

РОЗРОБЛЕННЯ СПОСОБІВ ОЦІНКИ ТА ДОБОРУ ГЕНОТИПІВ ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР НА СТІЙКІСТЬ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ

Пикало С.В., Демидов О.А., Юрченко Т.В., Гуменюк О.В., Харченко М.В., Рибка К.М.
Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла
Національної академії аграрних наук України
с. Центральне, 08853, Миронівський р-н, Київська обл.
pykserg@ukr.net

Вирощування високих урожаїв зернових культур і підвищення їхніх валових зборів – пріоритетний напрямок у розвитку вітчизняного сільськогосподарства. Абіотичні стресори викликають низку молекулярних, фізіологічних і морфологічних змін, які впливають на ріст і продуктивність культурних рослин. Актуальним є створення нових і вдосконалення наявних методів скринінгу генотипів злакових на стійкість до несприятливих чинників довкілля. У представленій роботі розроблено ефективні способи оцінки та добору селекційного матеріалу зернових колосових культур, зокрема пшениці та тритикале, на стійкість до таких абіотичних факторів середовища, як водний дефіцит, засолення, низькі температури, забруднення іонами алюмінію. Створені способи охороняються патентами на корисні моделі. Наведено порівняльну характеристику різних методів, їхні переваги і недоліки в масовому скринінгу зразків на стійкість до екстремальних умов навколишнього середовища. Обґрунтовано доцільність застосування створених фізіологічних і біотехнологічних способів оцінки та добору генотипів зернових культур на адаптивну стійкість. Переваги запропонованих методів над традиційними полягають у можливості об'єктивно аналізувати селекційний матеріал, працювати з великими вибірками генотипів, контролювати умови зовнішнього середовища та проводити оцінку впродовж року. Запропоновані розробки доповнять методологію і сприятимуть створенню нових сортів із цінними практичними властивостями. Представлені дослідження спрямовані на розв'язання проблеми стійкості злакових культур до несприятливих кліматичних факторів, а також орієнтовані на розвиток розуміння реакцій рослин на стрес і впровадження нових методів для вирішення прикладних завдань селекції пшениці та тритикале. Результати досліджень є певним внеском у вивчення як теоретичних, так і практичних аспектів стійкості зернових колосових культур до абіотичних стресових чинників довкілля та можуть застосовуватися як елементи селекційних програм. *Ключові слова:* зернові культури, абіотичні стресори, стійкість, спосіб, оцінка, добір.

Development of methods for assessment and selection of grain crops genotypes for tolerance to abiotic stress factors. Pykalo S., Demydov O., Yurchenko T., Humeniuk O., Kharchenko M., Rybka K.

Cultivation high yields of grain crops and increasing their gross harvests is a priority direction in the development of domestic agriculture. Scientific research showed that abiotic stresses causes making changes in cultivated plants at their physiological, biochemical and molecular level that influence on their growth and productivity. Creation of new and improvement of existing methods for screening cereal genotypes which are tolerant to unfavorable environmental factors is urgent. In the presented work effective methods have been developed for assessing and selecting breeding material of cereal crops, in particular wheat and triticale, for tolerance to such abiotic environmental factors as water deficit, salinity, low temperatures and contamination with aluminum ions. The created methods are protected by patents for utility models. Comparative characteristics of different methods, their advantages and disadvantages in mass screening of samples for tolerance to extreme environmental conditions are presented. The expediency of using the created physiological and biotechnological methods for assessing and selecting genotypes of grain crops for adaptive tolerance was substantiated. The advantages of the proposed methods over the traditional ones are the ability to objectively analyze breeding material, work with large samples of genotypes, control of environmental conditions and conduct an assessment throughout the year. The proposed developments will complement the methodology and will contribute to the creation of new varieties with valuable practical properties. The presented researches are directed on the decision of a problem of tolerance of cereals to adverse climatic factors and are focused on development of understanding plant responses to stress and introducing new methods for the decision of applied problems of wheat and triticale breeding. The research results are a definite contribution to the study of both theoretical and practical aspects of the tolerance of cereal crops to abiotic stress factors of the environment and can be used as elements of breeding programs. *Key words:* cereals, abiotic stressors, tolerance, method, assessment, selection.

Постановка проблеми. 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 та тритикале. Пшениця займає перше місце в світі за посівними площами (біля 230 млн. га) і валовим збором зерна (понад 766,4 млн. т) [2]. Поширеність цієї культури зумовлена її високою біологічною пластичністю щодо екологічних умов і,

перш за все, високою поживністю зерна, з якого отримують багато харчових продуктів [3]. Пшениця – це культура, що вирощується майже у кожному господарстві, а її експорт приносить нашій країні чималі кошти. Українські аграрії надають перевагу пшениці озимій, оскільки вона швидше звільняє поле і тим самим дає більше часу для підготовки поля під посів наступної культури [4]. Тритикале – порівняно новий вид родини злакових, штучно створений селекціонерами шляхом схрещування пшениці і жита, який поєднує цілий ряд господарсько-біологічних характеристик, властивих вихідним видам [5]. До таких особливостей варто віднести високий потенціал урожайності зерна та зеленої маси, комплексний імунітет до грибних захворювань, високий вміст білка і лізину в зерні, а також основних поживних речовин в зеленій масі [5; 6].

Збільшення урожайності є найбільш важливим критерієм у вирощуванні будь-яких сільськогосподарських культур. Однак сучасна динаміка підвищення врожайності зернових не відповідає необхідним ритмам для задоволення потреб населення [7]. Генетичний потенціал вітчизняних сортів зернових злаків знаходиться в межах 11–14 т/га, проте у виробничих умовах реалізується лише 45 % [8]. Є багато чинників, які не дають змоги повною мірою реалізувати детермінований спадковий потенціал сортів. Реальна врожайність пшениці та тритикале залишається невисокою внаслідок порушення технології вирощування інтенсивних сортів, а також через те, що не всі сорти захищені механізмами гомеостазу [9]. Проходження фаз розвитку, інтенсивність росту та продуктивність рослин цілком залежать від умов навколишнього середовища та оптимального забезпечення необхідними факторами життя [10].

