

## Выводы

Прорастание семян *Bellevalia sarmatica* в условиях *in vitro* происходило без применения стратификации с эффективностью 46%. Массовое формирование адвентивных побегов индуцируется на среде Гамборга В<sub>5</sub>, содержащей 0,2-1 мг/л БАП, при использовании качестве эксплантов базальных частей чешуек луковиц, с последующим развитием и укоренением растений на безгормональной среде.

Работа выполнялась в рамках проекта по поддержанию объекта национального научного достояния Украины "Коллекция зародышевой плазмы растений флоры Украины и мировой флоры".

## Литература

1. E.F.George, M.A.Hall, G.-J. De Klerk (eds.) Plant propagation by tissue culture. The 3<sup>rd</sup> edition. Volume 1. The background. // Springer. – 2008. - 501 p.
2. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин // Київ, "Наукова думка". – 2005. – 270 с.
3. Белокурова В.Б., Листван Е.В., Майстров П.Д., Сикура Й.Й., Глеба Ю.Ю., Кучук Н.В. Использование методов биотехнологии растений для сохранения и изучения биоразнообразия мировой флоры. // Цитология и генетика. – 2005. - №14. - с. 41-51.
4. Akutsu M., Sato H. Induction of proembryos in liquid culture increases the efficiency of plant regeneration from *Alstoemeria* calli. // Plant Science. – 2002. – v. 163. – p. 475-479.
5. Wozniowski T., Blaschek W., Franz G. *In vitro* propagation of *Lilium testaceum* and structural investigation of the storage  $\beta$ -1,4-glucomannan // Plant Cell Reports. – 1991. - v. 10. – p. 457-460.
6. Pandey R., Chandel K.P.S., Rao S.R. *In vitro* propagation of *Allium tuberosum* Rottl. ex. Spreng. by shoot proliferation // Plant Cell Reports. – 1992. - v.11. – p.375-378.
7. Selles M., Viladomat F., Bastida J., Codina C. Callus induction, somatic embryogenesis and organogenesis in *Narcissus confusus*: correlation between the state of differentiation and the content of galanthamine and related alkaloids // Plant Cell Reports. – 1999. - v. 18, № 7/8. – p. 646-651.
8. Robledo-Paz A., Villalobos-Arambula R., Jofre-Carfias A.E. Efficient plant regeneration of garlic (*Allium sativum* L.) by root-tip culture // In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. – 2000. - v. 36. - p. 416-419.

## Резюме

Разработан метод размножения *in vitro* растений охраняемого вида *Bellevalia sarmatica* (Pall. ex Georgi) Woronow (Hyacinthaceae) путём индукции адвентивных побегов в эксплантах базальных частей чешуек луковиц, полученных в результате асептического проращивания семян.

Розроблено метод розмноження *in vitro* рослин *Bellevalia sarmatica* (Pall. ex Georgi) Woronow (Hyacinthaceae), що охороняється, шляхом індукції адвентивних пагонів в експлантів базальних частин лусок цибулин, отриманих після асептичного пророщування насіння.

Method of *in vitro* propagation of endangered species *Bellevalia sarmatica* (Pall. ex Georgi) Woronow (Hyacinthaceae) has been elaborated via adventitious bulblet formation at the basal parts of the bulb scales.

## БІЛИНСЬКА О.В., КУЩЕНКО О.О.

Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Української академії аграрних наук Україна, 61060, Харків, проспект Московський, 142, e-mail: [bilinska@ukr.net](mailto:bilinska@ukr.net)

## ВПЛИВ ГАМЕТНОГО ДОБОРУ У КУЛЬТУРІ ПИЛЯКІВ IN VITRO НА МІНЛИВІСТЬ ОЗНАК ПРОДУКТИВНОСТІ ЛІНІЙ ПОДВОЄНИХ ГАПЛОЇДІВ ЯРОГО ЯЧМЕНЮ

Методи експериментальної гаплоїдії приваблюють можливістю швидкого отримання гомозиготних рекомбінантів, за рахунок чого досягається істотне (на 4–5 років) прискорення селекційного процесу [1, 2]. Окрім цього, відомо, що механізм утворення гаплоїдів *per se*, особливо в умовах штучного клімату, може нівелювати дію природного добору і створювати передумови для виникнення рослин-носіїв рідкісних цінних рекомбінацій [3]. Разом з тим, накопичено значний обсяг даних щодо відхилення від теоретично очікуваного розщеплення

1:1 у популяціях ліній подвоєних гаплоїдів, зокрема андрогенного походження, яке накладає певні обмеження на їх використання у генетичних і молекулярно-генетичних дослідженнях [4, 5].

