

Synechocystis sp. PCC 6803 were examined. *Methods*. Cultures were grown in liquid BG11 medium at $30 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. *Results*. $0,5 \mu\text{M}$ MV inhibited growth and photosynthetic activity in the *sodB*⁻ mutant within 8 hr. The PCC 7942 wild type as well the PCC 6803 wild type and its *katG*⁻ mutant remained nearly unaffected for 48 hr. The oxidative damage to the *sodB*⁻ mutant was not accompanied by essential changes in pigment content but was accompanied by greater catalase activity. *Conclusions*. Lack of catalase activity in the *katG*⁻ mutant of *Synechocystis* sp. PCC 6803 does not sensitize to MV because iron superoxide dismutase (Fe-SOD) is active. However, if the Fe-SOD is absent, as in the *Synechococcus* sp. PCC 7942 *sodB*⁻ mutant, activation of catalase appears to be an adaptive response to MV that may allow survival.

Key words: *Synechococcus* sp. PCC 7942, *Synechocystis* sp. PCC 6803, methyl viologen.

ШЕСТОПАЛ О.Л., ЗАМБРІБОРЩ І.С., ТОПАЛ М.М., ЛІТВИНЕНКО М.А., ІГНАТОВА С.О.

Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення
Україна, 65036, м. Одеса, Овідіопольська дорога, 3, e-mail: oksana_shestopal@mail.ru

ВИВЧЕННЯ ГАПЛОПРОДУКЦІЙНОЇ ЗДАТНОСТІ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ З ПШЕНИЧНО-ЖИТНИМИ ТРАНСЛОКАЦІЯМИ

Селекційна цінність сортів м'якої пшениці, які несуть транслокації 1RS.1BL та 1RS.1AL, обумовлена стійкістю цих рослин до абіотичних та біотичних чинників. Ділянка хромосоми, що несе транслокацію 1RS.1BL містить гени стійкості до грибних патогенів: бурої іржі (Lr26), стебловий іржі (Sr31), жовтої іржі (Yr9) і борошністої роси (Pm8), а 1RS.1AL транслокація від жита *Insave* (сорт *Amigo*) несе ген стійкості до двох біотипів тлі *Schizaphis graminum*, кліща *Aceria tosicheilla* (Keifer) та ген стійкості до борошністої роси *Pm17* [1]. Слід відмітити, що транслокація 1RS.1BL значно знижує показники хлібо-

пекарської якості, тоді як присутність 1RS.1AL не призводить до такого різкого зниження цих показників у твердозерних форм пшениці [2, 4]. Для прискорення селекційного процесу необхідне використання сучасних біотехнологічних методів, зокрема, отримання гомозиготних ліній шляхом гаплоїдії. Одним із яких є культура ізольованих пиляків [4]. Отже, робота з тестування гаплопродукційної здатності озимої м'якої пшениці та отримання серед регенерантів подвоєних гаплоїдів, які містять транслокації 1RS.1BL та 1RS.1AL, є актуальною та важливою.

Матеріали і методи

Дослідницький матеріал наданий відділом селекції та насінництва пшениці СГІ-НЦНС. У роботу було залучено 16 гібридних популяції F₁ та 9 батьківських сортів. Сорти Золотоколоса, Княгиня Ольга, що містять транслокацію 1RS.1AL, і сорти Легенда Миронівська, Калинова, Колос Миронівщини – транслокацію 1RS.1BL, були залучені в схрещування с сортами місцевої селекції – Годувальниця Одеська, Дальницька, Куяльник, Антонівка, що характеризуються, як високоадаптивні до кліматичних умов Півдня України. Також досліджували 11 складних гібридів від схрещувань із трансгресивними лініями: Tr-1, Tr-3, Tr-4, Tr-5, що містять 1RS.1BL транс локацію.

Рослини вирощували в 2012 р. на дослідних польових ділянках СГІ-НЦНС. Пагони з пиляками зрізали з донорних рослин, коли вакуолізовані мікроспори знаходились у середньопізній фазі розвитку. Попередню обробку зрізаних пагонів проводили у водному розчині АБК (0,5 мг/л) протягом 3-5 діб при +2 – +4 °C у