Актуальність дослідження. 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 [10]. Загальне забруднення навколишнього середовища, різке загострення екологічної ситуації у світі в результаті антропогенного впливу, глобальне потепління й аридизація клімату зробили проблему адаптації та стійкості однією з головних у біології та фізіології рослин. Глобальне потепління і пов'язана з ним часта повторюваність посух зумовлюють необхідність об'єднання зусиль біотехнологів, генетиків і селекціонерів для створення адаптивних генотипів пшениці та тритикале. Однак адаптація можлива лише тоді, коли рослинний організм здатний проявити стійкість на будь-якому рівні, від клітинного до популяційного, та пристосуватися до нових умов росту і розвитку [11]. Тому створення адаптивних сортів з принципово новими характеристиками, здатних забезпечувати високу і стабільну продуктивність за різних умов довкілля, стійких до

екстремальних умов вирощування – актуальна проблема сучасної селекції [12; 13].

Зв'язок авторського доробку з важливими науковими та практичними завданнями. Представлені матеріали – частина науково-дослідних робіт: «Вивчити генетичні та фізіологічні складники формування адаптивного потенціалу зернових і виділити на цій основі донори морозостійкості та посухостійкості для використання в селекції озимої м'якої пшениці», номер держреєстрації № 0116U004005; «Генетичні засади якісних та кількісних господарсько-цінних ознак, розробка сучасних біотехнологій створення та оцінки вихідного матеріалу і підвищення ефективності методів поліпшення генотипів рослин» («Біотехнологія і генетика в рослинництві»), номер держреєстрації № 0116U004006.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. За даними О.О. Жученка [14], внесок селекції у підвищення урожайності сягає 30–70 %, а з урахуванням глобальних змін клімату роль селекції буде лише зростати. При цьому можливість керування генотиповою мінливістю культурних видів буде ще більш актуальною. Генетичне різноманіття сортів, 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 [15]. З розвитком сучасної генетики та біотехнології виникають нові та удосконалюються класичні методи селекції, спрямовані на створення сортів з господарсько цінними ознаками [16]. У традиційній технології селекційного процесу зернових колосових культур на сучасному етапі особливої актуальності набуває концентрація, пошук і створення генетично різноманітного вихідного матеріалу [15]. З огляду на економічні та екологічні обмеження, пов'язані зі зменшенням посівних площ та інтенсифікацією сільськогосподарських витрат, генетичне вдосконалення сортів розглядають як найреальніший і найрентабельніший спосіб підвищення врожайності [16]. Генетичне вдосконалення пшениці та тритикале 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 [1; 3; 7]. 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 [8].

Стійкість до абіотичних стресових чинників довкілля для селекційного вдосконалення пшениці та тритикале є вкрай важливим та набуває особливої актуальності, оскільки дозволить розширити

посіви цих культур в районах з несприятливими кліматичними умовами [9; 11; 13]. 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 довкілля – посухи, екстремальних температур, засолення, забруднення іонами токсичних металів тощо [10; 12; 15]. Проведення досліджень з оцінки генотипів на стійкість до того чи іншого стресу є однією з умов підвищення ефективності селекційного процесу зернових культур [16]. Зважаючи на це, методологічне забезпечення всебічного вивчення стрес-стійкості сільськогосподарських рослин є пріоритетним завданням багатьох селекційних установ України.

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття. Для тестування перспективних зразків злакових культур є багато методів, заснованих на різних принципах дії, і кожен із них має свої переваги і недоліки. Вибір способу значною мірою залежить від ступеню 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 на стійкість до несприятливих чинників довкілля.

Метою роботи є розроблення ефективних способів оцінки та добору селекційного матеріалу пшениці і тритикале на стійкість до абіотичних стресових чинників довкілля – водного дефіциту, засолення, низьких температур, забруднення іонами алюмінію.

Новизна. Розроблено нові способи оцінки та добору генотипів зернових колосових культур на стійкість до абіотичних факторів середовища (водний дефіцит, засолення, низькі температури, забруднення іонами алюмінію), які охороняються патентами на рисні моделі.

Методологічне або загальнонаукове значення. Розроблені ефективні способи оцінки та добору стійких генотипів злакових до дії водного дефіциту, засолення, низьких температур, іонів алюмінію доповнять методологію і сприятимуть створенню нових сортів із цінними практичними властивостями. Представлені дослідження спрямовані на розв'язання проблеми стійкості злакових культур до

несприятливих кліматичних факторів, а також орієнтовані на розвиток розуміння реакцій рослин на стрес і впровадження нових методів для вирішення прикладних завдань селекції пшениці та тритикале.

Виклад основного матеріалу. Як вже зазначалося вище, успіх селекції злакових на стійкість до того чи іншого стресу значною мірою залежить від правильної оцінки цієї ознаки у створюваних сортах. Тому у відділі біотехнології, генетики і фізіології Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААН (МІП) ми розробили способи оцінки та добору селекційного матеріалу зернових культур (пшениці та тритикале) на стійкість до таких абіотичних стресових чинників, як водний дефіцит, засолення, низькі температури, забруднення іонами алюмінію.

1. Розроблення способу оцінки стійкості генотипів пшениці м'якої озимої до водного дефіциту

Серед природних чинників, що найбільш негативно впливають на всі фізіологічні процеси росту і розвитку рослин і, в кінцевому рахунку, призводять до втрат урожаю, є водний дефіцит, викликаний посухою [17]. Шкідлива дія посухи полягає, в першу чергу, у зневодненні і порушенні метаболічних процесів у рослинах, що призводить до розпаду білків, зміни колоїдно-хімічного стану цитоплазми клітини і, як наслідок, до зниження кількості накопиченої рослинами органічної речовини [18]. Стрес, викликаний посухою, веде до прямих або непрямих пошкоджень рослин, які обумовлені інактивацією ферментів, порушенням біохімічних шляхів, накопиченням токсичних речовин, витоком іонів, дефіцитом живлення та іншими причинами [19]. Очікується, що з прогресуючим глобальним потеплінням клімату періодичність повторення посух за роками буде тільки посилюватися [20].

