

ЛАГУНОВСКАЯ Е. В. ✉, ЗАЙЦЕВА О. И., ЛЕМЕШ В. А.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,  
Беларусь, 220027, г. Минск, ул. Академическая, 27  
✉ e.antonenko@igc.by

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ИНДУКЦИОННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ПЫЛЬНИКОВ ГЕКСАПЛОИДНОГО ТРИТИКАЛЕ

**Цель.** Тритикале является одной из основных зернофуражных культур Республики Беларусь. Дальнейший прогресс в селекции этой культуры предполагает ускоренное создание высокопродуктивных скороспелых сортов, устойчивых к абиотическим и биотическим факторам. Метод индуцированного андрогенеза *in vitro* позволяет получить за короткий срок стабильные гомозиготные линии и исключить длительный процесс инбридинга, применяемый в классической селекции для закрепления желательных признаков. **Методы.** В исследовании использованы методы культивирования растительных клеток и тканей *in vitro*. **Результаты.** Дана оценка влияния состава индукционной питательной среды на эффективность индуцированного андрогенеза *in vitro* у сортов и линий гексаплоидного тритикале. Проанализировано влияние трех типов индукционной питательной среды, типа фитогормонов и наличия либо отсутствия в среде цефотаксима. **Выводы.** Показано, что для культивирования пыльников тритикале наиболее эффективно использование культуральной среды С-17 без добавления цефотаксима, дополненной 2,4-Д в концентрации 2,0 мг/л и кинетином в концентрации 0,5 мг/л.

**Ключевые слова:** тритикале, культура пыльников, индукционная питательная среда, эмбриониды, каллусы, растения-регенеранты, цефотаксим.

К настоящему времени разработаны протоколы получения удвоенных гаплоидов (ДН-линии – от англ. double haploid) для более 250 видов растений [1]. На основе ДН-линий создано более 100 новых сортов ячменя, риса и рапса [2]. Для получения гаплоидных растений тритикале наиболее популярным способом является метод культивирования пыльников *in vitro* [3, 4]. С момента получения первых растений-регенерантов тритикале в культуре пыльников

*in vitro* в 1973 году эффективность данного метода значительно увеличилась и достигает у отдельных сортов 1,3–9,8 зеленых растений на 100 пыльников [5, 6]. Однако, несмотря на значительный прогресс, методы андрогенеза тритикале не получили широкого практического применения. Метод характеризуется двумя основными недостатками: растения могут развиваться не только из микроспор, но и из спорофитных тканей пыльника, кроме того, стенка пыльника может продуцировать вещества, ингибирующие процесс пыльцевого андрогенеза. В связи с этим, для тритикале актуальным является разработка детальных протоколов получения линий удвоенных гаплоидов с целью повышения эффективности этого процесса, которая определяется множеством факторов. К их числу относятся: генотип растения-донора пыльников, физиологическое состояние растений во время сбора материала, стадия развития микроспор во время сбора материала и помещения в культуру *in vitro*, тип и продолжительность стрессового воздействия на колосья во время предобработки перед культивированием *in vitro*, плотность посадки пыльников на индукционную среду, количество пассажей и тип среды на протяжении всего периода культивирования, состав микро- и макросолей, тип и концентрация углеводов, присутствие и тип регуляторов роста и других биологически активных компонентов питательной среды, спектр и интенсивность освещения, а также температура культивирования на протяжении всего процесса [1, 2, 4].

Посредством использования различных питательных сред и изменения их состава можно регулировать отзывчивость растений к пыльцевому андрогенезу *in vitro*. При культивировании пыльников и изолированных микроспор используются различные индукционные и регенерационные среды, в том числе С17, N6, B5, Potato-2, BAD-1, BAD-3, 190-2, W14, СНВ и их модификации [7, 8]. Установлено, что суще-

© ЛАГУНОВСКАЯ Е. В., ЗАЙЦЕВА О. И., ЛЕМЕШ В. А.

ствуется генотипическая зависимость отзывчивости различных видов и линий растений от состава культуральной среды [9].

Подбор оптимальной концентрации определенных гормонов, вводимых в состав питательной среды, является важным фактором регулирования эффективности метода культуры пыльников и проводится экспериментально для каждого вида растений [10]. Фитогормоны не только влияют на степень метилирования ДНК, регулируя экспрессию генов, но и связываются с белками-репрессорами на опероне, что приводит к активации структурных генов и синтезу определенных ферментов. Следовательно, изменяя соотношение гормонов в питательных средах, можно в какой-то степени изменять и генетические программы клеток и тканей. Эти процессы известны как дедифференциация, редифференциация и дифференциация клеток и тканей [11].

