



УДК 633.112:57.085.2

## МЕТОДОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОТРИМАННЯ ПОДВОЄНИХ ГАПЛОЇДІВ ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ МЕТОДОМ ВІДДАЛЕНОЇ ГІБРИДИЗАЦІЇ

*Г. О. Добрава, І. С. Замбріборщ, О. Л. Шестопап*

*Селекційно-генетичний інститут –  
Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення  
Овідіопольська дорога, 3, Одеса 65036, Україна  
e-mail: dobrovaann@gmail.com*

Отримання подвоєних гаплоїдів тетраплоїдної пшениці є важливим етапом селекційного процесу. Тверда пшениця малочутлива до методу культури пиляків. Сьогодні у світі для отримання лінійного матеріалу пшениці твердої використовують метод віддаленої гібридизації. У роботі досліджували ефективність цього методу з одночасною адаптацією його до генотипів і агрокліматичних умов регіону Півдня України. Матеріал дослідження – сорти і гібриди пшениці твердої ярої. Для запилення (як гаплопродюсер) використовували пилок кукурудзи і сорго. Провели синхронізацію строків цвітіння пшениці та рослин-запильників. Визначили, що оптимальним для використання як запильника є вирощування кукурудзи в умовах штучного клімату до фази трьох–чотирьох листків із подальшою висадкою на польові ділянки. В польових умовах цвітіння кукурудзи починається на початку червня, тоді як цвітіння пшениці твердої – наприкінці травня. У зв'язку з цим проводили кастрацію і запилення не головного колосу (що є найпродуктивнішим), а колосся підгонів. Слід зазначити, що гібридизація та подальший розвиток зернівки пшениці твердої відбувалися в умовах повітряної та ґрунтової посухи, що також є фактором, який лімітує використання цього методу для отримання подвоєних гаплоїдів пшениці твердої ярої. Проаналізували вплив п'яти варіантів післязапильної обробки квіток на утворення зернівок. Застосовували розчини гормонів різної природи і два способи дорощування запиленого колосся: в полі та в умовах штучного клімату. Визначили найефективніші варіанти обробки запилених квіток.

**Ключові слова:** тверда пшениця, подвоєні гаплоїди, гаплопродюсер, віддалена гібридизація, ембріокультура.

### ВСТУП

Селекція злакових культур, у тому числі й твердої пшениці, – це довготривалий процес. Фенотипова і генотипова одноманітність досягається за 8–12 самозапильних поколінь. Селекція на рівні подвоєних гаплоїдів дає змогу вести прямий відбір не тільки домінантних, але і рецесивних ознак.

Методами біотехнології отримують подвоєні гаплоїди пшениці з повною гомозиготністю вже в першому поколінні [2]. Метод отримання подвоєних гаплоїдів у  $F_1$  поколінні використовується для закріплення потрібних ознак у відібраних організмах, що істотно прискорює селекційний процес [20].

Для отримання подвоєних гаплоїдів пшениці твердої доцільно використовувати методи культури пиляків, ізольованих мікроспор, гінотенезу та гаплопродюсера [1, 8, 11].

Однак останні дослідження [4, 16] довели, що найбільш ефективним методом отримання подвоєних гаплоїдів пшениці твердої є метод віддаленої гібридизації. Цей метод є більш ефективним і простим, менше залежить від генотипу рослини і потребує менше часу порівняно з методом культури пиляків [2]. Тверда пшениця характеризується низькою чутливістю до культури пиляків *in vitro* [9, 18], тому метод віддаленої гібридизації є оптимальним для отримання подвоєних гаплоїдів цього злаку.

Принцип отримання гаплоїдів методом міжвидової гібридизації полягає у розвитку дорослої рослини із заплідненої пилком рослини чужорідного виду жіночої гамети. Після запліднення й утворення зиготи хромосоми запилювача елімінуються з клітин зародка [13]. Використовуючи техніку “*embryo rescue*”, із недозрілих зародків в умовах *in vitro* отримують гаплоїдні регенеранти, які після диплоїдизації стають подвоєними гаплоїдами [16]. Як донор пилку використовуються рослини кукурудзи (*Zea mays* L.) [11–13].

