аграрної науки. – 2004. – №8. – С. 29 – 32.
4. Курчий Б.А. Что регулируют регуляторы роста. – К.: Логос, 1998. – 202 с.
5. Шевченко А.О., Анішин Л.А. Деякі результати виробничих випробувань нових рістрегуляторів при вирощуванні озимої пшениці.// Елементи регуляції в рослинництві. Збірник наукових праць. – К.: ВВП "Компас", 1998. – С. 38 – 40.
6. ДСТУ 2240-93. Насіння сільськогосподарських культур. Сортові та посівні якості. Технічні умови. – К.: Держстандарт України, 1994. – 74 с.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1979. – 416 с.
8. Ничипорович А.А.. Строганова Л.Е., Чморса С.Н., Власова М.П. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах. М.: Изд-во АН СССР, 1961. – 278 с.
9. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. – М.: Колос, – 1971. – 248 с.

Установлено положительное влияние предпосевной обработки бинарными смесями протравителей и биостимуляторов на посевные качества и урожайные свойства семян озимой пшеницы. Отмечено, что наибольшее повышение урожая зерна получено при использовании смеси гранивита с агростимулином.

The positive influence of the presowing theatment with binary mixtures of dressers and biostimulators on sowing qualities and productive characteristics of winter wheat seeds is established. It is noted that the most kernel yield increasing is obtained when using the mixture of granivit with agrostimulin.

УДК 633.853.494:631.527
М.М. Климчук, науковий співробітник
ПРИКАРПАТСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В. СТЕФАНИКА

ВПЛИВ ГЕНОТИПУ РІПАКУ ОЗИМОГО НА СТВОРЕННЯ ВИХІДНОГО СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ МЕТОДОМ КУЛЬТУРИ ІЗОЛЬОВАНИХ МІКРОСПОР

У селекції нових сортів озимого ріпаку з високою продуктивністю та якістю насіння важливе значення має використання біотехнологічних методів створення вихідного матеріалу за допомогою культури тканин, пиляків і особливо ізольованих мікроспор [1,3]. Це дає змогу селекціонерам, використовуючи широку базу генетичної різноманітності ріпаку, не тільки знайти, але й закріпити цінні гени та їхні комбінації, уникаючи багаторічних доборів серед гетерозиготного потомства. Крім цього, що дуже важливо, отримані дигаплоїдні лінії представляють собою гамети, а не зиготи, як звичайно, тому генетичне розщеплення між гаплоїдними лініями є розщепленням гаплоїдного, а не диплоїдного організму. У результаті це значно полегшує селекціонеру

© М.М. Климчук, 2006

аналіз характеру розщеплення в наступних гібридних поколіннях.

Однак, генотип культивованого матеріалу донорських рослин також виступає одним з найпроблемніших факторів, що впливають на успішне використання культури мікроспор у виду *Brassica* [2]. Тому перед нами стояло завдання тестувати виділені з колекції цінні сортозразки озимого ріпаку на чутливість до культури ізольованих мікроспор та отримати дигаплоїдні рослини-регенеранти для закріплення господарсько-цінних ознак та властивостей.

Методика та матеріали досліджень. Дослідження проводились у лабораторії біотехнології Івано-Франківського Інституту агропромислового виробництва (АПВ) УААН у 1998-2000 рр. Для ізоляції мікроспор та отримання рослин-регенерантів за основу використовували методику культури ізольованих мікроспор за Lichter, 1982 [5]. Виділені з колекції 34 сортозразки озимого ріпаку різного еколого-географічного походження з цінними господарсько-селекційними ознаками використовувались як рослини-донори для отримання бутонів у кліматичній камері із контрольованим мікрокліматом за 16-годинного освітлення і температури – 12°С/8°С (в періодичності день/ніч). Відбір бутонів проводили з мікроспорами в пізній одноядерній фазі розвитку, яку визначали за допомогою цитологічного аналізу. Бутони поверхнево стерилізували, поміщаючи їх у 25% розчин хлорного підбілювача протягом 10-15 хвилин з наступним промиванням.

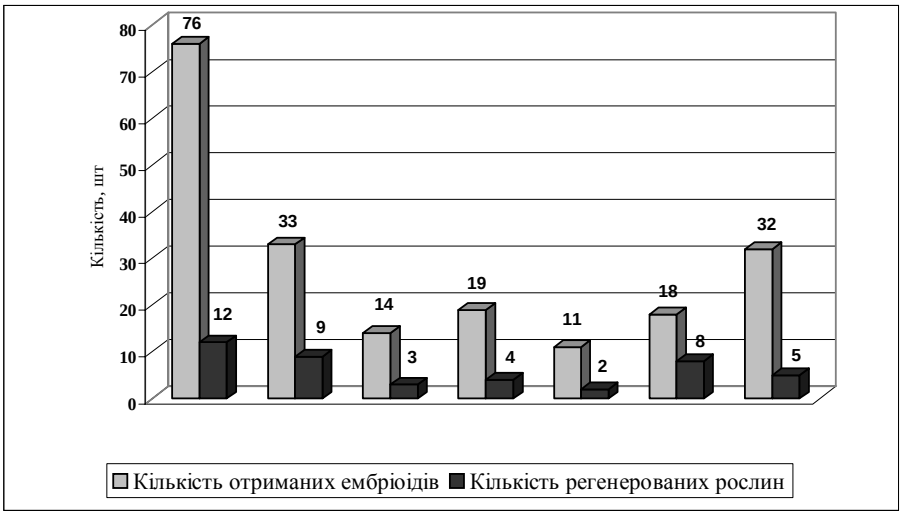
Для виділення мікроспор використовували метод мікроміксування із використанням грубосітчастого (з ячейками 0,1 мм) та дрібносітчастого (з ячейками 40 нм) металевого решета. Після цього отриману суспензію центрифугували при 700 об./хв. протягом 5 хв. з дво- триразовим промиванням. Концентрацію ізольованих мікроспор для кожного сортозразка змінювали у межах від $1 \cdot 10^3$ до $1 \cdot 10^6$ мікроспор/мл та визначали за допомогою камери Тома [4].