Наблюдается генотипическая зависимость отзывчивости в культуре пыльников от количества гормонов, особенно ауксинов и цитокининов. В исследованиях [12, 13] выявлено, что экспланты с высоким уровнем эндогенных индолилуксусной кислоты (ИУК) и абсцизовой кислоты (АБК) способны саморегулировать морфогенные процессы даже при отсутствии экзогенных стимуляторов на безгормональной среде, а высокие концентрации ауксинов и цитокининов могут ингибировать развитие эмбриоидов. Так, повышение содержания 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в культуральной среде с 0,5 мг/л до 1,5 мг/л смещает морфогенетические процессы в культуре пыльников мягкой пшеницы в сторону каллусогенеза [14]. При этом при массовом получении удвоенных гаплоидов чаще всего используются индукционные среды, дополненные 2,4-Д в концентрации 2 мг/л [8, 15].

Таким образом, показано, что переключение программы развития микроспор с гаметофитного на спорофитный путь развития находится под контролем баланса экзогенных и эндогенных фитогормонов. Эмбриогенез в каллусах высокоауксиновых линий мягкой пшеницы индуцировался при концентрации экзогенной ИУК в 0,1 мг/л, а в каллусах низкоауксиновых сортов – при концентрации экзогенной ИУК в 0,5 мг/л [10]. В исследованиях Lantos et al. [16] наиболее эффективным было использование безгормональных питательных сред.

Подводя итог имеющимся данным научной литературы, можно сделать вывод, что они достаточно противоречивы, в связи с чем для повышения эффективности метода культивирования пыльников *in vitro* необходима оптимизация состава питательных сред. Целью работы являлась оценка эффективности использования индукционных питательных сред различного состава при культивировании *in vitro* пыльников тритикале.

### Материалы и методы

Для исследования отзывчивости сортов и линий тритикале к индукции морфогенетических процессов в культуре тканей в качестве эксплантов использовали пыльники растений. Растительный материал выращивали в полевых условиях. Колосья с частью стебля срезали на стадии поздних вакуализированных микроспор и подвергали предварительной холодной обработке (+4°C) в течение 21–28 дней. Стерилизацию материала проводили в течение 20 мин 3 % гипохлоритом натрия с последующей трехкратной промывкой дистиллированной водой. Пыльники извлекали в условиях ламинар-бокса и помещали в чашки Петри (ш 40 мм) для инициации эмбриогенеза на жидкие питательные среды C-17, W14, MS [17–19] с вариациями (табл. 1) и культивировали в термостате в темноте 7 дней при +31°C, а в дальнейшем при температуре +26°C до образования эмбриогенных структур.

Новообразования, достигшие 1 мм, переносили на 40–70 день культивирования на регенерационную среду MSR (таблица 1) и помещали в климатическую камеру (фотопериод 16/8 ч, температура +18/20<sup>0</sup>, интенсивность освещения 1500–2000 лк). После формирования растений-регенерантов для лучшего развития корневой системы их пересаживали в стеклянные сосуды на обедненную безгормональную среду 0,5MSR. Растения с хорошо развитой корневой системой высаживали в искусственную почву «Биона» и продолжали выращивать в условиях климатических камер до образования семян.

Эффективность морфогенетических процессов у исследованных генотипов учитывалась по следующим параметрам: выход новообразований (эмбриоидов и каллусов), выход растений-регенерантов (% от числа инокулированных пыльников), частота регенерации растений, зеленых и хлорофилл-дефектных (% от числа полученных новообразований), доля зеленых

растений-регенерантов (% от суммарного числа полученных зеленых и хлорофилл-дефектных растений-регенерантов). Оценку динамики морфогенетических процессов проводили путем подсчета числа пыльников и появляющихся на них эмбриогенных структур через 30, 40 и 50 дней после посадки пыльников на индукционные среды и числа растений-регенерантов через 7, 14, 21 и 27 дней после помещения новообразований на среды для регенерации.

### Результаты и обсуждение

С целью повышения эффективности метода культуры пыльников *in vitro* тритикале была проведена серия исследований, связанных с оптимизацией состава индукционной питатель-

ной среды. В первом эксперименте использовали питательные среды С-17 и MS с различными комбинациями фитогормонов (табл. 2).