У селекційній практиці зернових колосових культур на сьогодні широко використовують спосіб оцінки стійкості генотипів до посухи, що заснований на проведенні польових дослідів [21]. Проте польові методи оцінки дуже витратні та часто через обмежену кількість насіння вихідного матеріалу є нездійсненними. Оскільки безпосередня оцінка рівня агрономічної стійкості рослин до посухи є тривалим та трудомістким завданням, в селекційній та інтродукційній практиці широко використовуються непрямі лабораторні методи оцінки біологічної стійкості за фізіологічними, анатомічними, морфологічними та біохімічними показниками [22–24]. Ці підходи полягають у використанні не самої стійкості до нестачі вологи, а будь-якої іншої біологічної властивості, що пов'язана з даною ознакою. На сьогодні існує ціла низка непрямих методів оцінки посухостійкості рослин пшениці. Найбільш використовуваними з них є реєстрація товщини листя і визначення у них відносного вмісту води (RWC) [25–27], визначення інтенсивності транспірації проростків і виносу з транспіраційною вологою мінеральних

іонів [28], вимір електроопору у верхній частині проростків пшениці за допомогою голчастих електродів [29], реєстрація електропровідності листя за здатністю листків виділяти або утримувати різну кількість електролітів [30–32]. До відомих відносяться також методи оцінки посухостійкості за оптичною густиною екстрактів листя, ростовою реакцією, ступенем відновлення мітохондріальної активності меристеми пагона після підсушування, величиною енергетичного заряду аденозинфосфатної системи [33; 34]. Відомий спосіб, що заснований на визначенні швидкості гідролізу статолітного крохмалю у клітинах кореневого чохла рослини [35]. Даний показник визначається візуально під мікроскопом і оцінюється в умовних балах. Існують різні методи тестування в лабораторних умовах, проте всі вони базуються на порівнянні біометричних характеристик або біохімічних показників рослин при перенесенні їх в селективні умови [29; 31; 34]. Біохімічний підхід оцінки пшениці на стійкість до нестачі вологи полягає у реєстрації зміни активності різних ферментів (нітратредуктази, пероксидази) [36], вимірі концентрації вільного проліну [37; 38], визначенні вмісту загального білка, гліколіпідів і фосфоліпідів у фракції мембран хлоропластів [39], аналізі накопичення рослинами цукрів [40]. Серед механізмів адаптації рослин до водного дефіциту важливе значення має накопичення сумісних осмолітів, одним з яких є пролін. Відомо, що збільшення вмісту цієї амінокислоти у клітинах рослин сприяє підвищенню стійкості до осмотичного стресу [41]. Тому динаміку змін вмісту проліну у рослинах широко використовують як показник їхньої підвищеної стійкості до водного дефіциту. Одержані у багатьох працях результати опосередковано підтверджують гіпотезу про провідну роль проліну як осмопротектора за водного стресу [37; 41; 42]. Основна перевага біохімічних методів полягає в тому, що їх можна використовувати при оцінці стійкості на різних етапах розвитку рослин, що значно поглиблює уявлення про посухостійкість.

Нині найефективнішими вважаються методи ранньої діагностики на насінні і проростках, оскільки вони дають змогу проводити оцінку впродовж року і аналізувати велику кількість селекційного матеріалу [43; 44].

Одним із методів оцінки посухостійкості сільськогосподарських культур, у тому числі пшениці, є визначення відсотку пророслого насіння на розчинах речовин, що викликають зниження водного потенціалу в клітинах [45]. Встановлено, що висока частка пророслого насіння на субстраті з осмотиком характеризує його здатність проростати в ґрунті при дуже малих запасах вологи [43; 44]. Тому визначення кількості пророслого насіння на розчинах з високим осмотичним тиском, які імітують умови фізіологічної посухи, дає можливість на ранніх етапах онтогенезу оцінити відносну посухостійкість рослин. Як

осмотик, як правило, використовують високомолекулярний поліетиленгліколь або дисахарид сахарозу, однак подібними властивостями характеризується і такий шестиатомний спирт, як низькомолекулярний маніт. Показано [46], що поряд з сахарозою маніт має аналогічну спроможність до моделювання водного стресу, що робить його перспективним для ранньої діагностики посухостійкості сортів пшениці. Тому у відділі біотехнології, генетики і фізіології МПІ ми розробили та запатентували спосіб оцінки стійкості генотипів зернових до водного дефіциту, що обумовлений здатністю насіння різних сортів проростати неоднаково проростати на високоосмотичних розчинах [47]. При цьому оцінку окремих генотипів проводять за часткою пророслого насіння на розчинах з додаванням певних концентрацій маніту.

Спосіб включає нижче перераховані процеси. З кожного селекційного зразка відбирали насіння по 100 шт. та поміщали у підготовлені чашки Петрі з двома шарами фільтрувального паперу, які попередньо стерилізували у сушильній шафі протягом 2 год за температури 160 °С. На дно кожної чашки поміщали насіння і знезаражували шляхом обприскування розчином гіпохлориту натрію у співвідношенні 1:3. Через 30 хв заливали 10 мл розчину низькомолекулярного маніту у концентраціях 0,2, 0,4 та 0,6 М і пророщували у термостаті протягом 7 днів за температури 20–21 °С. Селективний розчин готували з використанням дистильованої води й маніту заданої концентрації з подальшим автоклавуванням тривалістю 15 хв. В якості контролю насіння досліджуваних сортів пшениці пророщували на дистильованій воді. Підрахунки наклюненого насіння проводили на 7-у добу. Визначали відсоток схожості сортів на розчинах маніту і їх відношення до схожості в контролі. Оцінку проводили в трьох повторностях. Високий відсоток пророслого насіння характеризує здатність сорту проростати в ґрунті при дуже малих запасах вологи. Слід зазначити, що для достовірної оцінки слід використовувати насіння одного року репродукції та однієї фракції. Даний винахід спрямований на розв'язання проблеми посухостійкості пшениці та сприятиме створенню нових сортів з цінними практичними властивостями.

Застосовуючи запропонований спосіб, нами проведено скринінг сортів пшениці м'якої озимої, створених у різних екологічних зонах, на стійкість до водного дефіциту та виділено джерела посухостійкості [48].

2. Розроблення способу оцінки стійкості до засолення генотипів тритикале озимого

Засолення ґрунтів, що пов'язане з високою концентрацією натрій розчинних солей в орному шарі ґрунту, нині завдає аграрному виробництву непоправної шкоди. Внаслідок безсистемного та безконтрольного проведення меліоративних заходів негативному впливу засолення піддається велика кількість

земель. Як відомо, шкідлива дія засолення має комплексний характер і зумовлена як порушенням осмотичного балансу клітин, так і прямим токсичним впливом на фізіологічні та біохімічні процеси в клітині [49; 50]. Основний напрям розв'язання цієї проблеми – створення сортів із високим генетичним потенціалом продуктивності, які можуть реалізувати його незалежно від лімітів середовища. Отже, отримання нових адаптивних сортів є найбільш надійним вирішенням проблеми підвищення врожайності зернових культур, зокрема тритикале, за умов дії сольового стресу.