Отже, метою дослідження була оцінка впливу різних гаплопродюсерів і варіантів обробки колосся пшениці твердої після запилення на ефективність методу віддаленої гібридизації.

Завданнями роботи були: синхронізація строків цвітіння рослин-запильників і пшениці твердої ярої; дослідження гаплопродукційної спроможності різних ліній кукурудзи та сорту сорго; оцінка впливу різних варіантів обробки колосся пшениці після запилення на рівень зав'язування зернівок.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Вирощування батьківських рослин.** Досліди проводили у 2012–2014 рр. Для дослідження використовували яро-озимі гібриди та сорти пшениці твердої ярої *Triticum durum* Desf. (табл. 1).

Як донори пилку використовували ранньостиглі лінії кукурудзи (*Zea mays* L.): Seneca 60, ЛБС – 100/03 і ЛБ 172/13 – 2 МВ, і сорго сорту Кварц. Насіння рослин-гаплопродюсерів висівали в полі, а також попередньо пророщували в умовах штучного клімату за 14-годинного фотоперіоду при 24 °С. Проростки кукурудзи і сорго у фазі 3–4 листків надалі висаджували на польові ділянки СГІ-НЦНС поряд із пшеницею. З метою синхронізації термінів цвітіння пшениці та рослин-запильників пшеницю висівали у два строки (табл. 2).

**Кастрація квіток пшениці та запилення.** Кастрацію квіток пшениці проводили за загальноприйнятою методикою [9]. Запилення проводили на 2–3 добу після кастрації. Для запилення використовували свіжозібраний пилко кукурудзи та сорго. Процедура проводили методом механічного переносу пилку на приймочку зав'язі [6, 16].

**Обробка після запилення.** Для обробки після запилення використовували різні варіанти водних розчинів фітогормонів (табл. 3). Запилене колосся обробляли дрібнодисперсним обприскуванням щоденно, починаючи з наступного дня після

запилення протягом 5–7 діб. Для усунення негативної дії посухи у період формування зернівок частину запиленого колосся зрізали на другу добу після запилення та культивували у рідкому поживному середовищі С17 [5, 16, 17].

Таблиця 1 Досліджувані сорти та гібриди пшениці твердої ярої

Table 1. The studied varieties and hybrids of spring durum wheat

№	Генотип
T1	(Сарат. Золотий × Gidara 2) × Гардемарин
T2	(Сарат. Золотий × Gidara 2) × Континент
T4	HUI/Yav79/Don87 × Berk/68 111/Word/4/Riccyu
T5	Korifla × / (Yav79 × Ал. Парус) × {Корал × [(LR-1 × 504/67) × Хар.1] × [(Tigris × Айсб.) × (Айсб.од × Нов.4)]}/
T7	HUI/Yav79/Don87 × DF900-83/WBR881
T9	Корифа × Крейсер
T10	Haurani × Айсберг
T11	Haurani × Континент
T12	Haurani × / (Yav79 × Ал. Парус) × {Корал × [(LR-1 × 504/67) × Хар.1] × [(Tigris × Айсб.) × (Айсб.од × Нов.4)]}/
T13	Plenty × Brindur/DF 38-86
T14	Topdy 18/FOCHA1/Altar84 × Лінкор
T15	Topdy 18/FOCHA1/Altar84 × Босфор
T16	Мермура двуручка
T18	Метиска
T20	Накат × MVTD-15-99
T21	Науам
T22	Торой-18/FOCHA-1/Alt84
T23	FOCHA-1
T24	Altar84
T25	Киевлянка

**Технологія *embryo rescue*.** На 12–16-ту добу після запилення зернівки вилучали з колосся та поверхнево стерилізували за загальноприйнятою методикою [7]. У стерильних умовах під бінокуляром із зернівок виділяли зародки, які висаджували на поживне середовище MS з половинною концентрацією солей і додаванням 200 мг/л проліну і 200 мг/л глутаміну, 0,5 мг/л кінетину та 0,5 мг/л індолоцтової кислоти для подальшого культивування [5, 14].