В культуру пыльников вводили 17 форм гексаплоидного тритикале озимого и ярового типов развития. Для анализа влияния типа индукционной среды на отзывчивость к андрогенезу *in vitro* были рассчитаны суммарные показатели для всех изученных генотипов (табл. 3).

При использовании безгормональной среды MS ни одна из изученных форм не проявила способности к пыльцевому андрогенезу. Наибольший выход новообразований наблюдался при использовании среды С-17, дополненной 2,4-Д (2,0 мг/л) и кинетином (0,5 мг/л).

Таблица 1. Состав питательных сред для культивирования пыльников *in vitro* (в мг/л)

Компонент	С-17	W14	MS	MSR	0,5 MSR
KNO <sub>3</sub>	1400	2000	1900	1900	950
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	300	–	1650	1650	825
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	–	380	–	–	–
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	400	–	170	170	85
CaCl <sub>2</sub>	113,5	113,5	332,2	332,2	167
MgSO <sub>4</sub> Ч 7H <sub>2</sub> O	150	200	370	370	185
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	–	700	–	–	–
MnSO <sub>4</sub> Ч 4H <sub>2</sub> O	11,2	8,0	11,2	11,2	5,6
ZnSO <sub>4</sub> Ч 7H <sub>2</sub> O	8,6	3,0	8,6	8,6	4,3
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	3,0	6,2	6,2	3,1
KJ	0,83	0,5	0,83	0,83	0,42
CuSO <sub>4</sub> Ч 5H <sub>2</sub> O	0,025	0,05	0,025	0,025	0,013
CoCl <sub>2</sub> Ч 6H <sub>2</sub> O	0,025	0,05	0,025	0,025	0,013
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> Ч 2H <sub>2</sub> O	–	0,01	0,25	0,25	0,13
Na <sub>2</sub> EDTA	37,3	37,3	37,3	37,3	18,65
FeSO <sub>4</sub> Ч 7H <sub>2</sub> O	27,8	27,8	27,8	27,8	13,9
Глицин	2	2	2	–	–
Глутамин	150	500	–	–	50
мио-Инозитол	500	100	200	200	50
Тиамин хлорид	10,0	0,1	0,1	10,0	0,4
Пиридоксин хлорид	1,0	0,5	0,5	1,0	–
Никотиновая кислота	1,0	0,5	0,5	1,0	–
Кинетин	0,5	0,5	–	0,5	–
2,4-Д	2,0/–	2,0	–	–	–
6-БАП	–	–	0,5/–	–	–
ИУК	–/2,0	–	–	0,5	–
НУК	–	–	2,0/–	–	–
Мальтоза (г/л)	93,7	60,0	–	30,0	–
Сахароза (г/л)	–	–	30,0	30,0	70,0
Цефотаксим	100/–	100/–	–	–	–
Фитогель	–	–	–	3000	3000
pH	5,8	5,8	5,7	5,7	5,7

Таблица 2. Состав индукционных сред с различным гормональным составом

Вариант питательной среды	Состав питательной среды	Состав фитогормонов
MS	MS	–
MSбн	MS	6-БАП (0,5 мг/л), НУК (2,0 мг/л)
С-17д	С-17	2,4-Д (2,0 мг/л), кинетин (0,5 мг/л)
С-17и	С-17	ИУК (2,0 мг/л), кинетин (0,5 мг/л)

Таблица 3. Параметры морфогенетических процессов в зависимости от типа индукционной среды и состава фитогормонов

Вариант питательной среды	Число пыльников, шт.	Выход новообразований, %	Выход растений-регенерантов, %	Частота регенерации зеленых растений, %
MS	660	0	0	0
MSбн	811	0,25	0	0
С-17д	1105	5,10	0,42	8,2
С-17и	417	2,88	0	0

Также только в случае использования данного варианта питательной среды наблюдалась регенерация растений, однако зеленые растения регенерировали только у трех из 17 изученных форм (ДН (49-1)-1-12, Лог-1, Нагано х МАН 17569/2642). В целом использование среды С-17 было значительно эффективнее, чем среды MS, что может быть обусловлено составом и концентрацией углеводов [13].

