

7. Гузеватий О.С. Методики оцінки якості ооцит-кумулясних комплексів корів для кріоконсервування / О.С. Гузеватий, П.А. Троцький, Ю.М. Собко // Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві.— К.: Аграрна наука, 2005.— С. 180–187.

8. Tarkowski A.K. An air-drying method for chromosome preparation from mouse eggs / A.K. Tarkowski // Cytogenetics.— 1966.— Vol.5, №3.— P. 394–400.

9. Остаповець Л.І. Морфологічна та цитогенетична оцінка незрілих ооцитів свиней / Л.І. Остаповець // Вісник проблем біології і медицини.— 2008.— №1.— С. 42–47.

10. Cytogenetic evaluation of in vitro matured bovine oocytes collected from ovaries of individual donors / J. Sosnowski, M. ZwitoDski, D. Lechniak [et al.] // Theriogenology.— 1996.— Vol.45, №4.— P. 865–872.

11. Prather R.S. Practical considerations for the in vitro production of pig embryos / R.S. Prather, B.N. Day // Theriogenology.— 1998.— Vol.49, №1.— P. 23–32.

Резюме

Наведено результати експериментальних досліджень використання сучасних генетико-біотехнологічних методів оцінки якості гамет. Встановлено, що використання цитогенетичного методу оцінки дозволяє встановити ступінь мейотичної зрілості деконсервованих і прокультивованих гамет корів та закономірності перебігу мейозу в ооцитах свиней при дозріванні *in vitro*.

Приведены результаты экспериментальных исследований использования современных генетико-биотехнологических методов оценки качества гамет. Установлено, что использование цитогенетического метода оценки позволяет установить степень мейотического созревания деконсервированных и прокультивированных гамет коров и закономерности прохождения мейоза в ооцитах свиней при созревании *in vitro*.

The results of experimental researches the use of modern genetic-biotechnological methods estimation of quality gamets are resulted. It is set that the use of cytogenetics method estimation allows to set the degree of meiotic maturing of frozen-thawed and maturation gamets cows and mechanism passing of meiosis of porcine oocytes during maturation *in vitro*.

САВЕНКО Е.Г., ГЛАЗЫРИНА В.А., ШУНДРИНА Л.А.

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт риса
Россия, г. Краснодар, 350921, п/о Белозерное, E-mail: arrri_kub@mail.ru*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ КУЛЬТУРЫ ПЫЛЬНИКОВ РИСА *IN VITRO*

При длительном культивировании каллусов (более 50 дней) на искусственных питательных средах в условиях *in vitro* у них теряется способность к регенерации растений [16]. В опытах использовали янтарную кислоту (ЯК) (бутандиовая — двухосновная предельная карбоновая кислота), которая в настоящее время рассматривается как эффективный, дешевый и экологи-

чески чистый стимулятор роста, повышающий урожайность, устойчивость к стрессам. ЯК участвует в процессе клеточного дыхания, так как является промежуточным продуктом цикла Крепса (интермедият). Работает на уровне митохондрий, в природе образуется при экстремальных погодных воздействиях и наиболее эффективна в условиях стресса (холод, голод, *in vitro*).

ЯК усиливает интенсивность дыхания за счет накопления АТФ, увеличивает энергетический заряд, следовательно, усиливает процессы обмена веществ, повышает содержание хлорофилла и продуктивность.

Цель исследования

Определить влияние янтарной кислоты (ЯК) на процессы каллусообразования, регенерации и способность продлевать морфогенетические потенции у длительно культивируемого каллуса.

Изучалось 4 варианта искусственных питательных сред:

1 вариант — 1 мг/л 2,4-Д + 5 мг/л ЯК;

2 вариант — 1 мг/л 2,4-Д + 10 мг/л ЯК;

3 вариант — 1 мг/л 2,4-Д + 15 мг/л ЯК;

4 вариант — 1 мг/л 2,4-Д + 20 мг/л ЯК.

Контролем служила среда Блейдса, содержащая макро- и микросоли и 2 мг/л 2,4-Д.

Материал и методы

Использовали пыльники 11 гибридных комбинаций. В первой части исследований использовали каллусообразующую среду, содержащую ауксин 2,4-Д и обогащенную янтарной кислотой в различных концентрациях. Контролем служила среда Блейдса, содержащая 2 мг/л 2,4-Д. Вторая часть эксперимента включала культивирование андрогенных каллусов на искусственные питательные среды (ИПС), содержащие 1 мг/л α -НУК и 5 мг/л кинетин.

Работы велись по стандартной методике для культуры клеток и тканей *in vitro*, предусматривающей асептические условия культивирования.

Результаты и обсуждение

В ходе работы анализировали качество каллуса. Белые, плотные, компактные каллусы классифицировали как регенерационноспособные, дающие эмбриониды. Мягкие, рыхлые, желтоватые, влажные — нерегенерационноспособные каллусы [3, 7].

На каждый вариант инокулировано по 920 пыльников от гибридных комбинаций F₂. Каллус индуцировали 8 комбинаций (табл. 1).

В контрольном варианте из 8 комбинаций у 6 наблюдался процесс каллусообразования и варьировал от 0 до 15,0%. В среднем он составил 5,91%. В первом варианте из 8 комбинаций 7 продуцировали каллус — от 0% до 22,50%. В среднем — 8,76%. Во втором варианте также 6 комбинаций индуцировали каллус — 0–22,50%. В среднем он составил 7,72%. В третьем варианте 5 комбинаций индуцировали каллус — 0–22,50%. В среднем он составил 5,20%. В четвертом варианте 7 комбинаций индуцировали каллус — 0–16,25%. В среднем он составил 7,89%.