темряві [4, 5]. Колосся поверхнево стерилізували насиченим розчином гіпохлориту кальцію за прийнятою методикою [6]. Ізольовані пиляки висаджували на індукційне поживне середовище 190-2 [6] у модифікації [7]. Висаджені пиляки культивували перші 3 доби у темряві за температури +30 °C, далі при + 24 °C до появи новоутворень. Сформовані калюсні макроструктури пересаджували на середовище MS у модифікації [7] і культивували у темряві 3–4 тижні до появи центрів регенерації, далі – за умов 16-годинного фотоперіоду, інтенсивності освітлення – 10 тис. люкс, температурі + 24 °C до формування рослин-регенерантів. Зелені рослини пересаджували на безгормональне поживне середовище MS та яровизували 45 діб за температури +2-4 °C, 16-годинному фотоперіоді, інтенсивності освітлення 3000–3500 люкс. Потім отримані рослини-регенеранти висаджували у ґрунтову суміш у маленькі 200 мл пластикові стакани, накривали агроволокном (для кращої адаптації до

умов *ex vitro*) і вирощували в умовах штучного клімату. Надалі адаптовані рослини пересаджу-

Результати та обговорення

Результати тестування гаплопродукційної здатності в культурі пиляків *in vitro* 27 гібридних популяцій F₁ та 9 сортів озимої м'якої пшениці, наданих відділом селекції та насінництва пшениці СГП, наведені в табл. 1 і 2. Слід зазначити, що за даних умов експерименту лише 3 генотипи з 36 виявились не чутливими до андрогенезу *in vitro* – сорт Антонівка, та два гібриди – 516 і 528.

Показано, що серед сортів найвищими показниками гаплопродукційної здатності (кількість новоутворень та кількість зелених рослин-регенерантів) характеризувався сорт Куяльник (8,61 шт. та 9,43 шт. на 100 пиляків відповідно). Високий рівень формування новоутворень показав і сорт Золотоколоса – 8,05 шт./100 пиляків, однак він характеризувався значно нижчим показником «кількість зелених рослин-регенерантів» – 1,22 шт./100 пиляків (табл. 1).

Другу групу за рівнем індукції новоутворень склали сорти Княгиня Ольга, Легенда Миронівська, Колос Миронівщини (2,12, 2,58. та 2,49 шт. на 100 пиляків відповідно). Проте регенерація в цієї групи сортів була невисокою, а самі регенеранти характеризувались низькою життєздатністю та погано перенесли яровизацію.

Сорти Калинова, Дальницька, Годувальниця показали відповідно 0,31 шт., 0,84 шт. та 0,91 шт. новоутворень на 100 пиляків. Не дивлячись на таку низьку частоту формування новоутворень, регенеранти сортів Дальницька, Годувальниця мали велику життєздатну силу й властивість до збільшення кількості центрів регенерації на материнському калюсі отриманих рослин-регенерантів (табл. 1).

Стосовно гібридів F₁ (табл. 1), то в більшості випадків, вони мали вищий за батьківські сорти рівень формування новоутворень. Даний результат ми прогнозували й очікували, спираючись на результати наших попередніх досліджень та дані літератури [7 - 10]. Виявлено відмінності між показниками гаплопродукційної здатності простих реципрокних гібридів. Показано, що в гібридних популяціях, де за батьківську форму залучали сорт Княгиня Ольга (транслокація 1RS.1AL), рівень індукції новоутворень був вищим, у порівнянні з гібридами,

де даний сорт виступав як материнський компонент.

Аналіз чотирьох складних гібридних комбінацій: F₁ [Куяльник х Золотоколоса] х Куяльник; F₁ [Куяльник х Золотоколоса] х Золотоколоса; F₁ [Куяльник х Княгиня Ольга] х Куяльник, F₁ [Куяльник х Княгиня Ольга] х Княгиня Ольга показав, що рівень формування новоутворень усіх форм був достатньо високим (2,11 шт., 3,44 шт., 3,61 шт. і 5,94 шт. на 100 пиляків відповідно), але достовірно (p<0,05) нижчим за такий у сортів Куяльник та Золотоколоса. Тобто показано регресивний характер прояву ознаки «індукція новоутворень» у F₁ гібридів між сортами Куяльник та Золотоколоса.

Відомо, що для підвищення гаплопродукційної здатності різних генотипів озимої пшениці доцільно залучати у схрещування «донори гаплопродукції» – форми пшениці, що характеризуються високим рівнем формування новоутворень в культурі ізольованих пиляків [7-10]. Тому, виявлений ефект негативного впливу на показники гаплопродукції у міжсортних гібридів між двома сортами потенційними «донорами», має теоретичний та практичний інтерес та підтверджує необхідність проведення обов'язкового тестування властивостей донора гаплопродукції у конкретних комбінаціях схрещувань.