Одной из существенных проблем культивирования тканей *in vitro* является контаминация, приводящая к снижению экономического эффекта от применения методов, потере времени и материалов. Для решения данной проблемы в индукционные среды добавляют антибиотики [20], однако они, как правило, обладают фитотоксическим эффектом на растительные ткани, что сдерживает их широкое применение [21]. Показано, что применение цефотаксима в концентрации 100 мг/л при индукции андрогенеза в культуре микроспор пшеницы и тритикале не только снижает контаминацию граммотрицательными бактериями, но и положительно влияет на выход эмбриоидов и регенерацию растений, в том числе увеличивает долю зеленых растений-регенерантов [22].

В связи с этим нами проведено исследование влияния цефотаксима в концентрации 100 мг/л на процессы андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников тритикале в сочетании с двумя широко используемыми индукционными средами С-17 и W14. Анализ полученных данных показал, что в среднем достоверно бо-

лее высокий (при  $p < 0,001$ ) выход новообразований наблюдался при использовании среды С-17, не содержащей цефотаксима. Ни одна из изученных форм тритикале не проявила способности к морфогенезу на питательной среде С-17и. В то же время наблюдалась определенная генотипическая зависимость от типа среды. В частности, среди шести генотипов, культивированных на всех вариантах питательной среды (гибриды Садко х Рубин, (Матейко х Лотас) х Нагано Э2266, Биос-4 Э2883 х Узор Модерато, Э2298 х Узор, Д-8038 х Нагано, Легинь харківський х Рубин), три проявили отзывчивость только на среде W-14 (Садко х Рубин, (Матейко х Лотас) х Нагано Э2266 и Биос-4 Э2883 х Узор), по одному – на средах W-14ц (Легинь харківський х Рубин) и С-17 (Модерато Э2298 х Узор), для гибрида Д-8038 х Нагано показано формирование эмбриогенных структур на средах W-14ц и С-17. При расчете показателей регенерации растений использовались только формы, проявившие способность к индукции морфогенеза (табл. 4).

Регенерация зеленых растений наблюдалась только при использовании питательных сред без антибиотика. В целом введение в состав индукционной среды цефотаксима оказывает неблагоприятное воздействие на все показатели андрогенеза, что может объясняться как генотипической обусловленностью, так и неприменимостью данного антибиотика в культуре пыльников, несмотря на его положительный эффект при культивировании микроспор [22].

Таблица 4. Параметры морфогенетических процессов в культуре пыльников *in vitro* тритикале в зависимости от типа индукционной среды и содержания цефотаксима

Вариант питательной среды	Число пыльников, шт.	Выход новообразований, %	Выход растений-регенерантов, %	Частота регенерации растений, %	
				зеленых	хлорофилл-дефектных
C-17	2199	8,8	0,8	5,1	2,1
W14	2736	1,6	0,3	6,5	8,1
W14ц	1858	0,6	0,1	0	4,0

### Выводы

Таким образом, в результате исследования влияния на эффективность андрогенеза *in vitro* у гексаплоидного тритикале таких факторов, как тип индукционной питательной среды, наличие и тип фитогормонов, присутствие в среде цефотаксима, показано, что для культивирования пыльников тритикале наиболее эффективно использовать в качестве индукционной культуральной среды среду C-17, дополненную 2,4-Д в концентрации 2,0 мг/л и кинетином в концентрации 0,5 мг/л.

Таксима, показано, что для культивирования пыльников тритикале наиболее эффективно использовать в качестве индукционной культуральной среды среду C-17, дополненную 2,4-Д в концентрации 2,0 мг/л и кинетином в концентрации 0,5 мг/л.

