

## **ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ ІНДУКЦІЇ КАЛЮСУ ТА РЕГЕНЕРАЦІЇ РОСЛИН СПЕЛЬТИ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ, ВИКОРИСТОВУЮЧИ КУЛЬТУРУ ЗРІЛИХ ЗАРОДКІВ**

**Задорожна М. І.<sup>1</sup>, Нітовська І. О.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Національний університет «Києво-Могилянська академія»,

[maryna.zadorozhna@ukma.edu.ua](mailto:maryna.zadorozhna@ukma.edu.ua)

<sup>2</sup>Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

Створення біотехнологічних рослин представників роду *Triticum* з підвищеною врожайністю та новими корисними сільськогосподарськими ознаками, такими, наприклад, як стійкість до посухи, захворювань, є наразі важливим завданням, оскільки пшениця займає перше місце з кількості посівних площ серед сільськогосподарських культур. До того ж, останнім часом все більше приділяється уваги не тільки збільшенню врожаїв, але й якісному покращенню їжі. Пшениця спельта по багатьом якісним показникам мінерального, білкового та вуглеводного складу значно перевищує аналогічні показники своєї найближчої родички гексаплоїдної пшениці м'якої *Triticum aestivum* L, невибаглива до умов вирощування, стійка до біотичних стресів. На сьогодні в світі існує декілька наукових робіт, в яких описується регенерація рослин спельти з калюсів, отриманих від зрілих зародків [1-3], та відсутні роботи стосовно порівняння різних генотипів спельти та поживних середовищ для отримання біотехнологічних рослин. Метою дослідження було визначення кращого генотипу спельти та умов культивування для отримання біотехнологічних рослин, використовуючи культуру зрілих зародків. До завдань, що потрібно було вирішити, входили: введення в асептичну культуру; визначення оптимального складу середовищ для індукції калюсу та регенерації рослин для різних генотипів спельти; відбір генотипів, які мають високу регенераційну здатність.

В досліді використовували насіння спельти трьох генотипів: сорту Зоря України, селекційних ліній № 4114 та № 4130 врожаю 2020 року. Для введення спельти в культуру *in vitro* здійснювали стерилізацію зернівок за методикою [Бавол, 2007] з використанням калію перманганату, срібла нітрату та спирту. Після стерилізації насіння зрілі зародки виокремлювали з зернівок, викладали на модифіковані середовища MS [1] та N6 [4] приблизно порівну і вирощували в темряві при 27<sup>0</sup>C впродовж двох тижнів. Наступний етап – індукція морфогенезу спельти на 4 регенераційних середовищах: 1) MS без гормонів; 2) MSR, яке містило 1мг/л БАП та 0,1мг/л НОК; 3) MSBA [5]; 4) MSGR, яке містило 0,25 мг/л БАП [5. Загалом було протестовано 8 комбінацій різних середовищ (Табл. 1). Для кожного генотипу брали по 250 насінин. Визначали частоту індукції калюсу, як співвідношення числа експлантів, що утворили калюс, до їх загальної кількості, та частоту регенерації пагонів, як співвідношення кількості калюсів, що утворили рослини, до загальної кількості висаджених калюсів. Експерименти повторювали тричі.

**Таблиця 1. Частота калюсогенезу та регенерації в культурі зрілих зародків спельти.**

Генотип	Середовище для калюсу	Частота калюсогенезу, %	Частота регенерації, %			
			MS б/г	MSR	MSBA	RZ2
Зоря України	N6	92,4	46,4	36,4	47,6	7,1
	MS	99	55,9	69,4	48,3	0
4114	N6	98,3	50	37	4	0
	MS	100	20,7	32,1	14,8	0
4130	N6	100	57,7	45,2	60,7	0
	MS	100	64,5	78,8	73,1	3,8

Утворення калюсу зі зрілих зародків спостерігали для всіх трьох генотипів спельти, які використовували (Зоря України, селекційні лінії № 4114, № 4130), на обох середовищах з частотою від 92 до 100%. Найвищий регенераційний потенціал мала селекційна лінія № 4130. Високими морфогенетичними властивостями також характеризується сорт спельти Зоря України. Найвищу частоту регенерації для обох генотипів спостерігали на середовищі MSR після індукції калюсу на середовищі MS. Для селекційної лінії № 4114 частота регенерації була вищою після отримання калюсу на модифікованому середовищі N6. Виходячи з показників частоти калюсоутворення та регенерації пагонів, всі генотипи спельти, що досліджували, є перспективними для отримання біотехнологічних рослин в культурі зрілих зародків.

#### **Список використаної літератури:**

1. Alikina O., Chernobrovkina M., Dolgov S., Miroshnichenko D Tissue culture efficiency of wheat species with different genomic formulas// Crop Breeding and Applied Biotechnology – 2016. – Vol. 16. – P. 307-314.
2. Ozgen M, Birsin MA, Benlioglu B Biotechnological characterization of a diverse set of wheat progenitors (Aegilops sp. and Triticum sp.) using callus culture parameters. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization – 2017. – Vol. 15(1). – P. 45–50.
3. Kyriienko AV, Shcherbak N L, Kuchuk MV, Parii MF, Symonenko YuV (2021) In vitro plant regeneration from mature embryos of amphidiploid spelt Triticum spelta L. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant – 2021. – Vol. 56. – P.856-863
4. Нітовська І.О., Дуплій В.П., Рудас В.А, Абраїмова О.Є., Сатарова Т.М., Моргун Б.В. Оптимізація умов трансформації калюсних ліній кукурудзи за допомогою детекції транзйентної експресії гена бета-глюкуронідази // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: збірник наукових праць ІХ з'їзду УТГіС. - Київ: Логос. - 2012. - Т. 4. - С. 587-592.
5. Sidorov V., Duncan D. Agrobacterium-mediated maize transformation: immature embryos versus callus. Methods in molecular biology: transgenic maize. M. Paul Scott (ed.). USA: Humana press, 2009. P.47-58.