Для кількісної оцінки результатів підраховували процент зернівок, які зав'язалися, процент зародків і довірчий інтервал.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

**Вирощування батьківських рослин.** Однією з основних проблем віддаленої гібридизації є синхронізація процесів формування гамет у обраних партнерів. Цю проблему ми намагалися вирішити передчасним (на 3–4 тижні раніше) пророщуванням насіння кукурудзи і сорго в умовах штучного клімату. Однак отримані в умовах штучного клімату пагони погано адаптувалися в полі, рослини були кволі

та майже не продукували пилок або зовсім не зацвітали (табл. 2). Таким чином, більша частина пилку, який використовували для запилення, була з рослин, висіяних у полі. Отже, за результатами нашого дослідження, в умовах Одеського регіону для ефективного отримання подвоєних гаплоїдів пшениці твердої методом віддаленої гібридизації обов'язковим є вирощування кукурудзи і сорго в умовах штучного клімату до отримання життєздатного пилку на початку травня місяця, коли пшениця твердої починає колоситися.

Таблиця 2. Дати сівби, цвітіння та запилення рослин в умовах Одеського регіону

Table 2. Dates of plant sowing, flowering and pollination under the Odessa region conditions

Рік	Вид/Генотип		Дата сівби	Дата цвітіння	Запилення
2012	Кукурудза, Seneca 60	1 строк (шт. клімат)	13.02	24.06–3.07	
		2 строк (поле)	24.04	11.06–20.07	
	Сорго, Кварц	1 строк (шт. клімат)	13.02	20.06–28.06	
		2 строк (поле)	24.04	20.07–30.07	
	Пшениця	1 строк	02.04	19.05–12.06	11.06–12.06
2 строк		10.04	24.05–21.06	13.06–21.06	
2013	Кукурудза, Seneca 60	Поле	20.04	9.06–19.06	
	Сорго	Поле	20.04	12.06–26.06	
	Пшениця	1 строк	11.04	16.05–17.06	14.06–17.06
		2 строк	20.04	5.06–21.06	14.06–21.06
2014	Кукурудза, Seneca 60	1 строк (шт. клімат)	20.03	2.06–10.06	
		2 строк (шт. клімат)	31.03	–	
		Поле	8.04	10.06–22.06	
	Кукурудза, ЛБС – 100/03	1 строк (шт. клімат)	20.03	7.06–15.06	
		2 строк (шт. клімат)	31.03	–	
		Поле	8.04	20.06–30.06	
	Кукурудза, ЛБ 172/13 – 2 МВ	1 строк(шт. клімат)	20.03	14.06–22.06	
		2 строк (шт. клімат)	31.03	–	
		Поле	8.04	–	
	Пшениця	1 строк	20.03	20.05–3.06	2.06–3.06
Пшениця	2 строк	27.03	25.05–5.06	2.06–5.06	

**Примітка.** Генотипи пшениці вказані в табл. 1.

**Comment.** Wheat genotypes are listed in table 1.

Завдяки різним строкам і способу висіву обох партнерів, нам майже вдалося синхронізувати строки цвітіння пшениці ярої та гаплопродусерів. Проводили кастрацію і запилення колосся підгонів, а не головного колосу, фаза розвитку якого була занадто пізньою. З літературних джерел відомо, що підгони характеризуються зниженою життєздатністю [21]. Запилення і подальший розвиток зернівок відбувався в умовах посухи, що негативно впливало на утворення життєздатних зародків.

