

- химически модифицированными крахмалами. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2012. Т. 44, № 5. С. 440–448.
2. Білінська О. В., Дульнев П. Г. Ефективність отримання гаплоїдів ярого ячменю у культурі пиляків *in vitro* на основі гібридного матеріалу: порівняння базової та удосконаленої технологій. *Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. праць*. К.: Логос, 2019. Т. 25. С. 178–183.
  3. Kahrizi D., Mahmood S., Bakshni G., Mirzafi M. Effect of genotype on androgenesis in barley (*Hordeum vulgare L.*). *Biharean Biologist*. 2011. Vol. 5, No 2. P. 132–134.
  4. Kuhlmann U., Foroughi-Wehr B. Production of haploids in frequencies sufficient for barley breeding programs. *Plant Cell Rept*. 1989. Vol. 8, No 2. P. 110–118.
  5. Murashige T., Skoog F. A revised medium for growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 1962. Vol. 15. P. 473–497.

**УДК 581.143.6**

**КЛІТИННА СЕЛЕКЦІЯ З ІОНАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ  
ДЛЯ ВІДБОРУ ОСМОСТІЙКИХ ФОРМ РОСЛИН**

**Броннікова Л.І.,<sup>1,2</sup> Зайцева Л.І.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара  
E-mail: [irinaza.ldfr@gmail.com](mailto:irinaza.ldfr@gmail.com)

<sup>2</sup> Інститут фізіології рослин і генетики НАН України  
E-mail: [Zlenko\\_lora@ukr.net](mailto:Zlenko_lora@ukr.net)

Засолення та водний дефіцит є одним із агресивних факторів довкілля. Воно здатне спричиняти шкоду чинний спектр патологічних змін у тканинах рослин. Зростають площі із вторинним засоленням, прісна вода у багатьох регіонах перетворюється на дефіцит навіть для людських мас [4, 5, 9]. Отже проблема отримання рослинних форм з підвищеним рівнем стресійкості стає все більш актуальною, не дивлячись на чисельні зусилля та капіталовкладення. Генетичні зміни, котрі збільшують стійкість геному є головною метою різних досліджень. Тому, проблема потребує суттєвої модифікації

біотехнології які існують на сьогодні.

Клітинна селекція з іонами важких металів (ІВМ) є перспективною біотехнологією для отримання форм рослин, здатних протистояти засоленню та водному дефіциту [5, 7, 8].

Підвищуючи стійкість генетичної зміни в інтактній рослині, а також події, які відбуваються під час культивування *in vitro*, стають ключовими. У випадку створення адекватної селективної системи та відбору стрес-модельованого агенту, метод може стати пріоритетним для отримання клітин з унікальними властивостями.

Нами було запропоновано застосовувати іони важких металів (ІТМ) в клітинній селекції, а саме – використовувати властивості іонів  $Ba^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  для відбору форм, стійких до засолення та водного дефіциту. Для отримання форм тютюну запропоновано та створено селективну систему з іонами барію ( $Ba^{2+}$ ) та кадмію ( $Cd^{2+}$ ) у концентраціях, летальних для клітин дикого типу. Летальними вважали найменші концентрації, які призводили до елімінації культур дикого типу. Первинний калюс ініціювали із листків тютюну на агаризованому середовищі В5 Гамборга. Клітинну культуру дикого типу піддавали процедурі «плейтингу», яка передбачає рівномірне розподілення суспензії між двома шарами селективного середовища з іонами  $Ba^{2+}$  та  $Cd^{2+}$ .

Відомо, що катіони  $Ba^{2+}$  являться інгібіторами переміщення іонів  $K^+$ ; катіони  $Cd^{2+}$  суттєво впливають на транспорт води в клітину. На селективних середовищах з летальною для клітинних культур доз іонів  $Ba^{2+}$  та  $Cd^{2+}$ , були відібрані клітинні культури тютюну, які характеризувались комплексною стійкістю до іону селекції, а також до летальних сульфатного та хлоридного засолень [1 - 4, 6].

$Ba$  – стійкі лінії рослин витримували летальне засолення (солі морської води).  $Cd$  – стійкі варіанти росли в умовах водного стресу (маніт).