Таблица 1

Каллусообразование из пыльников риса на искусственных питательных средах, содержащих янтарную кислоту

Комбинация	Количество пыльников	Варианты питательных сред				
		контроль	1 вар.	2 вар.	3 вар.	4 вар.
F ₂ Неизв. х Линия (СП 11 х Лиман)	200	0	0	0	0	4,00
КСИ СУ-08 ВНИИР 10185	220	0,45	3,63	0	0	0
ВНИИР 10178 (КПСУ-04-37)	60	0	1,66	5,00	3,33	3,33
F ₂ д.253	60	8,30	1,66	13,33	5,00	13,33
ВНИИР 10178	160	10,63	16,88	13,13	22,50	10,00
F ₂ СП 1326-04 х Новатор	80	6,25	18,75	2,50	2,50	1,25
F ₂ (Рапан х Нарцисс) х СП 875-05	60	6,66	5,00	13,33	8,33	15,00
F ₂ д.126	80	15,00	22,50	22,50	0	16,25
Среднее		5,91	8,76	7,72	5,20	7,89

Таблица 2

Регенерация зеленых почек и регенерантов из пыльцевого каллуса на 60-70-е сутки культивирования

Комбинация	Количество зеленых почек и регенерантов				
	контроль	1 вар.	2 вар.	3 вар.	4 вар.
И.о. из КПСУ-03-324	0	3	0	0	0
F ₂ СП 1326-04 х Новатор	0	15	20	0	16
F ₂ д.253	0	0	30	30	0
F ₂ (Рапан х Нарцисс) х СП 875-05	0	0	15	0	0
Итого	0	18	65	30	16

Анализ результатов показал, что особых различий в каллусогенезе по вариантам нет. Но, нужно отметить, что в первом-четвертом вариантам ауксин 2,4-Д использовали в концентрации в 2 раза ниже, чем в контрольном варианте. При этом эффективность каллусообразования от применения сочетания 1 мг/л 2,4-Д с янтарной кислотой в различных концентрациях практически не отличается от результатов контрольного варианта.

Также нужно отметить тот факт, что каллусы, полученные на ИПС, содержащие ЯК, наиболее долго сохраняли регенерационные способности. Обычно на 40–50 сутки культивирования каллусы темнеют, некротизируются (отмирают). Каллусы же, полученные на средах с янтарной кислотой, даже на 70-е сутки регенерировали проростки (табл. 2).

Вывод

Комплексное применение 1 мг/л 2,4-Д и янтарной кислоты в концентрациях от 5 до 25 мг/л, как дешевого стимулятора деления клеток в культуре растительных тканей, можно рекомендовать для использования в технологиях *in vitro*.

Литература

1. Бутенко Р.Р. Культура изолированных клеток и тканей в селекции растений / Р.Р. Бутенко, Г.И. Тихонович и др. / Основы сельскохозяйственной биотехнологии, 1990.— С. 162–165.
2. Кучеренко Л.А. Каллусогенез, выход и характеристика регенерирующих растений риса в культуре тканей в зависимости от гормонального состава индукционной среды // Доклад РАСХН, 1993.— №4.— С. 3–6.
3. Круглова Н.Н. Морфогенетический потенциал спорогенных клеток пыльника злаков / Н.Н. Круглова, Т.Б. Батыгина, О.А. Сельдиминова / 2008.— С. 21.
4. Либберт Э. Физиология растений // М.: Мир, 1976.— С. 353–370.
5. Шевелуха В.С. Морфогенез в каллусных тканях // Сельскохозяйственная биотехнология, 1996.— С. 29–35.
6. Murashige I. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture / I. Murashige, F. Skoog // Plant Physiol.— 1962.— V.15.— P. 473–479.
7. Чупахина Г.Н. Янтарная кислота как результат ростовых процессов и биосинтеза аскорбиновой кислоты в растениях ячменя / Г.Н. Чупахина, А.Ю. Романчук / Тез. докл. конф. “Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях”, МСХА, 2001.— С. 73.

Резюме

Изучалось влияние комплексного использования 2,4-Д и янтарной кислоты на процессы каллусообразования и регенерации проростков из пыльников риса. Экспериментально установлено его положительное действие на процессы каллусогенеза и долгое сохранение регенерационных способностей у каллусов.

Influence of complex using of 2,4-D and succinic acid on processes of callus formation and regeneration of seedlings from rice anther was studied. Its positive effect on processes of callusogenesis and long storage of regenerative abilities of calluses was experimentally identified.

САМСОНОВА А.Е.¹, МАШКИНА О.С.^{1,2}, ТАБАЦКАЯ Т.М.¹, ИСАКОВ Ю.Н.¹

¹ФГУП НИИ лесной генетики и селекции

Россия, 394087, Воронеж, ул. Ломоносова, 105, e-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru

²Воронежский государственный университет,

Россия, 394006, Университетская площадь, д.1, e-mail:

olga_mashkina@yahoo.com

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* ЦЕННЫХ ГЕНОТИПОВ БЕРЕЗЫ

Взаимодействие всех частей растительного организма на внутриклеточном и организменном уровнях осуществляется с участием метаболической, генной, гормональной, электрофизиологической и трофической систем регу-