

УДК 633.112:57.085.2

Г.О. Добрава¹, І.С. Замбріборщ¹, О.Л. Шестопап¹, О.М. Ружицька²

¹ Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортівивчення, Овідіопольська дорога, 3, 65036, Одеса, Україна, тел.: +38(095) 050 46 05, e-mail dobrovaann@gmail.com

² Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Дворянська, 2, 65082, Одеса, Україна

ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНДРОГЕНЕЗУ *IN VITRO* ПОЛБИ ЗВИЧАЙНОЇ *TRITICUM DICOCCUM* (SCHRANK) SCHUEBL

Мета. Оцінити вплив живильного середовища на індукцію новоутворень і регенерацію рослин полби. **Методи.** Дослідження проводили на двох ярих генотипах полби. Рослини вирощували на польових ділянках. Попередню обробку колосся проводили у водному розчині абсцизової кислоти (0,5 мг/л) протягом п'яти діб. Піляки експлантували на живильні середовища С17 і М42. Для регенерації рослин використовували варіанти живильного середовища MS, що різнилися вмістом амінокислот і регуляторів росту. **Результати.** В роботі вперше в Україні досліджено індукцію новоутворень та регенерацію рослин ярих форм полби *Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl в культурі піляків *in vitro*. Полба характеризується низькою спроможністю до андрогенезу *in vitro*. Рівень індукції новоутворень був високим, проте в культурі утворилися лише безхлорофільні рослини-регенеранти. Вища індукція новоутворень і подальша регенерація отримані за культивування піляків на живильному середовищі С17 порівняно з середовищем М42. З отриманих новоутворень отримали лише хлорофілдефектні рослини-регенеранти на всіх регенераційних живильних середовищах. Значної різниці рівня регенерації на варіантах регенераційного середовища MS з різним вмістом регуляторів росту не відмічено. **Висновки.** Полба звичайна характеризується відносно високою індукційною спроможністю. Найкращим індукційним живильним середовищем є середовище С17. Значної різниці рівня регенерації на досліджених варіантах регенераційного живильного середовища MS не виявлено. Дослідження чутливості до андрогенезу *in vitro* полби звичайної не виявило чутливих до методу генотипів, здатних до регенерації зелених рослин.

Ключові слова: культура піляків, *Triticum dicoccum*, індукція новоутворень, регенерація, живильне середовище.

Полба є однією з перших рослин, окультурених людиною. У сьогоденні цей злак використовують у схрещуваннях для привнесення у сорт низки корисних ознак [3]. Дослідження чутливості полби до андрогенезу *in vitro* є важливою задачею. Чутливі генотипи можуть бути у подальшому залученні до схрещення з пшеницею твердою як потенційні «донори регенерації». На



ефективність процесу формування подвоєних гаплоїдів методом культури пиляків впливають декілька факторів, зокрема генотип [8,10], індукційні та регенераційні живильні середовища [5].

Мета роботи – оцінка впливу живильного середовища на індукцію новоутворень і регенерацію рослин полби. Дослідження індукції новоутворень озимих та ярих форм *T. dicocum* на території України проводиться вперше.

Матеріали і методи

Дослідження проводили у 2013–2015 рр. Як донорний матеріал використовували ярі форми *T. dicocum* var *dicocum*, *T. dicocum* var *rufum*. Рослини вирощували на дослідних польових ділянках СГІ–НЦНС. Пиляки експлантували на живильні середовища, коли вакуолізовані мікроспори знаходилися у середньопізній фазі розвитку (рис. 1). Попередню обробку зрізаних пагонів проводили у водному розчині абсцизової кислоти (0,5 мг/л) протягом 5 діб при +2 – +4 °С у темряві [2]. Колосся поверхнево стерилізували насиченим розчином гіпохлориту кальцію за методикою [1]. Пиляки експлантували на живильні середовища С17 [11] і М42 [7], які використовуються для індукції новоутворень в культурі пиляків пшениці твердої [4, 6]. За складом гормонів середовища були ідентичними: 2,4-Д в концентрації 2 мг/л та кінетин в концентрації 0,5 мг/л.

Висаджені пиляки культивували перші 3 доби у темряві за температури +30 °С, далі при +24 °С до появи новоутворень. Новоутворення експлантували на варіанти живильного середовища MS. Сольовий і вітамінний склад середовища був стандартним [9], варіанти модифікували за вмістом амінокислот і регуляторів росту (табл. 1).