Мікроспори спочатку культивували за температури 32°С протягом 9 днів, а потім у темноті за 25°С протягом 3-4 тижнів. При отриманні ембріоідів і досягнення ними розміру 2 мм, чашки Петрі переміщували до освітленої протягом 14 годин кліматичної камери з температурою 22°С. За досягнення ембріоідами розміру 5 мм їх переносили до диференційного середовища (MD). Після 5-7 днів виділяли точки росту і переміщували ембріоіди до регенераційного середовища (RM), а після розвитку проростків – до поживного середовища Мурасіге-Скуге (MSd). За 3-4 тижні проводили оброблення проростків колхіцином, які після промивання висаджували в ґрунт. Протягом перших днів проростки потребували доброго зволоження, температури 14-16°С та 24-годинного освітлення.

Результати досліджень. Встановлено, що серед усіх сортозразків-

донорів, що вивчалися, виявлено 5 сортів та 4 селекційні сортолінії (або 26,47% від загальної кількості), які виявилися чутливими до культури ізольованих мікроспор.

Рис. 1. Кількість отриманих ембріоідів і регенерованих з них рослин залежно від генотипу озимого ріпаку (у середньому за 1998-2000 рр.)



Найбільшу кількість ембріоідів отримано у сорту-стандарту Тисменицький (76 шт.), Галицький (33 шт.) селекції Івано-Франківського Інституту АПВ та сортономеру голландської селекції VDH-1282 (32 шт.), а найбільший вихід рослин-регенерантів мали сортозразки VDH-1111 (Голландія) – 44,44%, Галицький (Україна) – 27,27%, Jet-Neuf (Франція) – 21,43%, NPZ-043 (Німеччина) – 21,05% та Ai4*C4 (Китай) – 18,18% (рис. 1).

При проведенні досліджень виявлено, що для ізоляції мікроспор оптимальною є пізня одноядерна фаза розвитку, якій відповідають бутони розміром 3-5 мм, що мають зелені чи прозорі (не жовті) пильники та пелюстки зі співвідношенням розміру пильника/пелюстки 2/3, що дозволяє за масових відборів бутонів використовувати візуальний метод.

Найбільший вихід ембріоідів отримано за концентрації $1 \cdot 10^6$ мікроспор/мл у поживному середовищі. Одержані ембріоіди були серцевидної та торпедовидної форми, що в кінцевому результаті не впливало на якість рослин-регенерантів (фото 1,2).

Максимальна кількість рослин-регенерантів з подвоєним числом хромосом отримана за вимочування гаплоїдних проростків у 0,05% розчині колхіцину протягом 18 годин.

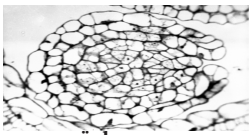


Фото 1. Ембріоід серцевидної форми, сортономер VDH-1282 (Голландія)

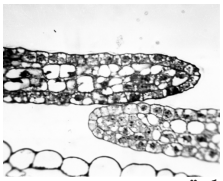


Фото 2. Ембріоіди торпедовидної форми, сорт Галицький

Таким чином, встановлено, що утворення ембріоідів при пізній одноядерній фазі спостерігалося у 5 сортів і 4 сортолдініій ріпаку озимого, а частота утворення ембріоідів значною мірою залежить від генотипу рослин.

*1. Beversdorf W.D., Charne D.G., Chuong P.V. The utilization of microspore culture and microspore-derived double-haploids in a rapeseed (*Brassica napus L.*) breeding programs. Abstracts. 7th Intern. Rapeseed Congr., Poznan, 1987. – P.467-469.*

2. Chuong P.V., Deslauriers C., Kott L.S., Beversdorf W.D. Effects of donor genotype and bud sampling on microspore culture of Brassica napus *// Can. J. Bot. 66. - 1988. P.1653-1657.*

3. Dunwell J. M., Pollen, ovule and embrio culture as a tool in plant breeding. In: L.A. Withers and P.G. Alderson (Eds.), Plant Tissue and its Agriculture Applications. Butterworths, London, 1985. – P. 375-404.

4. Kott L.S., Polsony L., Ellis B. and Bewersdorf W.D. Cytological aspects of isolated microspore culture of Brassica napus. *Can. J. Bot. 66. - 1988. – P. 1658-1664.*

5. Lichter, R. Induction of haploid plants from isolated pollen of Brassica napus *Z. Pflanzenphysiol., 105. - 1982. – P. 427-434.*

В результате изучения 34 сортов и сортолиний из генобанка озимого рапса на чувствительность к культуре изолированных микроспор установлено, что ембриогенные микроспоры в основом находились в бутонах при поздней одноядерной фазе. Образование ембриоидов наблюдалось у 5 сортов и 4 сортолиний озимого рапса. Частота образования ембриоидов и их урожайность в значительной степени зависели от генотипа растений.

As a result of the study of 34 varieties and varietal lines from winter rape gene bank for the response to isolated microspore culture, it is estabiiehed that the embryogenic microspores were in the main in buds at the late uninucllar stage. The embryoid formation were observed in 5 varieties and 4 varietal lines of winter rape. The formation frequency of embryoids and their yield depended in great extent on plant genotype.