

РОЗДІЛ 7

**ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ В
РОСЛИННИЦТВІ І ТВАРИННИЦТВІ**

УДК 633.16:631:527:572

**ОДЕРЖАННЯ АНДРОГЕННИХ ГАПЛОЇДІВ НА ОСНОВІ
МІЖВИДОВИХ ТА МІЖСОРТОВИХ ГІБРИДІВ ЯЧМЕНЮ
ЗА ВИКОРИСТАННЯ ДОВГОТРИВАЛОЇ ПОПЕРЕДНЬОЇ
ОБРОБКИ КОЛОССЯ**

Білинська О. В., Шелякіна Т. А.

Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН

E-mail: bilynskaov@gmail.com

Попередня обробка суцвіть чи безпосередньо пиляків за умов низької позитивної температури або, навпаки, за температури, що значно перевищує оптимальну, є обов'язковим елементом технологій гаплоїдної індукції у багатьох видів рослин [1]. З огляду на те, що фаза розвитку мікроспор має критичне значення для зміни їхньої спеціалізації *in vitro* у бік формування багатоклітинних структур і регенерації рослин, застосування низької температури важливе для сповільнення гаметогенезу і подовження періоду морфогенетичної компетентності клітин. До прикладу, у ячменю оптимальна для одержання гаплоїдів у культурі пиляків *in vitro* фаза пізньої вакуолізованої мікроспори триває 2 доби. Натомість за температури 4 °С мікроспори можуть перебувати у цій фазі 14 і навіть 28 діб [2], що істотно розширює можливості масового одержання гаплоїдів у селекційних програмах порівняно із використанням свіжого рослинного матеріалу.

Проте дія субоптимальних температур за попередньої обробки пов'язана не лише зі зниженням темпів чи блокуванням розвитку мікроспор, а й із стимулюванням андрогенезу *in vitro*, що приводить до багаторазового зростання ефективності одержання гаплоїдів і на їхній основі – константних гомозиготних ліній. Детальне вивчення механізмів

Екологічна біотехнологія та біотехнологія в рослинництві і тваринництві

стимулюючого ефекту попередньої обробки засвідчило, що цей стресовий чинник, особливо за його довготривалого впливу, викликає суттєві зміни у метаболізмі клітини, зокрема утворення NO, АФК, а також аутофагії [3]. Нерідко описані у літературних джерелах способи і режими попередньої обробки є непридатними для застосування у певних умовах експерименту, а тому потребують оптимізації. Нами удосконалено довготривалу обробку, що дозволило покращити якість матеріалу, одержаного з рослин, які було вирощено у польових, не завжди сприятливих умовах [4].

Мета досліджень полягала в оцінюванні ефективності застосування інноваційного елементу технології – довготривалої попередньої обробки ізольованого колосся для одержання гаплоїдів на основі міжвидових та міжсорткових гібридів ячменю.

Як матеріал для гаплоїдизації використано шість гібридних популяцій F_1 – F_2 , чотири з яких було одержано за схрещування культурного ячменю з *H. spontaneum*. Останній вид було представлено колекційними зразками Національного центру генетичних ресурсів рослин України: IU30009 (SIR), IU06712 (Az), IU 046086-1 (ISR), культурний ячмінь – сортами Великан (BLR), Явір, Модерн (UKR) та CDC Alamo (CAN). До міжвидових схрещувань *H. spontaneum* було залучено як материнську форму. Андрогенну здатність гібридів порівнювали з еталоном високого рівня прояву ознаки – лінією DH00-126.

Рослини-донори пиляків вирощували у польових умовах. Гідротермічний режим впродовж вегетаційного періоду у 2023 р. був сприятливим для росту і розвитку ярого ячменю. Попередню обробку колосся проводили шляхом витримування пагонів у воді за температури 4 °C у холодильнику впродовж 5–6 діб (контроль) та колосся впродовж 28 діб згідно з розробленим нами способом. Пиляки культивували на середовищі NMSмод. 2 [5], яке містило як гелеутворювач агар (0,8 %, Ferak, США). Морфогенні структури (калос та ембріоїди) переносили на регенераційне середовище з мінеральною основою MC та зниженим до 3 % вмістом сахарози, 100 мг/л міо-інозitolу, 100 мг/л глютаміну, 0,5 мг/л БАП та 0,05 мг/л НУК, загущене агаром (0,8 %).