Таблиця 1

Середовища для регенерації рослин

Table 1

Plant regeneration media

Склад	Назва живильного середовища			
	MS 1	MS 2	MS 3	MS 4
Глютамін, мг/л	200,0	200,0	200,0	—
Пролін, мг/л	200,0	200,0	200,0	—
ІОК, мг/л	1,0	1,0	0,5	1,0
Кінетин, мг/л	1,0	—	0,5	—
БАП, мг/л	—	1,0	—	1,0



Результати та обговорення

В ході дослідження проводили пошук оптимального індукційного та регенераційного живильних середовищ. З літературних джерел відомо, що для індукції новоутворень пшениці твердої також використовують живильні середовища С17 і М42. Визначали індукцію новоутворень полби звичайної на цих живильних середовищах (рис. 1).

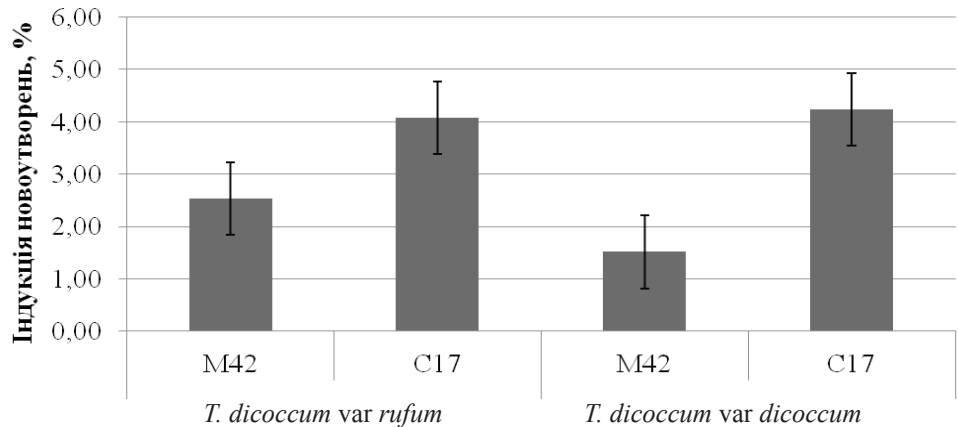


Рис. 1. Індукція новоутворень полби звичайної ярої на різних живильних середовищах

Примітка: % – відсоток новоутворень від кількості висаджених пиляків.

Fig. 1. Induction of spring emmer on different cultural media

Note: % – percent of newformations per number of cultivated anthers

Слід зазначити, що для обох досліджених генотипів найвищу індукцію новоутворень отримали на середовищі С17, однак достовірний вплив індукційного середовища на цей показник встановили тільки для *T. dicoccum var dicoccum*.

Індукційне живильне середовище і умови культивування пиляків впливають також на регенерацію рослин. Нажаль, у дослідженні отримано лише *albino* (хлорофіл дефектні) рослини-регенеранти (табл. 2).

Таблиця 2

Регенерація *albino* рослин ярих форм полби звичайної

Table 2

Regeneration of albino plants of spring emmer

Генотип	Індукційне середовище	%
<i>T. dicoccum var rufum</i>	M42	1,56±0,55
	C17	2,42±0,51
<i>T. dicoccum var dicoccum</i>	M42	0
	C17	1,84±0,58



Максимальну регенерацію рослин для обох досліджених генотипів відмічено при використанні індукційного середовища С17. Таким чином, можна рекомендувати дане середовище як індукційне живильне середовище для культури пиляків *in vitro* полби.

На вихід рослин-регенерантів істотний вплив має регенераційне живильне середовище (рис. 2). До експерименту були залучені варіанти живильних середовищ MS (табл. 1).

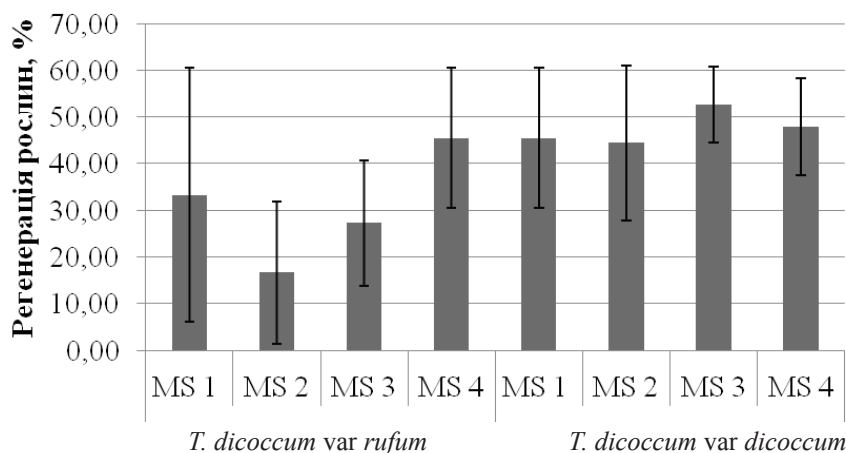


Рис. 2. Регенерація полби на різних середовищах

Примітка: % – відсоток рослин-регенерантів від кількості висаджених новоутворень

Fig. 2. Emmer regeneration on different cultural media

Note: % – percent of regenerated plants per number of cultivated newformations

Достовірної різниці регенерації рослин на різних живильних середовищах не виявили для обох досліджених генотипів. Різниця в рівні регенерації рослин генотипу *T. dicoccum var dicoccum* спостерігалася, але не була підтверджена статистично. Не зважаючи на відносно високу індукцію і регенерацію, в культурі пиляків *in vitro* полба звичайна характеризувалася регенерацією лише хлорофілдефектних рослини.