Встановлено, що згадане відхилення є наслідком гаметного добору *in vitro*, суть якого полягає у переважному розвитку по спорофітному шляху мікроспор з вдалим набором генів культурабельності [6]. В разі зчеплення цих генів з генами, які детермінують певні біологічні та господарсько цінні ознаки, відбувається збільшення у популяції подвоєних гаплоїдів частот окремих генотипних і фенотипних класів, що може мати різний вплив на селекційну цінність ліній [7, 8]. З огляду на це метою досліджень була оцінка мінливості за ознаками продуктивності у популяції ліній подвоєних гаплоїдів гібридного походження у зв'язку з відмінностями за здатністю до андрогенезу *in vitro* сортів ярого ячменю, які були батьківськими формами гібридів.

#### **Матеріали та методи**

В дослідженнях використано популяцію ліній подвоєних гаплоїдів ярого ячменю, створену методом культури пиляків *in vitro* на основі реципрокних гібридів F<sub>1</sub> сортів Харківський 67 і Харківський 74, яким притаманна контрастна здатність до утворення калюсу, ембріоїдів та регенерації рослин.

Аналіз елементів структури урожаю проводили за загальноприйнятою методикою [9]. Аналізували такі ознаки: загальна та продуктивна кущистість, висота рослини, довжина головного колосу, кількість у головному колосі колосків та зерен, маса зерна головного колосу, щільність колосу, кількість та маса зерен з рослини, а також вміст у зерні білка і крохмалю. Враховували отримані раніше дані щодо мінливості за кількістю морфогенних пиляків і зелених рослин-регенерантів у відсотках від загальної кількості культивованих пиляків [10]. Об'єм вибірки – 20 рослин. Узагальнено дворічні експериментальні дані, одержані у роки, які різнилися за гідротермічним режимом. Кластерний аналіз сортів, ліній і гібридів за елементами структури урожаю проводили, використовуючи пакет програм “STATISTICA 6.0”.

#### **Результати і обговорення**

Сорти, які було використано в якості батьківських форм гібридів, різнилися за здатністю до андрогенезу *in vitro*, комплексом біологічних та господарсько цінних ознак. Зокрема, сорт Харківський 67 (різновидність *nutans*) належить до степової екологічної групи, характеризується високою стійкістю до посухи впродовж усього вегетаційного періоду, жаростійкий, середньостиглий має хороші круп'яні якості. Сорт Харківський 74 (різновидність *nutans*) належить до лісостепової екологічної групи, порівняно низькорослий, стійкий до вилягання, посухостійкість на ранніх фазах розвитку – вище середньої, у період наливу зерна – середня; має хороші пивоварні якості.

Характерною особливістю комбінації схрещування Харківський 67×Харківський 74 є гібридна депресія у F<sub>1</sub> за ознаками „висота рослини”, „довжина головного колосу” і „маса зерна з рослини”, а також відхилення у бік сорту Харківський 67 за продуктивною кущистістю, кількістю колосків і зерен у головному колосі, кількістю зерен з рослини. За рештою ознак мало місце проміжне успадкування. Водночас у гібридів відмічено гетерозис за гаплопродукційними показниками у культурі пиляків *in vitro*.

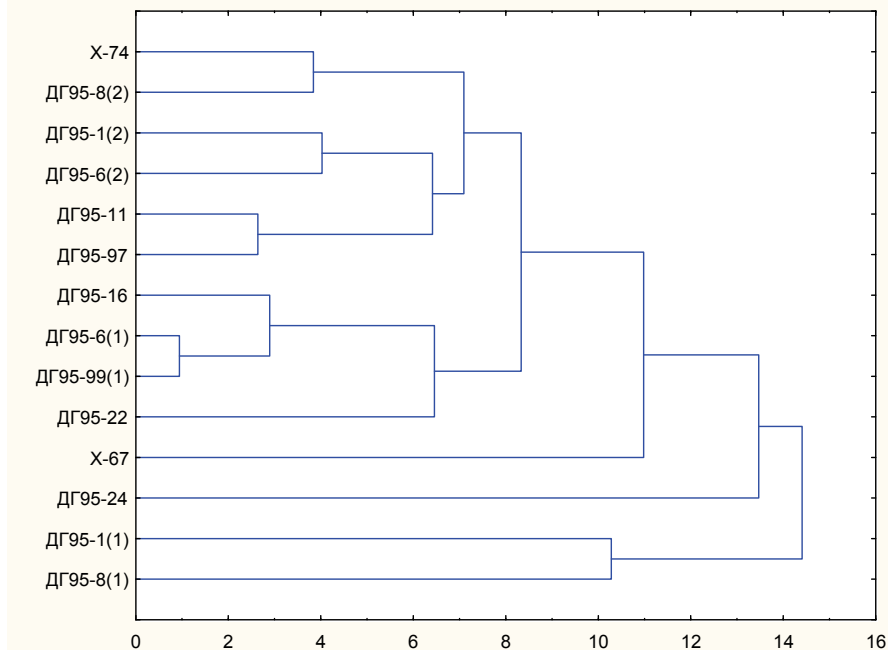
Як свідчать результати проведених раніше досліджень [10], кількість морфогенних пиляків у сорту Харківський 74 становила 12,1 %, а у сорту Х67 – 1,0 %. У 12 досліджених ДГ-ліній кількість морфогенних пиляків варіювала від 5,8 до 34,2 %, тобто усі лінії перевищили за цим показником сорт Харківський 67, 6 ліній – сорт Харківський 74, що є свідченням гаметного добору у культурі пиляків *in vitro*.