Для скринінгу солестійких генотипів існує багато технологій зі схожим принципом роботи. Однак на сьогодні жодна з них не є оптимальною, у зв'язку з чим актуальним залишається створення нових і вдосконалення вже наявних способів оцінки селекційного матеріалу. Нині є метод відбору рослин на солестійкість, заснований на аналізі параметрів врожайності у польових умовах [51]. Однак складність цього методу полягає у просторовій гетерогенності фізичних і хімічних властивостей ґрунту, а також сезонних коливаннях кількості атмосферних опадів. Тому на практиці з цією метою використовуються вегетаційні приміщення з контрольованими умовами вирощування, де в якості основного критерію стійкості рослин використовують накопичення більшої біомаси при сильному засоленні порівняно з контролем [52]. Проте для виявлення реальної солестійкості сортів зернових культур необхідно проводити тривалі експерименти – від двох тижнів до кількох місяців, що є непрактичним для скринінгу великої кількості генотипів або відбору солестійкого потомства. Також як критерій солетолерантності може слугувати відсутність пошкодження листя рослин, що культивуються на засоленому субстраті [53]. Водночас токсичний ефект солей на рослину полягає у їх високій концентрації в цитоплазмі і клітинній стінці. Однак осмотичний ефект солі може призвести до прискореного старіння листя у зв'язку з дефіцитом в них води. Окрім того, можливий також дефіцит одних або надлишок інших іонів, що в кінцевому рахунку призводить до отримання хибних результатів. Відомий також спосіб, який включає визначення солестійкості за схожістю насіння при пророщуванні його на засоленому субстраті [54]. Вважається, що швидкість проростання та схожість насіння за селективних умов залежать не лише від стійкості генотипу, але і значною мірою від стану зародка і насінневих оболонок [55]. Тому, як наслідок, відбір генотипів в умовах стресу лише за енергією проростання насіння не завжди може давати об'єктивний результат. Зважаючи на це, ми розробили спосіб оцінки стійкості генотипів тритикале до засолення, що обумовлений здатністю рослин неоднаково рости на сольових субстратах. Метод відрізняється тим, що оцінку окремих зразків проводять за зміною довжин пагонів та головних коренів 10-добо-

вих проростків на штучних субстратах з додаванням певних концентрацій хлориду натрію (NaCl) [56].

Запропонований спосіб включає нижче перераховані процеси. Заздалегідь відібране і відсортоване насіння піддавали знезараженню 1 % розчином перманганату калію. По 20 насінин кожного зразка висівали у пластикові горщики з піском та середовищем Хогланда-Арнона [57] з додаванням NaCl концентрацією 1,5 %. Горщики поміщали в термостат і витримували при температурі 24 °С, відносній вологості повітря 70 %, освітленні 3–4 клк і 16-годинному фотоперіоді протягом 10 діб. За контроль прийняте середовище без NaCl. Через 10 діб культивування у стадії проростків визначали довжину пагона та головного кореня (середнє від загальної кількості). Вимірювання проводили за допомогою лінійки з точністю до 1 мм. Дослід проводили в трьох повторностях. Солестійкість кожного окремого генотипу тритикале оцінювали за морфометричними показниками проростків, що культивувалися на субстраті з хлоридом натрію. При цьому різна реакція генотипів на сольовий стрес виявлялася неоднаковою довжиною пагонів та головних коренів за дії стресового чинника.

У проведених дослідженнях [58; 59] нами показано, що зміна довжин пагонів та головних коренів на початкових фазах розвитку (10-добові рослини) під впливом хлориду натрію достовірно відображає ступінь солестійкості генотипів тритикале озимого.

3. Розроблення способу добору морозостійкого селекційного матеріалу пшениці м'якої озимої

Морозостійкість є однією з необхідних складових адаптивності сортів пшениці озимої [9; 60]. Під час створення сортів цієї культури однією з найважливіших властивостей рослин, що потребує уваги на всіх етапах селекційної роботи, є здатність протистояти несприятливим умовам зимівлі, зокрема стійкість до низької температури та до її коливань протягом зимового періоду [12; 61]. Тому в селекції пшениці озимої широко використовуються методи оцінювання за морозостійкістю селекційного матеріалу. Найбільш широко використовується спосіб оцінки за морозостійкістю рослин у висівних ящиках [62]. Ящики розміром 30×40 см і глибиною 12–15 см заповнюють звичайним просіяним ґрунтом на 3–4 см нижче верхнього краю. Дослідний матеріал висівають у ящику в рядки через 3–4 см по 20–25 насінин в кожному і насипають зверху ґрунту на 3 см. Весь період осені і початку зими рослини перебувають у природних умовах, де проходять першу та другу фазу загартування. Після загартування ящики транспортують із вегетаційного майданчика і поміщають в низькотемпературні камери (КНТ – 1М), де проводять проморожування дослідних зразків. Оцінку за морозостійкістю проводять через 15–20 діб після проморожування рослин у камерах. Проте недоліками цього способу є мала пропускна здатність, трудомісткість, необхідність використання значної

площі штучного клімату, а також те, що рослини, які вижили при проморожуванні не зберігаються для подальшого вирощування, тобто метод слугує лише для оцінки рослин за морозостійкістю, а не для добору кращих з них за вказаною ознакою.

Зважаючи на вищезазначене, перед нами постало завдання створити спосіб, який дозволить зручно, швидко і без великих енерговитрат відібрати з гібридних популяцій пшениці м'якої озимої морозостійкий селекційний матеріал. Тому ми розробили та запатентували спосіб добору морозостійкого селекційного матеріалу пшениці м'якої озимої у гібридних поколіннях, що обумовлений дією стресового низькотемпературного чинника, спрямованого проти виживання нестійких форм [63]. Водночас добори генотипів проводять за проморожування проростків при дії підібраних диференціюючих температур протягом підбраного часового проміжку з наступним дорощуванням у відкритому ґрунті.