### References

- Murovec J., Bohanec B. Haploids and Doubled Haploids in Plant Breeding. *Plant Breeding* / ed. I. Abdurakhmonov. Pijeka: InTech, 2012. P. 87–106. doi: 10.5772/29982.
- Wkdzony M., Forster B.P., Ćur I., Golemić E. Progress in doubled haploid technology in higher plants. *Advances in haploid production in higher plants* / eds. A. Touraev, S.M. Jain, B.P. Forster. Dordrecht: Springer, 2009. P. 1–33. doi: 10.1007/978-1-4020-8854-4\_1.
- Eudes F., Chugh A. An Overview of Triticale Doubled Haploids. *Advances in haploid production in higher plants* / eds. A. Touraev, S.M. Jain, B.P. Forster. Dordrecht: Springer, 2009. Ch. 6. P. 87–113. doi: 10.1007/978-1-4020-8854-4\_6.
- Wkdzony M., Ćur I., Krzewska M., Dubas E., Szechycska-Hebda M., Wñsek I. Doubled Haploids in Triticale. *Triticale* / eds. F. Eudes. Cham: Springer International Publishing, 2015. Ch. 6. P. 111–128. doi: 10.1007/978-3-319-22551-7\_6.
- Ćur I., Dubas E.N., Golemić E., Szechycska-Hebda M. Stress-induced changes important for effective androgenic induction in isolated microspore culture of triticale (*x* *Triticosecale* Wittm.). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2008. Vol. 94, № 3. P. 319–328. doi: 10.1007/s11240-008-9360-6.
- Lantos C., Bona L., Boda K., Pauk J. Comparative analysis of *in vitro* anther- and isolated microspore culture in hexaploid Triticale (*x* *Triticosecale* Wittmack) for androgenic parameters. *Euphytica*. 2014. Vol. 197. P. 27–37. doi: 10.1007/s10681-013-1031-y.
- Tenhola-Roininen T., Immonen S., Tanhuanpaa P. Rye doubled haploids as a research and breeding tool – a practical point of view. *Plant Breed.* 2006. Vol. 125. P. 584–590. doi: 10.1111/j.1439-0523.2006.01296.x.
- Ponitka A., Slusarkiewicz-Jarzina A. The effect of liquid and solid medium on production of winter triticale (*x* *Triticosecale* Wittm.) anther-derived embryos and plants. *Cereal Research Com.* 2007. Vol. 35, № 1. P. 15–22. doi: 10.1556/CRC.35.2007.1.3
- Eudes F., Amundsen E. Isolated microspore culture of Canadian 6x triticale cultivars. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2005. Vol. 82. P. 233–241. doi: 10.1007/s11240-005-0867-9.
- Sel'dimirova O.A., Veselova S.V., Katasonova A.A., Zajcev D.Yu., Kruglova N.N. Immunofерментный анализ каллусов яровой мягкой пшеницы. *Izvest. Chelyabinsk. nauch. centra.* 2007. Вып. 1, № 35. S. 131–135. [in Russian] / Сельдимирова О.А., Веселова С.В., Катасонова А.А. Зайцев Д.Ю., Круглова Н.Н. Иммуноферментный анализ каллусов яровой мягкой пшеницы. *Izvest. Chelyabinsk. nauch. centra.* 2007. Вып. 1, № 35. С. 131–135.
- Orlov P.A. Kletochnye i genno-inzhenernye tekhnologii modifikacii rastenij. Minsk: Tonpik, 2006. 248 s. [in Russian] / Орлов П.А. Клеточные и генно-инженерные технологии модификации растений. Минск: Тонпик, 2006. 248 с.
- Kruglova N.N. Morfogenez v kul'ture pyl'nikov pshenicy: ehmbriologicheskij podhod. Ufa: Gilem, 2001. 203 s. [in Russian] / Круглова Н.Н. Морфогенез в культуре пыльников пшеницы: эмбриологический подход. Уфа: Гилем, 2001. 203 с.
- Kruglova N.N., Sel'dimirova O.A. Regeneraciya pshenicy *in vitro* i *ex vitro*. Ufa: Gilem, 2011. 124 s. [in Russian] / Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
- Oleszczuk S., Sowa S., Zimny J. Direct embryogenesis and green plant regeneration from isolated microspores of hexaploid triticale (*x* *Triticosecale* Wittmack) cv. Bogo. *Plant Cell Rep.* 2004. Vol. 22. P. 885–893. doi: 10.1007/s00299-004-0796-9.
- Gonzalez J.M., Jouve N. Microspore development during *in vitro* androgenesis in triticale. *Biol. Plant.* 2005. Vol. 49, № 1. P. 23–28. doi: 10.1007/s10535-005-3028-4.
- Lantos C., Weyen J., Orsini J.M., Gnad H., Schlieter B., Lein V., Kontowski S., Jacobi A., Mihály R., Broughton S., J. Pauk Efficient application of *in vitro* anther culture for different European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programmes. *Plant Breed.* 2013. Vol. 132, № 2. P. 149–154. doi: 10.1111/pbr.12032.
- Wang P.A., Chen Y.R. Study on the Application of C17 Medium for Anther Culture. *Acta Botan. Sin.* 1986. Vol. 28. P. 38–45.
- Ouyang J., Jia S., Zhang C., Chen X.D., Feng G.H. A new synthetic medium (W14) for wheat anther culture. *Ann. Rep. Inst. Genet. Sin. Beijing.* 1989. P. 91–92.

19. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473–497.
20. Silva J.A.T., Nhut D.T., Tanaka M., Fukai S. The effect of antibiotics on the in vitro growth response of chrysanthemum and tobacco stem transverse thin cell layers (tTCLs). *Sci Hortic.* 2003. Vol. 97. P. 397–410. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00219-4.
21. Shehata A.M., Wannarat W., Skirvin R.M., Norton M.A. The dual role of carbenicillin in shoot regeneration and somatic embryo- genesis of horseradish (*Armoracia rusticana*) in vitro. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2010. Vol. 102. P. 397–402. doi: 10.1007/s11240-010-9732-6.
22. Asif M., Eudes F., Randhawa H., Amundsen E., Yanke J.L., Spaner D.M. Cefotaxime prevents microbial contamination and improves microspore embryogenesis in wheat and triticale. *Plant Cell Rep.* 2013. Vol. 10. P. 1637–1646. doi: 10.1007/s00299-013-1476-4.

**LAGUNOVSKAYA E. V., ZAITSEVA O. I., LEMESH V. A.**

*Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Republic of Belarus, 220072, Minsk, Akademicheskaya str., 27, e-mail: e.antonenko@igc.by*

#### **EFFICIENCY OF USING DIFFERENT TYPES INDUCTION CULTURE MEDIUM FOR HEXAPLOID TRITICALE ANTHHER CULTIVATION**

**Aim.** Triticale is one of the main grain crops of the Republic of Belarus. Further progress in the selection of this culture involves the accelerated creation of highly productive early ripening varieties resistant to abiotic and biotic factors. The method of induced androgenesis in vitro makes it possible to obtain stable homozygous lines in a short period of time and to eliminate the lengthy process of inbreeding used in classical breeding to fix the desired traits. **Methods.** The tissue and cell culture methods for plants was used in the study. **Results.** The influence of the induction medium composition on the efficiency of in vitro induced androgenesis in varieties and lines of hexaploid triticale is assessed. The influence of three types of induction culture medium, the type of phytohormones and the presence or absence of cefotaxime in the medium are analyzed. **Results.** It has been shown that using the C-17 culture medium supplemented with 2.0 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l kinetin without adding cefotaxime is most effective for the anther triticale cultivation.

**Keywords:** triticale, anther culture, induction nutrient medium, embryoids, calli, regenerant plants, cefotaxime.

**ЛАГУНОВСЬКА О. В., ЗАЙЦЕВА О. І., ЛЕМЕШ В. А.**

*Інститут генетики і цитології НАН Білорусі,  
Білорусь, 220027, м. Мінськ, вул. Академічна, 27*

#### **ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ ТИПІВ ІНДУКЦІЙНИХ СЕРЕДОВИЩ ПІД ЧАС КУЛЬТИВУВАННЯ ПИЛЯКІВ ГЕКСАПЛОЇДНОГО ТРИТИКАЛЕ**

**Мета.** Тритикале є однією з основних зернофуражних культур Республіки Білорусь. Подальший прогрес у селекції цієї культури передбачає прискорене створення високопродуктивних скоростиглих сортів, стійких до абіотичних і біотичних факторів. Метод індукваного андрогенезу *in vitro* дозволяє отримати за короткий термін стабільні гомозиготні лінії, не використовуючи тривалий процес інбридингу, що застосовується у класичній селекції для закріплення бажаних ознак. **Методи.** У дослідженні використані методи культивування рослинних клітин і тканин *in vitro*. **Результати.** Дано оцінку впливу складу індукційного живильного середовища на ефективність індукваного андрогенезу *in vitro* у сортів і ліній гексаплоїдного тритикале. Проаналізовано вплив трьох типів індукційного живильного середовища, типу фітогормонів і наявності або відсутності в середовищі цефотаксиму. **Висновки.** З'ясовано, що для культивування пиляків тритикале найефективніше використовувати культуральне середовище С-17 без додавання цефотаксиму, доповнене 2,4-Д у концентрації 2,0 мг/л і кінетином у концентрації 0,5 мг/л.

**Ключові слова:** тритикале, культура пиляків, індукційне живильне середовище, ембріюди, калюси, рослини-регенеранти, цефотаксим.