Десять ліній істотно перевищили сорт Харківський 67 за частотою регенерації зелених рослин, а у чотирьох ліній за цим показником спостерігалось трансгресивне успадкування, що також підтверджує наявність гаметного добору *in vitro*.

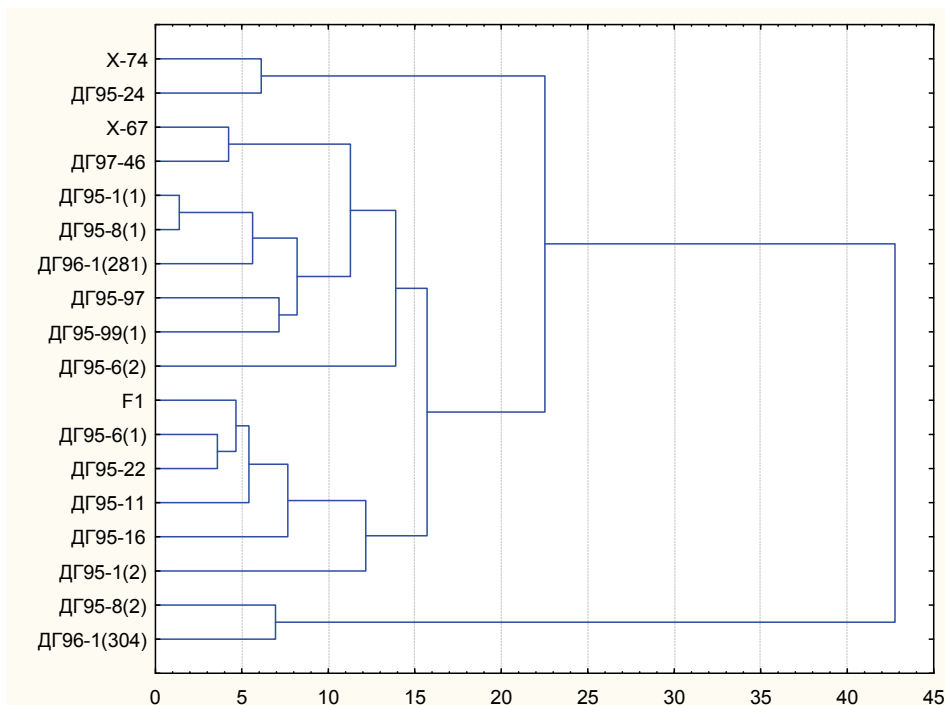
Аналіз елементів структури урожаю ліній подвоєних гаплоїдів, проведений у 1998 р., який характеризувався підвищеною температурою і недостатньою кількістю опадів у фазі виходу в трубку і наливу зерна, показав, що лише за загальною, продуктивною кущистістю

та кількістю колосків у головному колосі більшість ліній наближалася до сорту Харківський 67. За висотою рослин і довжиною головного колоса більшість ліній поступилася обом сортам. За рештою ознак спостерігалось відхилення у бік сорту Харківський 74.

Кластерний аналіз за сукупністю усіх ознак продуктивності (рис. 1) підтвердив тенденцію до переважного успадкування андрогенними дигаплоїдами гібридного походження ознак батьківського сорту з більш високою здатністю до андрогенезу *in vitro*.



**Рис. 1.** Дендрограма розподілу сортів ярого ячменю Харківський 67, Харківський 74 та похідних від їхніх гібридів F<sub>1</sub> дигаплоїдних ліній за ознаками продуктивності (1998 р.).