Спосіб включає нижче перераховані процеси. З кожного селекційного зразка відбирали 200 насінин, які пророщували протягом 48 год у чашках Петрі на фільтрувальному папері у термостаті за температури 25 °С. Зернівки, що проросли, вміщували у спеціальні марлеві мішечки, які склали у скляний ексікатор. Насіння з проростками приблизно однакового розміру 3–5 мм проморожували за схемою: перша фаза загартування за температури +1 °С протягом 8 діб, друга фаза загартування – 3 доби за температури -4 °С, надалі – зниження до наміченої температури проморожування по 2 °С на годину. Оптимальною для диференціації проростків за морозостійкістю є температура проморожування від -11,5 до -12,5 °С. Для загартування та проморожування проростків пшениці озимої використовували спеціально пристосовані камери ЛВН-200 Г. Після проморожування температуру у камері так само поступово підвищували. Проростки розкладали у лотках на вологому фільтрувальному папері. Для загальної оцінки гібридної комбінації за морозостійкістю через 5–6 діб проводили підрахунок проростків, що вижили після проморожування. Живі проростки кожного зразка пшениці розкладали, скручували у паперові рулони і поміщали в камеру, де вони проходили яровизацію терміном 50 діб за температурного режиму +1 °С. Навесні проростки у рулонах висаджували у відкритий ґрунт, контролюючи вологозабезпечення поливом. Графік проморожування при доборі морозостійких рослин повинен бути скоригований таким чином, щоб висаджування проростків у полі проводилося на початку квітня за сприятливих погодних умов.

Результати досліджень засвідчили, що проморожування рослин у фазі проростків забезпечує зменшення трудомісткості процесу, дозволяє провести одночасно проморожування значної кількості селекційного матеріалу та забезпечує дорощування морозостійких рослин у польових умовах [30].

4. Розроблення способу добору *in vitro* стійких до іонів алюмінію генотипів тритикале озимого

Більше ніж половина ґрунтів, що використовуються у світовому землеробстві, характеризується підвищеною кислотністю, негативний вплив якої на рослини в багатьох випадках підсилюється через наявність рухомих іонів алюмінію [64]. Токсичні іони алюмінію впливають на процеси росту та продуктивність на всіх фазах онтогенезу рослин злакових, але в ювенільний період більший вплив мають на ступінь розвитку коріння, ніж паростку [65]. Відомо, що при вмісті рухомого алюмінію в дозі 3–4 мг/100 г ґрунту ріст рослин пригнічується, а за концентрації 7–8 мг/100 г ґрунту вони гинуть [66]. Тому створення генотипів рослин, здатних протидіяти токсичному впливу іонів алюмінію без зниження урожайності є єдиним можливим вирішенням проблеми вирощування зернових за умов кислих ґрунтів.

Оцінка вихідного матеріалу в селекції на алюмініюстійкість потребує застосування сучасних і ефективних методів. Для ідентифікації стійких рослин нині використовуються переважно вегетаційні та лабораторні методи, за використання яких зазвичай оцінюється ступінь пригнічення росту коренів або накопичення в них алюмінію [67]. Рослини вирощують у посудинах з кислим ґрунтом протягом місяця або в польових умовах впродовж вегетаційного періоду, після чого порівнюються суха маса кореня, пагона і вміст алюмінію у тканинах рослини у дослідному варіанті і контролі (при нетоксичному рівні рН). Проте подібний метод може бути занадто чутливим для нестійких форм. Окрім того, він вимагає значних витрат часу, оскільки передбачає постійний контроль вмісту алюмінію, що надходить в тканини рослин.

Альтернативою виміру ростових параметрів за стресових умов є метод фарбування коренів гематоксиліном, що служить індикатором споживання алюмінію чутливими рослинами [68]. При цьому збільшення інтенсивності фарбування і відповідно підвищений рівень поглинання алюмінію відображають знижену стійкість рослин. Однак цей метод дозволяє швидше якісно, ніж кількісно оцінити вміст алюмінію в коренях. Недоліком методу є також те, що іноді фарбування відбувається навіть за відсутності алюмінію або не відбувається зовсім, незважаючи на його високу концентрацію.

Існує лабораторна оцінка проростків тритикале до токсичної дії алюмінію за відростанням коренів в період репарації з використанням хлориду алюмінію 6-водневого в якості стрес-чинника [69; 70]. Однак недоліком даного методу є те, що рослини з відносно низькою швидкістю росту можуть здаватися більш стійкими, ніж вони є насправді, оскільки ступінь пригнічення швидкості росту кореня у них менший, ніж у рослин з більш активним ростом. Цей спосіб не дозволяє також відокремити інгібування росту коренів внаслідок зниження рівня рН від інду-

кованого власне токсичною дією алюмінію. Тому в результаті багато рослин, чутливих до кислого середовища, але толерантних до алюмінію, можуть бути оцінені як нестійкі до нього.

Як відомо, ізольовані рослинні клітини акумулюють алюміній набагато швидше і більш чутливі до стресу, ніж клітини в складі організму [71]. Тому для оцінки алюмостійкості рослин зернових досить актуальними є біотехнологічні підходи з використанням культури тканин *in vitro* [72]. Ці підходи застосовуються для скринінгу стійких генотипів, створення та ідентифікації соматональних варіантів з підвищеною стійкістю, а також для вивчення реакції клітин на токсичність іонів алюмінію. При цьому стійкі форми можна ідентифікувати шляхом порівняння росту калюсів на кислому середовищі за присутності і відсутності іонів алюмінію. Використання тканинних і клітинних культур дає можливість ефективно прискорити селекційний процес і у багатьох країнах світу вважається важливим доповненням до класичних методів селекції сільськогосподарських рослин. Тому ми розробили та запатентували спосіб добору *in vitro* стійких до іонів алюмінію генотипів тритикале озимого, що обумовлений токсичною дією стресового чинника, спрямованого проти виживання нестійких форм [73]. Новим є те, що відбори генотипів за стійкістю до іонів алюмінію проводять на калюсах, що культивуються на штучному живильному середовищі з додаванням різних концентрацій етилендіамінетраацетату алюмінію (Al-ЕДТА), за рівнем їх виживання в селективних умовах, приростом сирі маси та частотою регенерації з них пагонів. Суть методу полягає в тому, що він базується на клітинних технологіях *in vitro* і дає змогу значно прискорити та спростити відбір стійких до іонів алюмінію генотипів тритикале.