На основі проведеного дослідження можна зазначити, що полба звичайна характеризується відносно високою індукційною спроможністю, проте низькою регенерацією. Найкращим індукційним живильним середовищем було С17. Значної різниці рівня регенерації на досліджених варіантах регенераційного живильного середовища MS не виявлено. Дослідження чутливості до андрогенезу *in vitro* полби звичайної не виявило чутливих до методу генотипів, здатних до регенерації зелених рослин.

H.O. Dobrova¹, I.S. Zambriborsh¹, O.L. Shestopal¹, O.M. Rujitska²

¹ The Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed & Cultivar Investigation Odesa, Ovidiopol'ska road, 3, 65036, Ukraine

² Odesa I.I. Mechnykov National University, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine

TRITICUM DICOCCUM (SCHRANK) SCHUEBL SENSITIVITY TO ANDROGENESIS *IN VITRO*

Summary

Aim. To estimate the influence of cultural media on induction and plant regeneration of emmer. **Methods.** The research was performed on two spring emmer genotypes. Plants were cultivated in field conditions. Spike pretreatment was conducted with abscisic acid water solution (0.5 mg/ml) for 5 days. Anthers were cultivated on cultural media C17 and M42. The variants of cultural media MS with different amino acids and growth regulators were used for plant regeneration. **Results.** Investigations of this culture ability to androgenesis *in vitro* have never been conducted before. Emmer demonstrated the low ability to androgenesis *in vitro*. The induction level was high, but only albino regenerated plants were obtained. In research induction and regeneration level of emmer on different cultural media was determined. It was detected that induction and further plant regeneration is higher while anthers were cultivated on C17 media, comparing with M42 media. Four variants of MS media with different plant growth regulators and amino acids were used for plant regeneration. No difference between variants was observed. **Conclusions.** Emmer is characterized with relatively high induction ability. Optimal induction cultural media was C17. No significant difference of regeneration level on different variants of regeneration cultural media was detected. No responsible emmer genotypes with the ability to green planter generation were determined in the investigation.

Key words: anther culture, *Triticum dicoccum*, new formation induction, regeneration, cultural media.

А.А. Доброва¹, І.С. Замбриборщ¹, О.Л. Шестопап¹, О.Н. Ружицкая²

¹ Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноводства и сортоизучения НААН Украины, Украина, 65036, Одесса, Овидиопольская дорога, 3, тел.: +38(095) 050 46 05, e-mail: dobrovaann@gmail.com

² Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Дворянская, 2, 65082, Одесса, Украина

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНДРОГЕНЕЗУ *IN VITRO* ПОЛБЫ ОБЫКНОВЕННОЙ *TRITICUM DICOCCUM* (SCHRANK) SCHUEBL

Реферат

Цель. Оценить влияние питательной среды на индукцию новообразований и регенерацию растений полбы. **Методы.** Исследование проводили на двух яровых генотипах полбы. Растения выращивали на полевых участках. Предобработку колосьев проводили в водном растворе абсцизовой кислоты (0,5 мг/л) в течение 5 дней. Пыльники культивировали на питательных средах C17 и M42. Для ре-



генерації рослин використовували варіанти поживної середою MS, котрі отличалися содержанием амінокислот і регуляторів росту. **Результати.** В роботі вперше в Україні провели дослідження індукції новообранованій і регенерації рослин ярових форм полби *Triticum dicocum* (Schrank) Schuebl *in vitro*. Полба характеризується низкою здатністю к андрогенезу *in vitro*. Уровень індукції новообранованій был высоким, но в культурі получили только безхлорофільні рослини-регенеранти. Більш високу індукцію і далішню регенерацію рослин наблюдали при умови культивування пиляків на поживній середі С17, в сравненні со середі М42. Из новообранованій получили только хлорофиллдефектні рослини-регенеранти на всіх протестированих регенераційних поживних середях. Значительной різниці уровня регенерації на варіантах середою MS, отличающихся содержанием регуляторів росту, не отмечено. **Выводы.** Полба характеризується относительно високою здатністю к індукції новообранованій. Оптимальною індукційною поживною середіою является С17. Значительной різниці уровня регенерації на дослідваних варіантах регенераційної поживної середою не наблюдалось. Дослідження чутливості к андрогенезу *in vitro* полби обыкновенной не определило чутливості к этому методу генотипів, здатних к регенерації зеленіх рослин.