Таблиця 3. Розчини для обробки запилених пилком кукурудзи квіток пшениці  
Table 3. Solutions for treatment of wheat flowers pollinated with maize pollen

2013 р.			2014 р.	
Варіант 1	Варіант 2	Варіант 3	Варіант 4	Варіант 5
2,4-D* – 3 мг/л AgNO <sub>3</sub> – 120 мг/л [8]	2,4-D* – 3 мг/л [16]	2,4-D* – 3 мг/л Dicamba – 5 мг/л [10]	2,4-D* – 5 мг/л [18]	Культивування запилених колосків у рідкому поживному середовищі С17 з 100 мг/л 2,4-D* [5, 16]

Примітка. \* – 2,4- дихлорфеноксіоцтова кислота.

Comment. \* – 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid.

**Кастрація та запилення.** Результати проведених досліджень наведено в табл. 4–6. У 2012 р. (табл. 4) загалом було запилено 430 квіток різних генотипів пшениці й отримано 8 зернівок. На жаль, зернівки були вкрай щуплі, тому з них вдалося вилучити лише один недиференційований зародок, який під час пророщування не сформував рослину. У 2013 р. (табл. 5) було запилено 384 квітки різних генотипів пшениці й отримано 20 зернівок. За допомогою техніки *embryo rescue* вилучено для подальшого культивування *in vitro* 5 зародків, з яких отримано одну зелену рослину. У 2014 р. (табл. 6) було запилено 418 квіток, з яких зав'язалося 18 зернівок і отримано 8 зародків. Проростки не отримано.

Таблиця 4. Кількість запилених квіток і зернівок, що сформували зародки (2012 р.)  
Table 4. The number of pollinated flowers and caryopses with embryos (2012)

♀	♂					
	Кукурудза, Seneca 60			Сорго, Кварц		
	Запилених квіток, шт.	Зернівки Зародки	%*	Запилених квіток, шт.	Зернівки Зародки	%*
T1	18	0 / 0	0	10	0 / 0	0
T2	32	0 / 0	0	10	0 / 0	0
T4	18	0 / 0	0	10	2 / 0	0
T7	34	0 / 0	0	10	4 / 1	10,0±9,5
T10	42	0 / 0	0	20	0 / 0	0
T11	20	0 / 0	0	20	0 / 0	0
T12	–	– / –	–	10	0 / 0	0
T13	20	0 / 0	0	32	4 / 0	0
T14	60	0 / 0	0	–	– / –	–
T15	22	0 / 0	0	10	0 / 0	0
T20	32	0 / 0	0	–	– / –	–

Примітка. \* – Кількість сформованих зародків на 100 запилених квіток.

Comment. \* – The amount of formed embryos per 100 pollinated flowers.

Таблиця 5. Вплив післязапильної обробки колосся пшениці на кількість зернівок, що сформували зародки (2013 р.)

Table 5. Effect of postpollinated wheat spikes treatment on the number of caryopses with embryos (2013)

♀	Варіанти обробки								
	1			2			3		
	Запил. квіток, шт.	Зернівки Зародки	%*	Запил. квіток, шт.	Зернівки Зародки	%*	Запил. квіток, шт.	Зернівки Зародки	%*
T7	24	0 / 0	0	18	1 / 1**	5,6±5,4	26	0 / 0	0
T9	–	0 / –	–	32	1 / 1	3,1±3,1	–	– / –	–
T11	44	0 / 0	0	12	0 / 0	0	20	0 / 0	0
T12	16	0 / 0	0	–	– / –	–	–	– / –	–
T14	18	0 / 0	0	18	5 / 3	16,7±8,8	17	7 / 0	0
T16	20	0 / 0	0	20	0 / 0	0	–	– / –	–
T18	–	– / –	–	–	– / –	–	26	0 / 0	0
T20	26	0 / 0	0	32	0 / 0	0	15	6 / 0	0

Примітки. \* – Кількість сформованих зародків на 100 запиликених квіток; \*\* – отримано рослину методом пророщування зародка *in vitro*.

Comments. \* – The amount of formed embryos per 100 pollinated flowers; \*\* – a plant received through embryo germination *in vitro*.

Таблиця 6. Вплив післязапильної обробки колосся пшениці на кількість зернівок, що сформували зародки (2014 р.)