**Рис. 2.** Дендрограма розподілу сортів ярого ячменю Харківський 67, Харківський 74, реципрокних гібридів F<sub>1</sub> та похідних від них дигаплоїдних ліній за ознаками продуктивності (2000 р.).

Подальші дослідження виявили залежність характеру успадкування ознак продуктивності у популяції ліній подвоєних гаплоїдів гібридного походження від погодних

умов, що відповідає загальновідомим закономірностям успадкування кількісних ознак [11]. Так, у 2000 р., більш сприятливому за гідротермічним режимом для росту і розвитку ярого ячменю, батьківські сорти гібридів не мали істотних відмінностей за загальною і продуктивною кущистістю, масою зерна з головного колосу і масою зерна з рослини. На відміну від 1998 р. більш контрастною була різниця за кількістю насінин з рослини. П'ять ліній перевищили за продуктивною кущистістю обох батьків, у двох ліній мав місце гетерозис за кількістю і масою зерна з рослини. Переважна більшість ліній за елементами структури урожаю відхилялися у бік сорту Харківський 67 або гібридів F<sub>1</sub>, які у свою чергу або були на рівні батьківських сортів за певними ознаками, або поступилися їм. Переважного успадкування ознак продуктивності чутливого до андрогенезу *in vitro* сорту Харківський 74 виявлено не було (рис. 2), що, вірогідно, пов'язано з більш повною реалізацією потенційної продуктивності нестійкими до посухи лініями в умовах достатнього зволоження і їхньою більшою варіабельністю за комплексом ознак.

У 2001-2002 рр. було визначено вплив гаметного добору *in vitro* на успадкування дигапloidними лініями ознак якості зерна, зокрема, вмісту білка і крохмалю. Результати досліджень показали, що в умовах 2001 року (прохолодна погода з достатнім зволоженням у фазу молочної стиглості і значне підвищення температури у фазу воскової і повної стиглості) якість зерна зазначених сортів була тісно пов'язана з різним рівнем їхньої посухостійкості. Зокрема, у менш посухостійкого сорту Харківський 74 відмічено більш високий вміст білка, але знижений вміст крохмалю, викликані формуванням щуплих зернівок. Що стосується ліній подвоєних гапloidів, то у 9 генотипів з 15 вміст білка був на рівні сорту Харківський 74, але лише три лінії мали однаковий із цим сортом вміст крохмалю. У 2002 р. проявилася аналогічна закономірність щодо успадкування вмісту білка у популяціях ліній подвоєних гапloidів. Зокрема, із 15 ліній, залучених до експерименту, 8 були за цим показником на рівні сорту Харківський 74, 2 лінії істотно перевищили обидві батьківські форми, а 5 ліній мали вміст білка близький до такого сорту Харківський 67.

### **Висновки**

Мінливість ознак продуктивності і якості зерна у популяції рекомбінантних ліній подвоєних гапloidів ярого ячменю визначається не лише дією гаметного добору за здатністю до андрогенезу *in vitro*, а й гідротермічним режимом вегетаційного періоду. Відсутність однозначної відповідності між успадкуванням лініями комплексу ознак продуктивності батьківських форм гібридів та здатністю до андрогенезу *in vitro* може свідчити про локалізацію генів, які контролюють останню ознаку, на невеликій кількості хромосом (вірогідно двох або трьох) і актуальність дослідження зчеплення цих генів з окремими кількісними і якісними ознаками.

### **Література**

1. Choo T.M., Reinbergs E., Kasha K.J. Use of haploids in breeding barley // Plant Breeding Review. – 1985. – v. 3. – P. 219–252.
2. Thomas W.T.B., Forster B.P., Gertsson B. Doubled haploids in breeding // Doubled haploid production in crop plants. – Dordrecht: Kluwer academic publishers, 2003. – P. 337–349.
3. Zivy M., Devaux P., Blaisonneau J., Jean R., Thiellement H. Segregation distortion and linkage studies in microspore-derived doubled-haploid lines of *Hordeum vulgare* L. // Theor. Appl. Genet. – 1992. – 83. – P. 919–924.
4. Tompson D.M., Chalmers K., Wangh R., Forster B.P. Thomas W.T.M., Caligari P.D.S., Powell W. The inheritance of genetic markers in microspore-derived plants of barley *Hordeum vulgare* L. // Theor. Appl. Genet. – 1991. – v. 81. – P. 487–492.
5. Tai G.C.C., Seabrook J.E.A., Aziz A.N. Linkage analysis of anther-derived monoploids showing distorted segregation of molecular markers // Theor. Appl. Genet. – 2000. – 101. – P. 126–130.
6. Giuiderdoni E. Gametic selection in anther culture of rice (*Oryza sativa* L.) // Theor. Appl. Genet. – 1991. – v. 81. – P. 406–412.
7. Snape J.W., Simpson E., Parker B.B. Fridt W., Foroughi-Wehr B. Criteria for the selection and use of doubled haploid systems in cereal breeding programs // Genetic manipulation in plant breeding. – Berlin-New-York: Walter de Gruyter & Co., 1986. – P. 217–229.

