	6
Лінія 5стм	4,6±2,6	3
Лінія 6стм	3,3±2,3	2

Для підвищення регенераційної здатності стійких калюсних культур м'якої пшениці та збільшення кількості рослин-реге-

нерантів, нами було модифіковано середовище МС-3 [20]. Застосування модифікованого живильного середовища дозволило підвищити регенерацію із стійких клітинних ліній (табл. 4; рис. 4, а) і відповідно, підвищити ефективність клітинної селекції.

Таблиця 4. Частота регенерації рослин на середовищі МС-3/7 із стійких калюсних ліній пшениці

Калюсна лінія	Частота регенерації, %	Всього отримано рослин-регенерантів, шт.
Контроль	33,0±4,7	42
Лінія 1стм	11,0± 3,2	11
Лінія 2стм	17,0± 3,8	15
Лінія 3стм	7,6±3,6	6
Лінія 4стм	14,0± 3,2	10
Лінія 5стм	8,6±3,6	6
Лінія 6стм	6,3±3,3	5

Для стимуляції процесів ризогенезу та масового укорінення пагонів нами було проаналізовано декілька варіантів середовищ з різними регуляторами росту. Зокрема, з цією метою були випробовувані середовища МС з половинним та повним вмістом макроелементів, доповнені НОК та 2,4-Д в концентраціях 0,5–3 мг/л. Найкращі результати одержані на середовищі МС з половинним вмістом макроелементів та НОК у концентрації 1 мг/л (рис. 4, б). Через 15–20 діб на такому середовищі отримували ≈ 50 % рослин-регенерантів з пов-

ноцінною кореневою системою. Підвищення концентрації НОК до 3 мг/л значно пригнічувало процеси формування коренів. Використання 2,4-Д у концентрації 0,5 мг/л виявилось неефективним для індукції ризогенезу.

Дорожені пагони з коренями адаптували до умов *in vivo*, інкубуючи їх спочатку 3 тижні на половинному середовищі МС без вітамінів з 10 г/л сахарози, а перед висадкою у пісок витримуючи одну добу у воді з 5 мг/л НОК. Укорінені рослини пересаджували в стерильний пісок і поміщали у вологу камеру на 7–14 діб (рис. 4, в). В подальшому рослини висаджували у горщики об'ємом 0,65 л, а через 14 діб у вегетаційні посудини об'ємом 10 л, у яких вони вирощувалися в умовах вегетаційного будиночку до фази повної стиглості зерна.

Висновки

Методом ступінчастої клітинної селекції здійснено добір калюсних ліній пшениці, стійких до 0,8 М та 1 М маніту. Ступінчастий добір був ефективнішим, оскільки в результаті його застосування виділено більше стійких калюсних форм. Вперше одержано клітинні лінії пшениці з перехресною стійкістю до метаболітів збудника офіобольозної кореневої гнилі та водного дефіциту. Оптимізація живильного середовища дозволила підвищити регенерацію із стійких клітинних ліній і, відповідно, підвищити

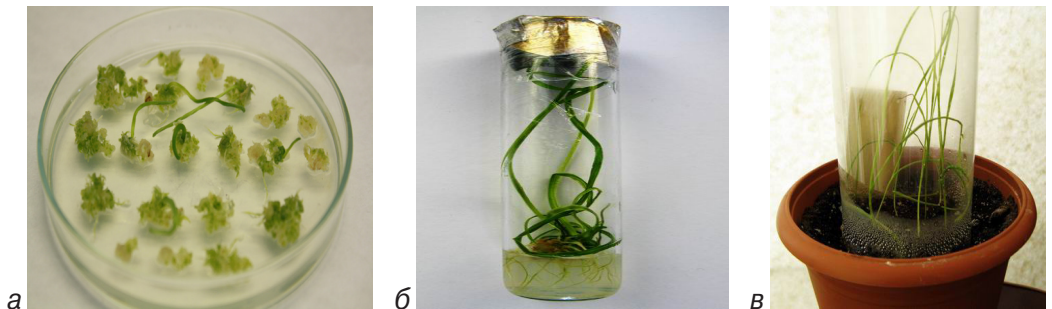


Рис. 4. Індукція пагонів із калюсних ліній (а), укорінення рослин (б), переведення рослин в умови ґрунту (горщики об'ємом 0,65 л) (в)

ефективність клітинної селекції. З'ясовано, що лінії, резистентні до біотичного стресового фактора, можуть проявляти перехресну стійкість і до абіотичного стресу.