Table 6. Effect of postpollinated wheat spikes treatment on the number of caryopses with embryos (2014)

♀	Варіанти попередньої обробки					
	4			5		
	Запиликених квіток, шт.	Зернівки Зародки	%*	Запиликених квіток, шт.	Зернівки Зародки	%*
T1	88	0 / 0	0	22	0 / 0	0
T7	90	0 / 0	0	25	0 / 0	0
T12	–	– / –	–	11	4 / 0	0
T21	21	2 / 2	9,5±6,4	–	– / –	–
T22	26	0 / 0	0	–	– / –	–
T23	18	0 / 0	0	20	2 / 2	10,0±6,7
T24	54	6 / 2	3,7±2,6	–	– / –	0
T25	26	0 / 0	0	17	4 / 2	11,8±7,8

Примітка. \* – Кількість сформованих зародків на 100 запиликених квіток.

Comment. \* – The amount of formed embryos per 100 pollinated flowers.

**Післязапильна обробка.** Післязапильна обробка рослин дає змогу підвищити відсоток утворення зернівок і формування зародків. У 2012 р. післязапильну обробку не проводили. У результаті сформувались невелика кількість зернівок і лише один зародок.

У 2013 р. використовували три варіанти розчинів для післязапильної обробки квіток, що відрізнялися вмістом фітогормонів. Частота і метод обробки були стандартними для всіх рослин. Найбільш ефективними виявились варіанти 2 і 3 (табл. 3, 5). Проте у разі обробки запиленних квіток розчином ауксинів 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти та Dicamba сформовані зернівки не містили зародків. Тому для подальшого дослідження використання варіанта 3 було недоцільним.

У 2014 р. порівнювали стандартний метод обробки квіток розчином гормонів у полі (варіант 4) та культивування зрізаного колосся в умовах штучного клімату в рідкому поживному середовищі (варіант 5). Загалом в умовах штучного клімату дорощували у поживному середовищі 11 рослин із 95 запиленими квітками, в зернівках яких сформувалося 10 зернівок і 4 зародки. На польових ділянках дорощували 36 рослин (323 запилені квіткі), з яких зав'язалося 8 зернівок і вилучено 4 зародки, які дорощувалися на поживному середовищі. Проростки не отримано.

Занадто низький рівень утворення зародків і їхнього проростання, ймовірно, пов'язаний із несприятливими умовами розвитку рослин, а саме посухою та високим інфекційним фоном за вирощування у польових умовах. Крім того, кастрацію та запилення проводили на підгонах, які характеризувалися низькою життєздатністю. За рахунок розбіжності строків цвітіння пшениці та кукурудзи запилення головного, найбільш життєздатного колосу не є можливим в умовах Одеського регіону. Застосування методу буде ефективним за умов використання камер штучного клімату для вирощування обох батьківських форм.

## ВИСНОВКИ

1. Вивчено та проведено часткову синхронізацію строків цвітіння пшениці твердої ярої та рослин-запильників. Доведено, що для ефективного процесу отримання гаплоїдних рослин методом віддаленої гібридизації доцільним є вирощування батьківських рослин в умовах штучного клімату.
2. Для оцінки гаплопродукційної спроможності сорго отримано недостатньо даних. Встановлено, що сорго як запильник можна використовувати лише за умов попереднього дорощування його в умовах штучного клімату до фази цвітіння.
3. Визначено оптимальні варіанти постгамної обробки запиленних квіток для отримання гаплоїдів пшениці твердої: 1) водний розчин 2,4-D у концентрації 3–5 мг/л для дрібнодисперсної обробки колосся; 2) культивування зрізаного колосся із запиленими квітками в поживному розчині з додаванням 2,4-D у концентрації 100 мг/л.

1. *Almousslem A.B., Jauhar P.P., Peterson T.S. et al.* Haploid durum wheat production via hybridization with maize. **Crop Science**, 1998; 38: 1080–1087.
2. *Babar H., Muhammad A.K., Qurban A. et al.* Double haploid production in wheat through microspore culture and wheat x maize crossing system: an overview. **International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences**, 2012; 6(5): 332–344.