Результати досліджень засвідчили майже дворазове зростання середньої частоти морфогенних пиляків у гібридів (з

Екологічна біотехнологія та біотехнологія в рослинництві і тваринництві

30,56±0,80 % до 56,90±1,14 %) за використання удосконаленого способу попередньої обробки. Середня кількість зелених рослин-регенерантів збільшилася з 9,3±0,5 шт. до 22,9±1,0 шт.

Було підтверджено доцільність залучення до гаплоїдизації гібридів, одержаних на основі генотипів, чутливих до андрогенезу *in vitro*, зокрема таких сортів, як Великан, Явір та Модерн. У комбінаціях схрещування за участі цих сортів мало місце домінування або неповне домінування їхньої андрогенної здатності, що дозволило одержати рослини-регенеранти на основі не лише міжсорткових, але й міжвидових гібридів. Найвищу кількість морфогенних пиляків було одержано у комбінаціях *H. spontaneum* ПУ30009×Великан (64,01±2,32 %), Явір×Модерн (62,57±2,58 %), Явір×Alamo (61,87±2,91 %) та *H. spontaneum* 046086-1×Великан (58,88±3,05 %). За кількістю одержаних рослин-регенерантів виділилися комбінації Явір×Modern (39,42±2,61 %), *H. spontaneum* 046086-1×Великан (27,64±2,12 %), *H. spontaneum* ПУ30009×Великан (27,64±2,12 %). У модельного генотипу ДН00-126 за застосування удосконаленої технології кількість морфогенних пиляків зросла з 51,94±2,26 % до 76,08±1,76 %, а кількість зелених регенерантів – з 39,1 до 106,9 шт. на 100 культивованих пиляків.

Заслуговує на увагу порівняння гаплопродукційних показників у гібридів F₁ та F₂ комбінації схрещування *H. spontaneum* IR30009×Великан. Зокрема, було встановлено істотні переваги більш пізнього гібридного покоління за частотою утворення морфогенних структур і за виходом зелених рослин як у контролі, так і у дослідному варіанті. Особливо контрастними виявилися відмінності за кількістю нормально пігментованих рослин-регенерантів. Так, у контролі у F₂ було одержано 11,8 рослин на 100 культивованих пиляків, а у F₁ – 2 рослини. За використання удосконаленого способу попередньої обробки відповідні показники становили 22,2 та 8,6 зелених рослин.

Таким чином, на матеріалі, одержаному за міжвидових та міжсорткових схрещувань, підтверджено ефективність розробленого способу довготривалої попередньої обробки за його використання у технологічній схемі гаплоїдної індукції у ячменю. Більш високі показники гаплопродукції у гібридів F₂ порівняно з

Екологічна біотехнологія та біотехнологія в рослинництві і тваринництві

F₁ можуть бути предметом генетичних досліджень, а також дозволяють планувати раціональне використання гібридного матеріалу для маніпуляцій *in vitro*.

Список літератури

1. Seguí-Simarro J.M., Belinchón M. J., Guillot Fernández M., Mir R. Species with Haploid or Doubled Haploid Protocols. *Doubled Haploid Technology*. 2021. doi:10.1007/978-1-0716-1315-3_3, (41-103).
2. Sunderland N., Huang B. Barley anther culture: the switch of program and albinism. *Hereditas*. 1985. Supl. 3. P. 27–40.
3. Rodríguez-Serrano M., Bárány I., Prem D., Coronado M.J., Risueño M.C., Testillano P.S. NO, ROS, and cell death associated with caspase-like activity increase in stress-induced microspore embryogenesis of barley. *J. Exp. Bot.* 2012 V. 63, N 5. P.2007–2024. doi: 10.1093/jxb/err400.
4. Bilynska O.V. Influence of spike pretreatment at a low temperature on the efficiency of spring barley haploid production in anther culture *in vitro*. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2020. V.30, N 1, P. 68–76. doi:10.15407/cryo30.01.068.
5. Білинська 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. doi:10.7124/FEEO.v. 25.1161.

УДК 581.1:582.94

ЗАЛЕЖНІСТЬ ВМІСТУ ФЛАВОНОЇДІВ У ЛИСТКАХ *DRACOCERPHALUM MOLDAVICA* L. У КУЛЬТУРІ *IN VITRO* ВІД СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА

Воробей Т. Ю., Гайдаржи О. В., Нужина Н. В.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
E-mail: tikti.231@gmail.com

Зростаюча потреба охорони здоров'я в лікарських засобах рослинного походження ставить на перший план питання