Запропонований спосіб включає нижче перераховані процеси. З кожного селекційного зразка в полі зрізали колосся, пилок у якого перебував в стадії ранньої чи середньої одноядерної мікроспори. Потім проводили холодovu обробку пиляків, витримуючи зрізане колосся у камері при температурі 3–5 °С, без освітлення, впродовж 6–14 днів. Після цього матеріал стерилізували 0,25 % гіпохлоритом натрію впродовж 7–10 хв з наступним промиванням стерильною соляною кислотою протягом 10 хв, потім тричі промивали стерильною дистильованою водою. Для індукції ембріодогенезу ізольовані мікроспори культивували в темряві при 27 °С у флаконах ємністю 10 мл з 1,5 мл живильного середовища 190-2 [74] впродовж 8 тижнів. Утворені ембріоди пересаджували на селективні середовища 190-2 з додаванням Al-ЕДТА у концентраціях 0,4; 1,2 та 2 мМ. За контроль прийняте середовище без Al-ЕДТА.

Через 4 тижні культивування підраховували кількість живих ембріодів та визначали їх сиру масу. Для

індукції морфогенезу ембріоди пересаджували на модифіковане середовище для регенерації Мурасіге-Скуга [75] без вмісту фітогормонів. Отримані пагони в міру розвитку переносили на безгормональне середовище Мурасіге-Скуга з половинним вмістом макросолей для укорінення. Для подвоєння хромосом укорінені рослини після тридобового витримування в камері штучного клімату при температурі 4 °С обробляли колхіцином за загальноприйнятою методикою. Далі рослини-регенеранти пересаджували у горщики зі спеціально підбраною ґрунтовою сумішшю і поміщали у вологу камеру на 7-14 дб, після чого їх переносили у ґрунт. Алюмостійкість кожного окремого генотипу визначали за рівнем виживання ембріодів за селективних умов, приростом їх сирі маси та частотою регенерації з них пагонів. При цьому різна реакція генотипів на токсичну дію іонів алюмінію виявлялася неоднаковим приростом сирі маси ембріодів та різним морфогенетичним потенціалом за дії стресового чинника.

Переваги запропонованого методу над традиційними полягають у економії місця та можливості працювати з великими вибірками генотипів, більшій швидкості скринінгу селекційного матеріалу, а також можливості контролювати умови зовнішнього середовища. Використання розробленого способу сприяє в короткі терміни відібрати значну кількість генотипів, стійких до забруднення іонами алюмінію, і, як наслідок, забезпечує скорочення селекційного процесу тритикале.

Головні висновки. Отже, результатом проведених досліджень є комплекс розроблених та запатентованих способів оцінки та добору генотипів зернових колосових культур на стійкість до абіотичних стресових чинників довкілля. Наведено порівняльну характеристику різних методів, їхні переваги і недоліки в масовій оцінці зразків зернових колосових культур на стійкість до екстремальних умов навколишнього середовища. Обґрунтовано доцільність застосування розроблених фізіологічних і біотехнологічних способів оцінки та добору генотипів злакових на адаптивну стійкість. Переваги запропонованих методів над традиційними полягають у можливості об'єктивно аналізувати селекційний матеріал, працювати з великими вибірками генотипів, більшій швидкості скринінгу зразків, контролювати умови зовнішнього середовища та проводити оцінку впродовж року.

Перспективи використання результатів дослідження. Отримані результати є певним внеском у вивчення як теоретичних, так і практичних аспектів стійкості зернових колосових культур до абіотичних факторів середовища та можуть застосовуватися як елементи селекційних програм. Використання розроблених методів у селекції пшениці та тритикале сприятиме створенню нових сортів, що мають цінні практичні властивості.

Література

1. Ткачук В.І. Інновації як фактор підвищення ефективності виробництва зерна. *Ефективна економіка*. 2014. № 2. С. 1–3
2. FAO. Crop Prospects and Food Situation – Quarterly Global Report. № 4. December 2019. Rome. 46 p. <http://www.fao.org/3/ca7236en/ca7236en.pdf>
3. Черенков А.В., Гасанова І.І., Солодушко М.М. Пшениця озима – розвиток та селекція культури в історичному аспекті. *Бюлетень Інституту сільськогосподарства степової зони*. 2014. № 6. С. 3–6.
4. Жемела Г.П., Кузнецова О.А. Вплив сортових властивостей на продуктивність та якість зерна пшениці м'якої озимої. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2012. № 3. С. 23–25.
5. Oettler G. The fortune of a botanical curiosity – Triticale: past, present and future. *Journal of Agricultural Science*. 2005. Vol. 143. № 5. P. 329–346.
6. Mohammad F., Ahmad I., Khan N. U., Maqbool K., Naz A., Shaheen S., Ali K. Comparative study of morphological traits in wheat and triticale. *Pakistan Journal of Botany*. 2011. Vol. 43. P. 165–170.
7. Гринчук Т. Підходи до аналізу сучасного стану зерновиробництва у сільськогосподарських підприємствах регіону та факторів, які впливають на його розвиток. *Науковий вісник Одеського національного економічного університету*. 2015. № 9. С. 48–60.
8. 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.
9. Пірич А.В. Морозостійкість нових сортів пшениці м'якої озимої миронівської селекції. *Миронівський вісник*. 2018. Вип. 7. С. 85–92.
10. Лихочвор В.В., Петриненко В.Ф., Іващук П.В. *Зерновиробництво*. Львів: НВФ «Українські технології». 2008. 624 с.
11. Рибалка О.І. Геноміка, транскриптоміка, протеоміка і біоінформатика на службі сучасної селекції пшениці. *Збірник наукових праць Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортівивчення*. 2013. Вип. 21 (61). С. 18–38.
12. Бацманова Л.М., Грудіна Н.С., Стороженко В.О., Таран Н.Ю., Мусієнко М.М. Адаптивні реакції рослин озимої пшениці різних екотипів на дію пероксиду водню. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2010. Т. 42. № 2. С. 163–168.
13. Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. Селекція сортів озимої пшениці на високу зимо- та морозостійкість. *Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть*. Київ, 2001. Т. 2. С. 204–211.
14. 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.
15. Жученко А.А. Возможности создания сортов и гибридов растений с учетом изменения климата. Стратегия адаптивной селекции полевых культур в связи с глобальным изменением климата: Сб. научн. трудов по материалам междунар. научно-практ. конф. (г. Саратов, 16–18 июня 2004 г.). Саратов, 2004. С. 10–16.
16. 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
17. Моргун В.В., Швартау В.В., Кирилий Д.А. Физиологические основы получения высоких урожаев пшеницы. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2008. Т. 40. № 6. С. 463–479.
18. Blum A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential – are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? *Australian Journal of Agricultural Research*. 2005. Vol. 56. № 11. P. 1159–1168.
19. 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.
20. Mwadzingeni L., Shimelis H., Dube E. et al. Breeding wheat for drought tolerance: Progress and technologies. *Journal of Integrative Agriculture*. 2016. Vol. 15, Iss. 5. P. 935–943.
21. Makar O.O., Patsula O.I., Kavulych Y.Z., Batrashkina T.I., Bunio L.V., Kozlovskyy V.I., Vatamaniuk O., Terek O.O., Romanyuk N.D. Excised leaf water status as a measure of drought resistance of Ukrainian spring wheat. *Studia Biologica*. 2019. Vol. 13, Iss. 2. P. 41–54.
22. Методика державного сортопробування сільськогосподарських культур / за ред. В. В. Волкодава. 2000. К.: АЛЕФА, С. 10–50.
23. Корхова М.М., Уліч Л.І. Вивчення посухостійкості сортів озимої пшениці порівняльним експрес-методом. *Агробіологія*. 2010. Вип. 2 (69). С. 113–115.
24. Chaichi M., Sanjarian F., Razavi K., Gonzalez-Hernandez J.L. Phenotypic diversity among Iranian bread wheat landraces, as a screening tool for drought tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2019. Vol. 41. № 6. P. 1–15.
25. Yadav A.K., Carroll A.J., Estavillo G. M. Rebetzke G.J., Pogson B.J. Wheat drought tolerance in the field is predicted by amino acid responses to glasshouse-imposed drought. *Journal of Experimental Botany*. 2019. Vol. 70. № 18. P. 4931–4948.
26. Catsky J. Water saturation deficit (relative water content). *Methods of Studying Plant Water Relations* / Ed. N. Slavik. Springer-Verlag, 1974. P. 136–156.
27. Chandra D., Islam M.A. Genetic variation and heritability of excised-leaf water loss and its relationship with yield and yield components of F5 bulks in five wheat crosses. *Journal of Biological Sciences*. 2003. Vol. 3. № 11. P. 1032–1039.
28. El-Hendawy S.E., Al-Suhaibani N.A., Elsayed S., Hassan W.M., Dewir Y.H., Refay Y., Abdella K.A. Potential of the existing and novel spectral reflectance indices for estimating the leaf water status and grain yield of spring wheat exposed to different irrigation rates. *Agricultural Water Management*. 2019. Vol. 217. P. 356–373.
29. Моргун В.В., Стасик О.О., Кірізій Д.А., Прядкіна Г.О. Зв'язок реакції фотосинтетичних показників і зернової продуктивності на ґрунтову посуху в контрастних за стійкістю сортів озимої пшениці. *Физиология растений и генетика*. 2016. Т. 48. № 5. С. 371–381.