3. *Ballesteros J., Castillo A.M., Cistue L.* et al. Double haploid technique in durum wheat. In: Conxita Royo, Elias M. Elias (Ed.) **Durum Wheat Breeding: Current Approaches and Future Strategies**. New York: Food Products Press, 2009: 745–758.
4. *Claudio J., Javier Z., Hugo C.* Double haploid plants generated by wheat × maize intergeneric crosses. **Agricultura Tecnica**, 2000; 63: 323–328.
5. *Foroughi-Wehr B., Zeller F.J.* *In vitro* microspore reaction of different German wheat cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, 1990; 79: 77–80.
6. *Hussain M., Niaz M., Iqbal M.* et al. Emasculation techniques and detached tiller culture in wheat × maize crosses. **International Journal of Agriculture: Research and Review**, 2012; 50: 1–19.
7. *Ignatova S.O., Zhosonar M.V., Lobanova K.I.* et al. Obtaining of spring wheat double-haploid by anther culture. **Methodical recommendations. Odessa: South Plant Biotechnological Center UAAN**, 2008: 1–12. (In Ukrainian).
8. *Jauhar P.P.* Haploid and double haploid production in durum wheat by wide hybridization. In: Maluszynski M., Kasha K.J., Forster B.P. et al. (Ed.) **Double haploid production in Crop plants. A manual**. London: Springer Science-Business Media, 2011: 161–166.
9. *Kisana N.S., Nkongolo K.K., Quick J.S.* et al. Production of doubled haploids by anther culture and wheat × maize method in a wheat breeding programme. **Plant Breeding**, 1993; 110: 96–102.
10. *Knox R.E., Clarke J.M., DePauw R.M.* Dicamba and growth condition effects on doubled haploid production in durum wheat crossed with maize. **Plant Breeding**, 2000; 112: 289–298.
11. *Laurie D.A., Reymonde S.* High frequencies of fertilization and haploid seedling production in crosses between commercial hexaploid wheat varieties and maize. **Plant Breeding**, 1991; 106: 182–189.
12. *Laurie D.A., Bennett M.D.* The timing of chromosome elimination in hexaploid wheat × maize crosses. **Genome**, 1989; 32: 953–961.
13. *Laurie D.A., Bennett M.D.* Wheat × maize hybridization. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, 1986; 28: 313–316.
14. *Lobanova K.I., Zhosonar M.V., Ignatova S.O.* Ways of different winter wheat genotypes regeneration potential realization in anther culture. **The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine**, 2006; 4(1): 52–57. (In Ukrainian).
15. *Makhdoom H., Mubashir N., Muhammad I.* et al. Emasculation techniques and detached tiller culture in wheat × maize crosses. **International Journal of Agriculture: Research and Review**, 2012; 50(1): 1–19.
16. *Muhammad A.K., Javed A.* *In vitro* wheat haploid embryo production by wheat × maize cross system under different environmental conditions. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, 2011; 48(1): 49–53.
17. *Mujeeb-Kazi A., Gul A., Ahmed J.* et al. A simplified and effective protocol for production of bread wheat haploids ( $n=3\times=21$ , ABD) with some application areas in wheat improvement. **Pakistan Journal of Botany**, 2006; 38: 393–406.
18. *O'Donoghue L.S., Bennett M.D.* Comparative responses of tetraploid wheat pollinated with *Zea mays* L. and *Hordeum bulbosum* L. **Theoretical and Applied Genetics**, 1994; (87): 673–680.
19. *Sarrafi A., Amrani N., Alibert G.* Haploid regeneration from tetraploid wheat using maize pollen. **Genome**, 1994; (37): 176–178.
20. *Snape J.* Doubled haploid breeding: theoretical basis and practical applications. In: Mujeeb-Kazi A., L.A. Sitch (Ed.). **Review of advances in plant biotechnology 1985–88**. Philippines: 2<sup>nd</sup> Int. Symp. Genet. Manipulation Crops, 1989: 19–30.
21. *Wareing P.F., Phillips I. D. J.* **Growth and differentiation in plants**. 3<sup>rd</sup> edition. Great Britain: Pergamon, 1981. 356 p.