За культивування пиляків *in vitro* складних гібридів сортів із лініями, що містять 1RS.1BL транслокацію, виявили, що дев'ять з них є чутливими до наданих умов культури *in vitro* (табл. 2). Найвищими показниками гаплопродукції серед усіх генотипів м'якої пшениці характеризувався номер 504 ([F₇, Куяльник х Тг-5] х Княгиня Ольга): новоутворень – 10,11 шт./ на 100 пиляків та регенерантів – 7,79 шт./ на 100 пиляків. Слід зазначити, що морфогенні калюси цього гібриду вирізнялися здатністю до збільшення кількості точок регенерації в процесі культивування. Так, після 45 добової яровизації – рослин-регенерантів на етапі висадки їх у ґрунт кількість рослин збільшилась понад 1,5 рази (з 37 до 61 шт.). Тобто регенераційний потенціал новоутворень гібриду 504 був надвисоким.

Таблиця 2. Ефективність гаплопродукції в культурі пиляків *in vitro* складних гібридів озимої м'якої пшениці зі трансгресивними формами

№	Генотип	Кількість пиляків	Кількість новоутворень		Кількість регенерантів		
			шт.	шт./ на 100 пиляків	шт.	шт./ на 100 пиляків	після яровизації, шт.
504	[F ₇ , Куяльник х Tr-4] х Заграва	403	9	2,23 ± 0,74	0	0	-
507	[F ₈ , Альбатрос х [(Обрий х <i>Ae. cylindrica</i>)] х Tr-1] х Писанка	418	13	3,11 ± 0,85	11	2,63 ± 0,78	3
510	[F ₇ , лінія 309/106 х Tr-3] х Княгиня Ольга	571	10	1,75 ± 0,55	7	1,23 ± 0,46	3
513	[F ₅ , Селянка х лінія з рекомбінантним Glu-D1] х Вікторія	431	2	0,46 ± 0,33	1	0,23 ± 0,23	-
516	[F ₈ , Альбатрос х [(Обрий х <i>Ae. cylindrica</i>)] х Tr-1] х Вдала	399	0	0	0	0	-
519	[F ₅ , Куяльник х [(Ацтек Франція х амфіплоїд-синтетик ES6)] х Сирена	383	28	7,31 ± 1,33	0	0	-
522	[F ₉ , Селянка х Aligre Франція + варіант Gli/Glu] х Ластівка	371	4	1,08 ± 0,54	1	0,27 ± 0,27	1
525	[F ₈ , Альбатрос х [(Обрий х <i>Ae. cylindrica</i>)] х Tr-1] х Місія	454	6	1,32 ± 0,54	3	0,66 ± 0,38	2
528	[F ₈ , Альбатрос х [(Обрий х <i>Ae. cylindrica</i>)] х Tr-1] х Антонівка	194	0	0	0	0	-
531	[F ₈ , Альбатрос х [(Обрий х <i>Ae. cylindrica</i>)] х Tr-1] х Землянка	524	17	3,24 ± 0,77	14	2,67 ± 0,70	15
540	[F ₇ , Куяльник х Tr-5] х Княгиня Ольга	475	48	10,11 ± 1,38*	37	7,79 ± 1,23*	61

* - генотип з найбільшим показником в порівнюваних вибірках на рівні значущості $p < 0,05$

Аналізуючи результати досліджень п'яти гібридів (номери 507, 516, 525, 528, 531), які мають одну спільну материнську форму – [F₈, Альбатрос х [(Обрий х *Ae. cylindrica*)] х Tr-1] та різні батьківські, ми мали можливість оцінити вплив саме останніх на кількісні показники гаплопродукції. Показано (табл. 2), що сорти Писанка, Землячка та Місія (в меншій мірі) позитивно

впливали на досліджувані ознаки, тоді як гібриди із сортами Антонівка і Вдала взагалі виявились нечутливими до культури пиляків. Варто зазначити, що в цьогорічні умови повітряної та ґрунтової посухи дуже негативно вплинули на чутливість до андрогенезу *in vitro* самого сорту Антонівка та його гібридів, де він був за батьківську форму (табл. 1, 2).

Висновки

1. У культурі *in vitro* пиляків озимої м'якої пшениці отримано 333 зелених рослин-регенеранти.

2. У даних умовах експерименту три генотипи м'якої пшениці з 36 виявились не чутливими до андрогенезу *in vitro* – сорт Антонівка та дві гібридні комбінації 516 і 528. Найвищими показниками гаплопродукційної здатності (кількість новоутворень та кількість зелених рослин-регенерантів) характеризувались сорт Куяльник

(8,61 шт. та 9,43 шт. на 100 пиляків відповідно) та гібрид ([F₇, Куяльник х Tr-5] х Княгиня Ольга (10,11 шт. та 7,79 шт./ на 100 пиляків)).