За  $Ba$ -стійкі клітинні лінії ( $Ba$ -СКЛ) та  $Cd^{2+}$ - стійкі клітинні лінії ( $Cd^{2+}$ - СКЛ) виживали за такого стресового навантаження. Живі клітини формували первинні мікроколонії. Такі колонії утворювали  $Ba$ -СКЛ та  $Cd^{2+}$ - СКЛ та росли у присутності іонів  $Ba^{2+}$  та  $Cd^{2+}$  не менше 3 пасажів. У подальшому калюс ділили та

переміщували на свіжі середовища, а саме: базальне середовище (нормальні умови) і селективні умови (стресові умови). Формували два різновиди стресу: середовище із іонами  $Ba^{2+}$  та  $Cd^{2+}$  (стрес I) і середовища із солями та манітом (стрес II, III). Летальне засолення та зневоднення додаванням сульфату натрію, хлориду натрію та маніту. Для підтвердження генетичної основи стійкості використовували ротацію умов культивування, а саме: нормальні умови → стреси I, II, III; стреси I, II, III → нормальні умови; стрес I → стреси II, III, тощо. Ротація була завжди довільна. Як показник життєдіяльності вимірювали відносний приріст біомаси (ВПМ,  $\Delta m$ ).

Із стійких клітинних ліній регенеровані рослини та отримано R0 та R1 насінневе покоління. Рослини культивували *in vitro* у присутності 2,5 % солей морської води та 0,8 М маніту. В процесі культивування рослини укорінилися і формували нові листки. Після перенесення на контрольне середовище, рослини адаптувались до нормальних умов. Регенеранти R0 та насінневе покоління R1 тютюну також були стійкими до осмотичних стресів *in vitro* та *in vivo*.

Оригінальність та пріоритетність дослідження полягала у створенні селективної системи з іонами  $Ba^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  та її застосуванні у клітинній селекції для виділення форм

Клітинна селекція з використанням ІВМ є перспективним підходом виділення генетично змінених форм, та стати перспективним методом отримання з підвищеним рівнем осмотостійкості. Даний метод може бути поширеним і на інші культури.

#### Список літератури:

1. Maliga P. Isolation and characterization of mutants in plant cell culture. *Ann. Rev. Plant Physiology*. – 1984. 35. pp. 519-542. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.35.060184.002511>
2. Wang S.-M., Zhang J.-L., Flowers T.J. Low-affinity  $Na^+$  uptake in the halophyte *Suaeda maritima*. *Plant Physiology*. - 2007, 145, pp.559-571. <https://doi.org/10.1104/pp.107.104315>
3. Tioleter D., Jaquinod M., Mangavel C., Passirani C., Saulner P., Manon S., Teyssier E., Payet N., Avelange-Macherel M.-H., Macherel D. Structure and function of a mitochondrial late

- embryogenesis abundant protein by desiccation *Plant Cell*, 2007, 19, pp.1580-1587. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.050104>
4. Bahieldin A., Mahfouz H.T., Eissa H.F., Saleh O.M., Ramadad A.M., Ahmed I.A., Dyer W.E., El-Itriby H.A., Madkour M.A. Field evaluation of transgenic wheat plants stably expressing of HVA1 gene for drought tolerance *Physiol. Plant.* 2005 123 No 4 pp.421-427. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00470.x>
  5. Lestari, E.G. (2006) *In vitro* selection and somaclonal variation for biotic and abiotic stress tolerance. *Biodiversitas*. 7. №3. P.297-301
  6. Rubio F., Nieves-Cordones M., Aleman F. Martinez V. Relative contribution of AtHAK5 and AtHAK1 to K<sup>+</sup> uptake in the high affinity range of concentrations. *Physiol. Plant.* 2008. 134. P.598-608. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01168.x>
  7. Fan L.M., Wu W.-H. Yang Y.-Y. Identification and characterization the inward K<sup>+</sup> channel in the plasma membrane *Brassica* pollen protoplasts. *Plant Cell Physiol.* 1999. 40 (8). P.859-865. [DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a029615](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029615)
  8. Xu L., Song J.-Q., Wang Y.-L., Liu X.-H., Li X.-L., Zhang B., Li A.-J., Ye X.-F., Wang J., Wang P. Thymol improved salinity tolerance of tobacco by increasing the solium ion efflux and enhancing the content of nitric. – *BMC Plant Biol.* 2022. 22:31. doi: [10.1186/s12870-021-03395-7](https://doi.org/10.1186/s12870-021-03395-7)
  9. Surosz W., Palinska K.A. Ultrastrural changes inderced by selected cadmium and copper concentration in the cyanobacterium *Phormidium*: interaction with salinity. *J. Plant Physiol.* 2000. 157. P.643–650. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(00\)80007-3](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80007-3)