УДК 633.16:631:527:572

ВПЛИВ СТРОКІВ ПЕРЕСАДЖУВАННЯ МОРФОГЕННИХ СТРУКТУР НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ОДЕРЖАННЯ РОСЛИН-РЕГЕНЕРАНТІВ У КУЛЬТУРІ ПИЛЯКІВ *IN VITRO* ЯРОГО ЯЧМЕНЮ

Білинська О.В.

Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН
E-mail: bilynskaov@gmail.com

Вихід гаплоїдів у культурі пиляків *in vitro* залежить від інтенсивності перебігу процесів індукції морфогенних структур (калюсу, ембріоїдів) та регенерації рослин. Своєю чергою ефективність регенерації визначається типом морфогенезу (прямий або непрямий ембріоїдогенез, органогенез) та умовами реалізації морфогенетичного потенціалу, включно зі строком пересадки морфогенних структур на середовище для одержання рослин-регенерантів. Зокрема, рекомендується пересаджувати калюси та ембріоїди, утворені у культурі пиляків ячменю, якомога раніше – за досягнення ними розміру 1 мм [4] або навіть 0,5 мм [3], щоб запобігти втраті здатності до регенерації.

Як свідчать результати власних досліджень з експериментального андрогенезу *in vitro* у ярого ячменю перші видимі неозброєним оком структури на поверхні пиляків з'являються через 17−20 діб від початку культивування пиляків. Зазвичай спостереження за динамікою індукції морфогенних структур ми починаємо на 20−25-у добу, продовжуючи з інтервалом 5−7 діб до 35-ї доби (для нечутливих до андрогенезу *in vitro* генотипів – до 45-ї доби) від початку культивування пиляків, коли можна підрахувати максимальну кількість морфогенних пиляків перед пересадкою калюсу та ембріоїдів на середовище для регенерації [1].

Цілком очевидно, що за більш ранньої пересадки (через 25–30 діб) буде підраховано меншу кількість пиляків, з мікроспор яких утворилися видимі морфогенні структури, і менше цих структур у перерахунку на один пиляк, порівняно з їх числом за тривалішого культивування на індукційному середовищі. Але залишені після першої пересадки дрібні глобулярні структури будуть продовжувати ріст та розвиток, формуючи ембріоїди чи

морфогенний калюс. У пиляках триватимуть процеси трансформації мікроструктур у морфогенні макроструктури. Тому через певний проміжок часу необхідно буде провести наступну пересадку новоутворених морфогенних структур (можливо, не одну) для одержання максимальної кількості рослин-регенерантів. З огляду на це не виключено, що глобулярні проембріо та калюс, утворені впродовж різних часових інтервалів, можуть мати відмінності за здатністю до регенерації, від чого буде залежати доцільність застосування тих чи інших методичних підходів для підвищення ефективності одержання гаплоїдів у культурі пиляків *in vitro*.

Мета досліджень полягала у визначенні оптимального строку пересадки морфо-генних структур, індукованих у культурі пиляків *in vitro* ярого ячменю, на живильне середовище для регенерації.

Як матеріал для досліджень використано лінію ярого ячменю DH00-126 андрогенного походження з генетично детермінованою високою здатністю до утворення гаплоїдів у культурі пиляків *in vitro* (еталон високого рівня прояву ознаки). Рослини-донори пиляків вирощували у польових умовах. Попередню обробку колосся проводили шляхом витримування пагонів у воді за температури 4 ºС у холодильнику впродовж 5−6 діб. Пиляки культивували на середовищі NMSмод. 2 [2], яке містило як гелеутворювач агар (0,8 %, Ferak, США). Морфогенні структур (калюс та ембріоїди) переносили на регенераційне середовище з мінеральною основою МС [5] та зниженим до 3 % вмістом сахарози, 100 мг/л міо-інозітолу, 100 мг/л глутаміну, 0,5 мг/л БАП та 0,05 мг/л НУК, загущене агаром (0,8 %).

Термін пересадки – 25 та 35 діб від початку культивування пиляків на індукційному середовищі. Для реалізації схеми досліду було сформовано дві вибірки з культиваційних посудин (пробірок) з висадженими пиляками. Ефективність андрогенезу *in vitro* було оцінено за кількістю морфогенних пиляків у відсотках від загальної кількості культивованих пиляків та кількістю зелених рослин-регенерантів на 100 культивованих пиляків.

Спостереження за динамікою утворення морфогенних структур, проведені через 25 діб після інокуляції пиляків, засвідчили, що кількість морфогенних пиляків становила

31,2±2,8 % у вибірці «25 діб» та 27,4±2,5 % у вибірці «35 діб». Різниця за цим показником між двома вибірками була неістотною. Натомість впродовж періоду з 25 -ї по 35-у добу відбулося більш ніж дворазове зростання кількості морфогенних пиляків − до 58,9±2,8 % – у вибірці «35 діб».

Усі культиваційні ємкості в обох варіантах досліду після першої пересадки було залишено у термостаті для подальшого утворення, росту та розвитку морфогенних структур. Через 2−3 тижні було зроблено повторну пересадку, для якої добирали пробірки з культурою за інтенсивністю росту морфогенних структур без дотримання чітких строків пересадки. Підрахунок одержаних нормально пігментованих рослин-регенерантів показав, що ефективність регенераційних процесів за першої пересадки через 25 діб становила 14,9±2,2 рослин на 100 пиляків. За відтермінування цієї маніпуляції до 35 доби кількість рослин-регенерантів на 100 пиляків сягала 46,8±2,8 шт. Після двох пересадок у відповідних варіантах досліду було одержано 21,2±2,5 і 49,0±2,8 рослин на 100 пиляків. Варто звернути увагу на той факт, що повторна пересадка в обох варіантах досліду істотно не вплинула на загальну результативність одержання гаплоїдів у культурі пиляків *in vitro,* хоча можна відмітити тенденцію до більш високої ефективності регенерації у варіанті «25 діб».

Отже, нами не підтверджено переваги термінової пересадки морфогенних структур, індукованих у культурі пиляків *in vitro* ярого ячменю. Можливо, на більш збалансованому за поживними речовинами регенераційному середовищі відбувалося б інтенсивніше формування ембріоїдів із пересаджених глобулярних структур, що сприяло б підвищенню виходу рослин-регенерантів незалежно від терміну пересадки. Планується продовжити дослідження з визначення оптимального строку пересадки морфогенних структур за використання регенераційного середовища зі зменшеною вдвічі концентрацією мінеральних компонентів та оптимізованого за комплексом фізіологічно активних сполук.

Список літератури:

1. Белинская Е. В., Дульнев П. Г. Особенности морфогенеза в культуре *in vitro* пыльников ярового ячменя на средах с

химически модифицированными крахмалами. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2012. Т. 44, № 5. С. 440−448.

2. Білинська О. В., Дульнєв 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.,[1,2] Зайцева Л.І.[1]

[1,] Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара
E-mail: irinaza.ldfr@gmail.com

[2] Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
E-mail: Zlenko_lora@ukr.net

Засоленя та водний дефіцит є одним із агресивних факторів довкілля. Воно здатне спричиняти шкодо 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 стрестійкості 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