## METHODOLOGICAL ASPECTS OF OBTAINING OF DURUM WHEAT DOUBLE HAPLOIDS BY WIDE HYBRIDIZATION

**H. O. Dobrova, I. S. Zambriborsh, O. L. Shestopal**

*The Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed & Cultivar Investigation  
3, Ovidiopol'ska Road, Odessa 65036, Ukraine  
e-mail: dobrovaann@gmail.com*

Tetraploid wheat doubled haploid production is an important stage of a breeding process. Durum wheat is a low responsive to anther culture method species. Wide hybridization is a worldwide method of haploid plants obtaining. The study of this method efficiency and its adaptation to South Ukraine genotypes and agroclimatic conditions was carried out in this research. Material for investigation included spring durum wheat varieties and hybrids. Maize or Sorghum pollen was used for pollination as haploproducer. Flowering synchronization of wheat plants and pollinators was performed. It was determined that cultivation in a greenhouse to the stage of 3–4 leaves followed by further field growing is optimal for maize application as a pollinator. Under the field conditions maize plants start producing pollen at the beginning of June, while durum wheat flowers do the same at the beginning of May. Owing to the late maize flowering castration and pollination could not be performed on a main wheat spike (which is the most effective). It should be noted that caryopses developed under the soil and air drought. This is also a limiting factor for spring durum wheat doubled haploid production. The effect of five methods of post-pollination spike treatment on a seed formation was analyzed. Different hormone solutions for treatment and two locations for growing of pollinated spikes (in the field and *in vitro*) were used. The most effective treatment methods for pollinated flowers were determined.

**Keywords:** durum wheat, double haploids, haploproducer, wide hybridization, embryo culture.

## МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ПШЕНИЦЫ ТВЕРДОЙ МЕТОДОМ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ

**А. А. Доброва, И. С. Замбриборщ, О. Л. Шестопал**

*Селекционно-генетический институт –  
Национальный центр семеноводства и сортоизучения  
Овидиопольская дорога, 3, Одесса 65036, Украина  
e-mail: dobrovaann@gmail.com*

Получение удвоенных гаплоидов тетраплоидной пшеницы – это важный этап селекционного процесса. Твердая пшеница слабо отзывчива к методу пыльниковой культуры. В настоящее время в мире для получения линейного материала пшеницы твердой используют метод отдаленной гибридизации. В работе исследовали эффективность данного метода с одновременной адаптацией его к генотипам и агроклиматическим условиям региона Юга Украины. Материал исследования – сорта и гибриды пшеницы твердой яровой. Для опыления (как гаплопродюсера) использовали пыльцу кукурузы и сорго. Провели синхронизацию сроков

цветения пшеницы и растений-опылителей. Определили, что оптимальным для использования в качестве опылителя является дорастивание кукурузы в условиях искусственного климата до фазы трех–четырёх листьев с дальнейшей высадкой на полевых участках. В поле кукуруза начинает продуцировать пыльцу в начале июня, в то время как цветение пшеницы твердой происходит в конце мая. В связи с этим проводили кастрацию и опыление не главного колоса (что является наиболее эффективным), а колосьев подгонов. Следует отметить, что гибридизация и дальнейшее развитие зерновки пшеницы твердой происходили в условиях почвенной и воздушной засухи, что также является лимитирующим фактором применения данного метода для получения удвоенных гаплоидов пшеницы твердой яровой. Проанализировали влияние пяти вариантов обработки цветков после опыления на образование зерновок. Использовали растворы гормонов различной природы и два способа культивирования опыленных колосьев: в поле и в условиях искусственного климата. Определили наиболее эффективные варианты обработки опыленных цветков.

**Ключевые слова:** твердая пшеница, удвоенные гаплоиды, гаплопродюсер, отдаленная гибридизация, эмбриокультура.

Одержано: 06.10.2014