3. Виявлений ефект негативного впливу на показники гаплопродукції *in vitro* у гібридів пшениці між двома сортами, що є потенційними «донорами гаплопродукції», підтверджує необхідність проведення обов'язкового тестування властивостей «донора» у конкретних комбінаціях схрещувань.

Література

- McIntosh R.A., Hart G.E., Devos K.M., Gale M.D., Rogers W.J. Catalogue of gene symbols for wheat // Proc. 9th Intern. Wheat Genetics Symp. – Saskatoon, Saskatchewan, Canada, 1998. – Vol. 5. – P. 123–145.

Таблиця 1. Ефективність гаплопродукційного процесу в культурі пиляків *in vitro* сортів та гібридів озимої м'якої пшениці

Генотип	Кількість пиляків в, шт.	Кількість новоутворень		Зелені рослини-регенеранти		Кількість регенерантів, що висаджені у ґрунт після яровизації, шт.
		шт.	шт./ на 100 пиляків	шт.	шт./ на 100 пиляків	
F ₁ Антонівка х Легенда Миронівська	1199	66	5,50 ± 0,66	39	3,25 ± 0,51	41
F ₁ Легенда Миронівська х Антонівка	1136	61	5,37 ± 0,67	17	1,50 ± 0,36	20
F ₁ Легенда Миронівська х Княгиня Ольга	924	47	5,09 ± 0,72	22	2,38 ± 0,50	28
F ₁ Княгиня Ольга х Легенда Миронівська	1115	14	1,26 ± 0,33	4	0,36 ± 0,18	5
F ₁ Княгиня Ольга х Антонівка	469	1	0,21 ± 0,21	1	0,21 ± 0,21	1
F ₁ Антонівка х Княгиня Ольга	335	7	2,09 ± 0,78	4	1,19 ± 0,59	5
F ₁ (Калинова х Годувальниця) х Легенда Миронівська	624	10	1,60 ± 0,50	9	1,44 ± 0,48	9
F ₁ (Калинова х Годувальниця) х Годувальниця	493	2	0,41 ± 0,29	3	0,61 ± 0,35	1
F ₁ (Колос Миронівщини х Годувальниця) х Годувальниця	735	9	1,22 ± 0,41	10	1,36 ± 0,43	5
F ₁ (Колос Миронівщини х Годувальниця) х Легенда Миронівська	644	28	4,35 ± 0,80	19	2,95 ± 0,67	19
F ₁ (Колос Миронівщини х Дальницька) х Дальницька	457	26	5,69 ± 1,08	21	4,60 ± 0,98	26
F ₁ (Колос Миронівщини х Дальницька) х Легенда Мир	460	5	1,09 ± 0,48	0	0,00	0
F ₁ (Куяльник х Княгиня Ольга) х Куяльник	527	19	3,61 ± 0,81	17	3,23 ± 0,77	14
F ₁ (Куяльник х Княгиня Ольга) х Княгиня Ольга	589	35	5,94 ± 0,97	30	5,09 ± 0,91	31
F ₁ (Куяльник х Золотоколоса) х Куяльник	332	7	2,11 ± 0,79	3	0,90 ± 0,52	1
F ₁ (Куяльник х Золотоколоса) х Золотоколоса	378	13	3,44 ± 0,94	4	1,06 ± 0,53	3
Легенда Миронівська	503	13	2,58 ± 0,71	4	0,80 ± 0,40	2
Калинова	319	1	0,31 ± 0,31	0	0,00	0
Колос Миронівщини	401	10	2,49 ± 0,78	3	0,75 ± 0,43	0
Княгиня Ольга	377	8	2,12 ± 0,74	1	0,27 ± 0,26	0
Золотоколоса	410	33	8,05 ± 1,34*	5	1,22 ± 0,54	8
Куяльник	244	21	8,61 ± 1,80*	23	9,43* ± 1,87	16
Годувальниця	662	6	0,91 ± 0,37	3	0,45 ± 0,26	5
Дальницька	477	4	0,84 ± 0,42	4	0,84 ± 0,42	8
Антонівка	304	0	0	0	0	0

* - генотип з найбільшим показником в порівнюваних вибірках на рівні значущості p<0,05