30. Ляшок А.К., Мусич В.Н. Способы отбора устойчивых озимых и яровых растений из ярово-озимых гибридов в фитотроне. Системы интенсивного культивирования растений: сб. науч. тр. Ленинград, 1987. С. 125–129.
31. Булавка Н.В., Юрченко Т.В., Кучеренко О.М., Пірич А.В. Сорти пшениці м'якої озимої, стійкі до впливу негативних чинників довкілля. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2018. Т. 14. № 3. С. 255–261.
32. Кожушко Н.Н. Выход электролитов как критерий оценки засухоустойчивости и особенности его использования для зерновых культур. Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды / под ред. Г. В. Удовенко. Ленинград: Колос, 1976. С. 32–42.
33. Никитин В.А. Быстрый способ определения электропроводности растительной ткани. *Физиология растений*. 1964. Т. 13. № 2. С. 373–376.
34. Григорюк И.А., Ткачев В.И., Савинская С.В., Мусиенко Н.Н. Современные методы исследования и оценки засухо- и жароустойчивости растений. Київ: Науковий світ, 2003. 139 с.
35. Дорофеев В.Ф., Руденко М.И., Удачин Р.А. Засухоустойчивые пшеницы (методические указания) / под ред. В.Ф. Дорофеева. Ленинград: ВИР, 1974. 186 с.
36. Генкель П.А., Баданова К.А., Левина В.В. О новом лабораторном способе диагностики жаро- и засухоустойчивости для селекции. *Физиология растений*. 1970. Т. 17. № 2. С. 431–437.
37. Маменко Т.П., Ярошенко О.А. Зміни активності антиоксидантних ферментів у листках озимої пшениці, індуковані саліциловою кислотою в умовах посухи. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2010. Т. 42. № 6. С. 513–521.
38. Андрущенко В.К., Саянова В.В., Жученко А.А., Дьяченко Н.И., Чиликина Л.А., Дроздов В.В., Корочкина С.К., Череп Г.И., Медведев В.В., Нютин Ю.И. Модификация метода определения пролина для выявления засухоустойчивых форм рода *Lycopersicon* Tournef. *Известия Академии наук Молдавской ССР. Серия биологических и химических наук*. 1981. Т. 4. С. 55–60.
39. Sattar S., Afzal R., Bashir I., Nawaz B., Shahid A. Biochemical, molecular and morpho-physiological attributes of wheat to upgrade grain production and compete with water stress. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*. 2019. Vol. 3. № 3. P. 510–528.
40. Кобилецька М., Рибак О., Телегій М. Активовані саліцилатом зміни інтенсивності пероксидації ліпідів у рослинах пшениці та кукурудзи за умов посухи. *Studia Biologica*. 2017. Т. 11. № 3-4. С. 62–63.
41. Абдуллаев А.А., Джумаев Б.Б., Эргашев А., Сабоиев И.А., Каримов Х.Х. Влияние засухи на фотосинтетические параметры флаговых листьев различных сортов пшеницы. *Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение биологических и медицинских наук*. 2010. № 4 (173). С. 46–53.
42. Колупаев Ю.Е. Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Проллин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*. 2014. Т. 2. № 32. С. 6–22.
43. Маленька У., Кобилецька М., Терек О. Вплив саліцилової кислоти на вміст вільних амінокислот і проліну в рослин пшениці та кукурудзи за умов посухи. *Studia Biologica*. 2014. Т. 8. № 2. С. 123–132.
44. Бычкова О.В., Хлебцова Л.П. Физиологическая оценка засухоустойчивости яровой твердой пшеницы. *Acta Biologica Sibirica*. 2015. Т. 1. № 1-2. С. 107–116.
45. Варавкин В.А., Таран Н.Ю. Диагностика засухоустойчивости сортов пшеницы разной селекции по осморегуляторным свойствам семян. *ScienceRise*. 2014. Т. 3. № 1(3). С. 18–22.
46. Олейникова Т.В., Осипов Ю.Ф. Определение засухоустойчивости сортов пшеницы и ячменя, линий и гибридов кукурузы по прорастанию семян на растворах сахарозы с высоким осмотическим давлением. Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды / под ред. Г.В. Удовенко. Л.: Колос, 1976. С. 23–32.
47. Прокопів Н.І., Чугункова Т.В., Хоменко С.О. Оцінка посухостійкості сортів пшениці м'якої озимої різного еколого-географічного походження за умов осмотичного стресу. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2019. № 3(79). URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/12692>
48. Спосіб оцінки генотипів пшениці м'якої озимої до дії водного дефіциту: пат. 132899 Україна: МПКА01Н 1/04. No 201811089; заявл. 09.11.2018; опубл. 11.03.2019, Бюл. № 5. 4 с.
49. Пикало С.В., Юрченко Т.В., Харченко М.В. Скринінг сортів пшениці (*Triticum aestivum* L.) різного еколого-географічного походження на посухостійкість. *Екологічні науки*. № 4 (27). С. 77–82.
50. Krasensky J., Jonak C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*. 2012. Vol. 63. № 4. P. 1593–1608.
51. Bartels D., Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2005. Vol. 24. № 1. P. 23–58.
52. Richards R.A., Dennett C.W., Qualset C.O., Epstein E., Norlyn J.D., Winslow M.D. Variation in yield of grain and biomass in wheat, barley, and triticale in a salt-affected field. *Field Crops Res.* 1987. Vol. 15. № 3–4. P. 277–287.
53. Семущина Л.А., Синельникова В.Н. Методические указания при использовании вегетационных методов при изучении солеустойчивости однолетних сельскохозяйственных растений. Ленинград: Всесоюзный НИИ растениеводства, 1977. 20 с.
54. Munns R., James R. A. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil*. 2003. Vol. 253. № 1. P. 201–218.
55. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (методическое руководство) / Под ред. Г.В. Удовенко. Л.: ВИР, 1988. 228 с.
56. Cakmak T., Dumlupinar R., Erdal S. Acceleration of germination and early growth of wheat and bean seedlings grown under various magnetic field and osmotic conditions. *Bioelectromagnetics*. 2010. Vol. 31. № 2. P. 120–129.
57. Спосіб оцінки стійкості до засолення генотипів тритикале озимого: пат. 140534 Україна: МПК А01Н 1/04, А01Н 6/00. No 201905097; заявл. 14.05.2019; опубл. 10.03.2020, Бюл. № 5. 4 с.
58. Hoagland D.R., Arnon D.I. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circulation*. 1938. Vol. 347. 39 p.