Ключевые слова: пилякова культура, *Triticum dicocum*, індукція новообранованій, регенерація, поживна середа.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ігнатова С.О. Фактори, що впливають на реалізацію регенераційного потенціалу мікроспор в культурі пиляків м'якої пшениці / С.О. Ігнатова, К.І. Лобанова // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. – 2007. – Т. 2. – С. 492–496.
2. Лобанова К.І., Шестопал О.Л., Ігнатова С.О. Абсцизова кислота як екзогенний фактор підвищення регенераційного потенціалу в культурі пиляків м'якої пшениці // Вісник Харків. Націон. Аграрного Університету. – 2007. – Вип. 1 (10). – С. 102–110.
3. Маркелова Т.С. Использование диких видов и сородичей пшеницы для ингрессии генов устойчивости к болезням / Т.С. Маркелова // Агро XXI. – 2007. – Т. 4. – С. 16–18.
4. Cistué, L. Production of doubled haploids in durum wheat (*Triticum turgidum* L.) through isolated microspore culture / L. Cistué, M. Soriano, A.M. Castillo [et al.] // Plant Cell Reports. – 2006. – V. 25, № 4. – P. 257–264.
5. Datta S.K. Androgenic haploids: factors controlling development and its application in crop improvement / S.K. Datta // Current Science-Bangalore. – 2005. – V. 89, № 1. – P. 1870–1872.
6. Dogramaci-Altuntepe M. Anther culture-derived regenerants of durum wheat and their cytological characterization / M. Dogramaci-Altuntepe, T.S. Peterson, P.P. Jauhar // J. Hered. – 2001. V. 192, № 1. – P. 56–64.



7. Kao K.N. Culture conditions for induction of green plants from barley microspores by anther culture methods / K.N. Kao, M. Saleem, S. Abrams [et al.] // *Plant Cell Rep.* – 1991. – V. 9. – P. 595–607.
8. Khiabani B.N., Vedadi C., Rahmani E. (2008) “Response of some Iranian wheat genotypes to anther culture system”, *Indian Journal of Biotechnology*, № 7, pp. 531–535.
9. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plant.* – 1962. – V. 15, № 3. – P. 473–497.
10. Tawkaz S. Response of some wheat genotypes to anther culture technique for doubled haploid production / S Tawkaz // *M. Sc Thesis.* – 2011. – V. 2. – P. 203–212.
11. Wang P. A study on the application of C17 medium for anther culture / P. Wang, Y.R. Chen // *Acta Bot. Sin.* – 1986. – V. 28. – P. 38–45.

References

- Ignatova SO, Lobanova KI. Factors, which influence on microspore regeneration potential realization in bread wheat anther culture. Achievements and problems of genetics, breeding and biotechnology. 2007; 2: 492–496.
- Lobanova KI, Shestopal OL, Ignatova SO. Abscisic acid as exogenous factor of regeneration ability increasing in bread wheat anther culture. *Bulletin of Kharkiv National Agricultural University.* 2007; 1(10):102–110.
- Markelova TS. Usage of wild wheat and relative species varieties for illness resistant genes introgression. *Agro XXI.* 2007; 4: 16–18.
- Cistué, L, Soriano M, Castillo A M. Production of doubled haploids in durum wheat (*Triticum turgidum* L.) through isolated microspore culture. *Plant Cell Reports.* 2006; 25 (4): 257–264.
- Datta SK. Androgenic haploids: factors controlling development and its application in crop improvement. *Current Science-Bangalore.* 2005; 89 (11): 1870–1872.
- Dogramaci-Altuntepe M, Peterson TS, Jauhar PP. Anther culture-derived regenerants of durum wheat and their cytological characterization. *J. Hered.* 2001; 192 (1): 56–64.
- Kao KN, Saleem M, Abrams S. Culture conditions for induction of green plants from barley microspores by anther culture methods. *Plant Cell Rep.* 1991; 9: 595–607.
- Khiabani BN, Vedadi C, Rahmani E. Response of some Iranian wheat genotypes to anther culture system. *Indian Journal of Biotechnology.* 2008; 7: 531–535.
- Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962; 15(3): P. 473–497.
- Tawkaz S. Response of some wheat genotypes to anther culture technique for doubled haploid production. *M. Sc Thesis.* 2011; 2: 203–212.
- Wang P, Chen YR. A study on the application of C17 medium for anther culture, *Acta Bot. Sin.* 1986; 28: 38–45.

Стаття надійшла до редакції 18.05.2016 р.