Перелік літератури

1. Lu W., Zhou M., Zhang X. Studies and improvement of wheat breeding for scab resistance using biotechnology // Wheat Improvement for Scab resistance: Proc. Intern. Symp. – 5–11 May 2000. – Sunghou and Nanjing, China, 2000. – P.151–156.
2. Джос Л., Калашникова Е. Клеточная селекция пшеницы на устойчивость к септориозу // Сельскохозяйственная биотехнология. – Избранные работы / Под ред. Шевелухи В.С. – М.: Евразия+, 2000. – С. 61–71.
3. De Cristaldo R., De Carvalho F., Barbieri R., Kohli M., Dornelles C., Handel C., Bered, F. Response of different subcultures of wheat callus to toxic filtrates of *Helminthosporium sativum* // J. of Genet. and Breeding. – 1997. – Vol. 51, N1. – P. 39–43.
4. Ahmed A. Response of immature embryos *in vitro* regeneration of some wheat (*T. aestivum*) genotypes under different osmotic stress of Mannitol // J. Agric. Sci. – 1999. – Vol. 30, N3. – P. 25–34.
5. Aly M., Sabry S., Abdelfatah O., Elgharrawy H. *In vitro* screening for the effect of sea water salinity stress on growth and biochemical characteristics of wheat *Triticum aestivum* L. // International Journal of Applied Agricultural Research. – 2007. – Vol. 2, № 1. – P. 1–11.
6. Dörffling K., Dörffling H. Lesselich G., Luck E., Zimmermann C., Melz G., Jürgens H. Heritable improvement of frost tolerance in winter wheat by *in vitro* selection of hydroxyproline-resistant proline overproducing mutants // Euphytica. – 1997. – Vol. 93, N1. – P. 1–10.
7. Кузнецов В.В., Хыдыров Б.Т., Рошупкин Б.В., Борисова Н.Н. Общие системы устойчивости хлопчатника к засолению и высокой температуре // Физиология растений. – 1990. – Vol. 37, № 5. – С. 987–991.
8. Литонова Г.Н., Жукова Н.П., Яценко И.А., Кузнецов В.В. Изменение экспрессии генома в проростках *Arabidopsis thaliana* в ответ на засоление и действие тяжелых металлов // Тез. докл. 3-го съезда Всерос. о-ва физиологов растений (Санкт-Петербург, 24–29 июня, 1993). – Санкт-Петербург, 1993. – С. 653.
9. Губанова Н.Я., Дубровна О.В., Чугункова Т.В. Клеточная селекция кормовой свеклы на устойчивость к нескольким стрессовым факторам // Биополимеры и клетка. – 2002. – Т.18, № 3. – С. 565–571.
10. Swaaij A., Jacobsen E., Keil I., Feenstra W. Selection, characterization and regeneration of hydroxyproline-resistant cell lines of *Solanum tuberosum*: tolerance to NaCl and freezing stress // Pflanzl. Physiol. – 1986. – Vol. 68, № 3. – P.359–366.
11. Губанова Н.Я., Дубровна О.В., Чугункова Т.В. Комплексная селекция *in vitro* на устойчивость клеточных линий кормовой свеклы к токсину возбудителя бактериоза и низким температурам // Биополимеры и клетка. – 2000. – Vol. 16, № 2. – С.111–120.
12. Svabova S., A. Lebeda L. *In Vitro* Selection for Improved Plant Resistance to Toxin-Producing Pathogens // J. Phytopathology. – 2005. – Vol. 153. – P.52–64.
13. Бавол А. В., Дубровна О.В., Лялько І.І. Добір та цитологічний аналіз стійких до культурального фільтрату *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* клітинних ліній пшениці та регенерантів з них // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів – 2008. – Т. 6, №2. – С. 191–200.
14. Бавол А. В., Дубровна О.В., Лялько І.І. Селекція *in vitro* м'якої пшениці на стійкість до *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* // Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – Vol. 41, № 4. – С. 314–320.
15. Дубровна О.В., Бавол А. В., Зінченко М.О., Лялько І.І., Круглова Н.М. Вплив осмотичних речовин на калосні 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.
16. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. plant. – 1962. – Vol. 15, – P. 473–497.
17. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
18. Ahmed, K.Z., Mesterházy, Á., Bartók, T., Sági, F. *In vitro* techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum* L.) for Fusarium-resistance. II. Culture filtrate technique and inheritance of Fusarium-resistance in the somaclones // Euphytica. – 1996. – Vol. 91, №3. – P. 341–349.
19. Калашникова Е.А. Биологические основы точной селекции растений // Доклады ТСХА. – 2003. – № 275. – С. 110–112.
20. Пат. України № 42311 МПК (2009) А01Н4/00 Спосіб підвищення регенераційної здатності калюсних культур м'якої пшениці, стійких до культурального фільтрату *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* / Бавол А. В., Дубровна О. В., Лялько І.І. – Бюл.№6 25.06.2009 – 9 с.