59. Пикало С.В. Солестійкість рослин R₁ тритикале, отриманих шляхом клітинної селекції. *Миронівський вісник*. 2017. № 5. С. 82–91.
60. Пикало С.В. Дубровна О.В. Стійкість до абіотичних стресорів рослин R₁ тритикале, отриманих шляхом клітинної селекції. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*. 2015. Вип. 3(36). С. 76–82.
61. Польовий А.М., Блищик Д.В., Феоктістов П.О. Динамічна модель формування зимостійкості рослинами озимої пшениці на території Південного Степу України. *Український гідрометеорологічний журнал*. 2014. № 14. С. 105–111.
62. Ионова Е.В., Иванисов М.М. Морозостойкость озимой пшеницы. *Зерновое хозяйство России*. 2014. № 4. С. 36–40.
63. Пшеница озима. Метод визначення морозостійкості сортів: ДСТУ 4749:2007. Київ: Держспоживстандарт України, 2008. 8 с.
64. Спосіб добору морозостійкого селекційного матеріалу пшениці м'якої озимої: пат. 128674 Україна: МПК А01Н 1/00, А01Н 3/00. № 201711023; заявл. 13.11.2017; опубл. 10.10.2018, Бюл. № 19. 4 с.
65. Barcelo J., Poschenrieder C. Fast root growth, responses root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. *Environmental and Experimental Botany*. 2002. Vol. 48. № 1. P. 75–92.
66. Dinev N., Stancheva I. Effect of aluminum on the growth of wheat, rye, and triticale. *Journal of Plant Nutrition*. 1993. Vol. 16. № 3. P. 461–469.
67. Zhang X.G., Jessop R.S. Differential responses to selection for aluminium stress tolerance in triticale. *Aust. J. Agric. Res.* 2002. Vol. 53. № 12. P. 1295–1303.
68. Samac D.A., Tesfaye M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils – a review. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2003. Vol. 75. № 3. P. 189–207.
69. Bona L., Carver B.F. A proposed scale for quantifying aluminum tolerance levels in wheat and barley detected by hematoxylin staining. *Cereal Research Communications*. 1998. Vol. 26. № 1. P. 97–99.
70. Morath D., Oettler G., Melchinger A. E. Screening methods for aluminium tolerance in seedlings of triticale. In: *Triticale: Today and Tomorrow. Developments in Plant Breeding*. Guedes-Pinto H., Darvey N., Carnide V. P. (eds.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1996. Vol 5. P. 453–459.
71. Колесникова Н.Н. Оценка яровой тритикале на устойчивость к токсичности алюминия. Клеточная биология и биотехнология растений : тез. док. Междунар. науч.-практ. конф. (г. Минск, 13–15 февраля 2013 г.). Минск, 2013. С. 98.
72. Conner A.J., Meredith C.P. Large scale selection of aluminum-resistant mutants from plant cell culture: expression and inheritance in seedlings. *Theoretical and Applied Genetics*. 1985. Vol. 71. № 2. P. 159–165.
73. Gaus C.S., Oettler G., Hesemann C.-U. Response of mature triticale embryos to aluminium-toxic callus induction media. In: *Triticale: Today and Tomorrow. Developments in Plant Breeding*. Guedes-Pinto H., Darvey N., Carnide V. P. (eds.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1996. Vol 5. P. 365–371.
74. Спосіб добору *in vitro* стійких до іонів алюмінію генотипів тритикале озимого: пат. 136957 Україна: МПК А01Н 1/04. № 201901582; заявл. 18.02.2019; опубл. 25.09.2019, Бюл. № 18. 4 с.
75. Zhuang J.J., Xu J. Increasing differentiation frequencies in wheat pollen callus. In: *Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement*. Hu H., Vega M. R. (eds). 1983. Beijing: Science Press. P. 431.
76. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. № 3. P. 473–497.