8. Bjornstad A., Skinnnes H. Genetic studies of anther culture derived lines in barley // Proc. Six Intern. Barley Genet. Symp. (July 22-27 1991). – Helsingborg, 1991. – v. 1. – P. 191–193.
9. Методические указания по изучению мировой коллекции ячменя и овса / Под ред В.Д. Кобылянского и Ф. Я. Трофимовской. – Л.: ВИР, 1981. – 92 с.
10. Белинская Е.В. Влияние генотипа родительских компонентов исходной гибридной популяции и отбора в культуре пыльников *in vitro* на андрогенную способность дигаплоидных линий ячменя // Молекулярная генетика и биотехнология: Материалы Международной конференции (6–8 апреля 1998 г.). – Минск, 1998. – С. 143–144.
11. Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений.– Мн.: Технология, 1997. – 372 с.

#### **Резюме**

Досліджено мінливість ознак продуктивності і якості зерна у популяції ліній подвоєних гаплоїдів ярого ячменю, одержаних методом культури пиляків на основі гібридів сортів з контрастною здатністю до андрогенезу *in vitro*. Виявлено тенденцію переважного успадкування лініями гібридного походження комплексу ознак батьківської форми з більш високими показниками гаплопродукції, прояв якої залежав від агрометеорологічних умов у період вегетації.

Изучена изменчивость признаков продуктивности и качества зерна в популяции линий удвоенных гаплоидов ярого ячменя, полученных методом культуры пыльников на основе гибридов сортов с контрастной способностью к андрогенезу *in vitro*. Выявлена тенденция преимущественного наследования андрогенными линиями гибридного происхождения признаков родительской формы с более высокими показателями гаплопродукции, проявление которой зависело от агрометеорологических условий в период вегетации.

Variability of yield structure components and grain quality in spring barley population of DH-lines produced via anther culture *in vitro* from hybrids of cultivars with a contrast capacity to androgenesis *in vitro* was investigated. A tendency to preferential inheritance by androgenic doubled haploids agronomic traits of the parental form possessing higher culturability was revealed. But this tendency depended on agrometeorological conditions in vegetation period.

#### **ГУЗЕВАТИЙ О.Є.<sup>1</sup>, ТРОЦЬКИЙ П.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Українська академія аграрних наук, Україна, 01010, м. Київ, вул. Суворова, 9,  
E-mail: oleg\_guzevatiy@ukr.net

<sup>2</sup>Інститут розведення і генетики тварин УААН, Україна, 08321, Київська обл.,  
Бориспільський р-н., с. Чубинське, вул. Погребняка, 1

### **ЗАСТОСУВАННЯ РІЗНИХ КУЛЬТУРАЛЬНИХ СИСТЕМ ДЛЯ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ ЗАРОДКІВ, ОТРИМАНИХ *IN VITRO* З ДЕКОНСЕРВОВАНИХ ООЦИТІВ**

Для сучасної агробіотехнології характерний комплексний підхід, зокрема як широке застосування низки методів досліджень, таких як молекулярно-біологічних, кріобіологічних, ембріологічних, фізіологічних тощо, так і вирішення широкого спектра господарських завдань. В тваринництві сучасні методи біотехнології створюють значні перспективи для підвищення і розширення можливостей селекції і відтворення сільськогосподарських тварин [1, 2]. Нині значна увага приділяється дослідженням, що пов'язані з отриманням *in vitro* ембріонів сільськогосподарських тварин, в першу чергу великої рогатої худоби, на основі використання методів культивування і запліднення *in vitro*, кріоконсервування, визначення і регуляції статі тощо [3, 4, 5]. Заморожування гамет і ембріонів сільськогосподарських тварин відкрило нову еру біотехнологічних методів збереження і відтворення тварин. Заморожування в рідкому азоті при -196°C створило можливість фактично необмеженого зберігання, транспортування і використання біологічного матеріалу для досліджень у будь-яких галузях науки [6- 10].