2. Собко Т.А., Хохлов А.Н. Изучение селекционной ценности пшенично-ржаной транслокации 1AL-1RS сорта озимой мягкой пшеницы Amigo // Тез. докл. межд. конф. «Агробиотехнология растений и животных». – Киев, 1997. – С. 71–72.
3. Graybosch R.A., Peterson C.J., Hansen L.E., Worrall D., Shelton D.R. Comparative flour quality and protein characteristics of 1BL/1RS and 1AL-1RS wheat-rye translocation lines // J. Cereal Sci. – 1993. – Vol. 17. – P. 95–106.
4. Лобанова К.І., Шестопап О.Л., Ігнатова С.О. Абсцизова кислота як екзогенний фактор підвищення регенераційного потенціалу в культурі пиляків м'якої пшениці // Вісник Харків. націон. аграрного ун-ту. – 2007. – Вип. 1 (10). – С. 102-110.
5. Пат. 21988 України МПК (2006) А01Н1/06 Спосіб підвищення регенераційного потенціалу в культурі пиляків озимої м'якої пшениці / Ігнатова С. О., Лобанова К. І., Шестопап О. Л.; заявник і патентовласник Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН. – № у 200611658; заявка 6.11.06 ; опубл. 10.04.07, Бюл. № 4.
6. Ігнатова С.О., Жосонар М.В., Лобанова К.І., Шестопап О.Л. Отримання подвоєних гаплоїдів м'якої пшениці в культурі пиляків. Методичні рекомендації / Півден. біотехнолог. центр в рослин-ві УААН. – Одеса, 2008. – 12 с.
7. Лобанова К.І., Жосонар М.В., Ігнатова С.О. Шляхи реалізації регенераційного потенціалу в культурі пиляків у різних генотипів озимої м'якої пшениці // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. – 2006. – Т. 4, №1. – С. 52-57.
8. Martinez Garcia C., Martin Sanchez J.A., Sin Casas E. Plant regeneration from anther culture in six hexaploid triticales varieties and their F₁ hybrids // In: Livre des Resume de Posters. Book of Poster Abstracts. XIIIth EUCARPIA Congress. – Angers-France, 1992. – P. 189–190.
9. Chu C.C., Hill R.D. An improved anther culture method for obtaining higher frequency of pollen embryooids in *Triticum aestivum* L. // Plant Sci. – 1988. – Vol. 55. – P. 175–181.
10. Ігнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*: [монография] – Одесса: Астропринт, 2011. – 224 с.

SHESTOPAL O.L., ZAMBRIBORSHCH I.S., TOPAL N.N., LYTVINENKO N.A., IGNATOVA S.O.
Plant Breeding & Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation
Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopolskaya road 3, e-mail: oksana_shestopal@mail.ru

INVESTIGATION OF HAPLOID PRODUCTION ABILITY OF SOFT WHEAT WITH WHEAT-RYE TRANSLOCATION

Aims. Testing haploproduction ability of soft winter wheat and obtaining their lines by *in vitro* anther culture. **Methods.** Obtaining of wheat double haploid lines by anther culture *in vitro*. The statistical methods. **Results.** The 333 pcs. green plant-regenerants were obtained by anther culture from 27 F₁ hybrid populations and 9 varieties of winter wheat which were granted the Department of selection and seed wheat of Plant Breeding & Genetics Institute. **Conclusions.** In these experimental conditions, sensitivity to androgenesis in 33 among 36 wheat genotypes have been detected. The lower figures of haploid production of wheat hybrids than these figures in parental varieties that are potential "donors haploid production" was obtained. This fact confirms the need for obligatory testing properties "donor" in certain combinations of crosses.
Key words: soft wheat with wheat-rye translocation, anther culture *in vitro*, double haploid, hybrids.

ЩЕРБАК Н.Л.¹, КУРЧЕНКО И.Н.², ЮРЬЕВА Е.М.², КУЧУК Н.В.¹

¹*Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины*
Украина, 03680, Киев, ул. Академика Заболотного, 148, e-mail: natasha@iicb.kiev.ua

²*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины*
Украина, Д 03680, Киев, ГСП, ул. Академика Заболотного, 154

ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ И САЛАТА, НЕСУЩИХ ГЕН СЛАДКОГО БЕЛКА ТАУМАТИНА II

В течение долгого времени было принято считать, что сладкий вкус для человека ассоциируется с присутствием сахаров, так как рецепторы сладкого вкуса реагируют на присутствие моносахаров (глюкозы), дисахаров (сахарозы),

хотя подобные вкусовые ощущения вызывают также заменители сахара сахарин и аспартам, а так же полиолы – сорбит, ксилит. В то же время относительно недавно были открыты белковые молекулы, которые благодаря взаимодействию с