Представлено Т.В. Чугунковою
Надійшла 02.02.2012

СЕЛЕКЦИЯ *IN VITRO* МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ
НА КОМПЛЕКСНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ
К МЕТАБОЛИТАМ ВОЗБУДИТЕЛЯ
ОФИОБОЛЛЕЗА И ВОДНОМУ ДЕФИЦИТУ

М. А. Зинченко, О. В. Дубровная, А. В. Бавол

Институт физиологии растений и генетики НАН
Украины
Украина, 03022, Киев, ул. Васильковская 31/17
e-mail: dubrovny@ukr.net

Цель. С целью получения клеточных линий и растений-регенерантов мягкой пшеницы, устойчивых к комплексу стрессовых факторов, в частности, метаболитов возбудителя офиоболлеза и водного дефицита была проведена селекция *in vitro*. **Методы.** С использованием системы с низкомолекулярным маннитом исследована эффективность применения прямой и ступенчатой клеточной селекции. **Результаты.** Проведена прямая и ступенчатая селекция *in vitro* и осуществлен отбор каллусных линий пшеницы, устойчивых к комплексу стрессовых факторов. Ступенчатый отбор оказался эффективнее, поскольку в результате выделено больше устойчивых каллусных форм. Из устойчивых культур индуцированы растения-регенеранты и оптимизировано их дорастивание, укоренение и перевод в условия *in vivo*. **Выводы.** Впервые получены клеточные линии пшеницы с перекрестной устойчивостью к метаболитам возбудителя офиоболлезной корневой гнили и водному дефициту. Выявлено, что линии, резистентные к биотическому стрессовому фактору, могут проявлять перекрестную устойчивость и к абиотическому стрессу.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., клеточная селекция, офиоболлез, осмотический стресс, устойчивость.

IN VITRO SELECTION OF WHEAT FOR
COMPLEX RESISTANCE TO METABOLITES
OF TAKE-ALL DISEASE AGENT AND WATER
DEFICIT

M. A. Zinchenko, O. V. Dubrovna, A. V. Baval

Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of
Ukraine,
Ukraine, 03022 Kiev, Vasylykivska str.31/17
e-mail: dubrovny@ukr.net

The target. To obtain of cell lines and plant-regenerants of bread wheat resistant for complex of stress factors, such as metabolites of take-all disease agent and water deficit the *in vitro* selection was carried out. **Methods.** Using a system with a low molecular mannitol we investigated the efficiency of direct and step-type *in vitro* selection. **Results.** It was carried out direct and step-type *in vitro* selection and implemented selection of wheat cell lines that are resistant to a complex of stress factors. A step-type *in vitro* selection proved to be better, because it resulted in more resistant callus forms. From the resistant lines were generated regenerated plants and there was optimized their rearing, rooting and transfer to the conditions *in vivo*. **Conclusions.** For the first time cell lines of bread wheat with cross-resistance to the metabolites of take-all disease agent and water deficit were derived. It was revealed that the lines resistant to biotic stressors can possess cross-resistance to abiotic stress as well.

Key words: *Triticum aestivum* L., *in vitro* selection, take-all disease, osmotic stress, resistance.