

УДК 633.16:575.224.234

**ВИКОРИСТАННЯ МОДИФІКОВАНОГО КРОХМАЛЮ
ЯК ГЕЛЕУТВОРЮЮЧОГО КОМПОНЕНТА ШТУЧНИХ
ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ІНДУКЦІЇ
НОВОУТВОРЕНЬ І РЕГЕНЕРАЦІЇ РОСЛИН
У КУЛЬТУРІ ПИЛЯКІВ IN VITRO
ЯРОГО ЯЧМЕНЮ**

© 2008 р. О. В. Білінська¹, П. Г. Дульнєв²

¹*Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва*

Української академії аграрних наук

(Харків, Україна)

²*Науково-інженерний центр «АКСО» Інституту біоорганічної хімії і нафтохімії*

Національної академії наук України

(Київ, Україна)

Проведено визначення ефективності заміни агар-агару хімічно модифікованим крохмалем Д-2 у середовищах для індукції андрогенних структур і регенерації рослин у культурі пиляків in vitro ярого ячменю. Підтверджено дані щодо позитивного впливу модифікованого крохмалю на процес формування ембріодів. Виявлено генотипні відмінності у реакції на гелеутворюючі речовини у складі індукційного і регенераційного середовищ. У генотипу з низькою здатністю до андрогенезу in vitro істотно вищий вихід зелених рослин-регенерантів отримано при заміні агар-агару на модифікований крохмаль у середовищі для регенерації рослин.

Ключові слова: *Hordeum vulgare L., культура пиляків in vitro, живильне середовище, агар-агар, модифікований крохмаль, індукція новоутворень, регенерація рослин*

Культура пиляків in vitro належить до найбільш поширених і ефективних методів експериментальної гаплоїдії [4, 12, 14]. Значний інтерес для практичної селекції становить не лише можливість одержання гомозиготних ліній на основі гібридів першого або другого покоління, за рахунок чого досягається істотне прискорення селекційного процесу, але й надійність оцінки матеріалу при зменшенні трудових затрат. Впродовж останнього десятиріччя лінії подвоєних гаплоїдів привертають все більшу увагу як зручний об'єкт для QTL-аналізу [21] і маркерної селекції [11].

Загальною схемою одержання андрогенних гаплоїдів передбачається культивування пиляків на штучному живильному середовищі з

метою індукції аномального багаторазового поділу гаплоїдних мікроспор з утворенням калюсу чи ембріодів, з яких формуються рослини-регенеранти.

Як правило, процес відбувається у два етапи при застосуванні двох типів середовищ: індукційного, яке містить комплекс фізіологічно активних речовин, що стимулюють дедиференціацію мікроспор і подальший калусо- і ембріодогенез, і регенераційного, склад якого сприяє регенерації рослин з перенесених на нього новоутворень мікроспоріального походження. При цьому найбільш швидким і економічно привабливим шляхом отримання гаплоїдів вважається ембріодогенез – формування біполярних структур із синхронним розвитком апексів кореня і стебла, безпосередньо із багатоклітинних ендоспоріальних комплексів (прямий ембріодогенез) чи ембріогенного калюсу (непрямий ембріодогенез) [1].

Адреса для кореспонденції: Білінська Олена Володимирівна, Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН, пр. Московський, 142, Харків, 61060, Україна;
e-mail: bilinska@ukr.net

Слід зазначити, що цей тип морфогенезу через високу регенераційну здатність ембріодів, які можуть утворюватися і проростати на індукційному середовищі [5, 18, 20], дозволяє отримувати андрогенні гаплоїди навіть без пересадки новоутворень на регенераційне середовище, що істотно зменшує трудомісткість і сприяє економії матеріалів. Саме тому стимулювання ембріодогенезу було і залишається основною метою досліджень з удосконалення технологій гаплоїдної індукції [7, 20, 15].

Ця мета, як свідчать чисельні літературні дані, досягається значною мірою за рахунок оптимізації штучних живильних середовищ за складом стимуляторів росту та інших фізіологічно активних і трофічних компонентів [17, 18, 20]. Окрім цього, встановлено вплив на процеси індукції новоутворень і регенерації рослин у культурі пиляків *in vitro* ячменю гелеутворюючих речовин штучного живильного середовища [16, 22]. Зокрема, експериментально доведено, що використання як гелеутворюючого компонента живильного середовища для культивування пиляків *in vitro* ярого ячменю хімічно модифікованого крохмалю ДККмод замість агар-агару збільшувало частоту регенерації рослин за рахунок індукції прямого ембріодогенезу [3].

Оскільки для багатьох генотипів ячменю характерним є низький рівень регенерації рослин на тлі досить високої частоти індукції новоутворень, представлених в основному калюсом [5, 10], заслуговує на увагу питання щодо можливості збільшення регенераційного потенціалу пилякової культури за рахунок заміни агар-агару не лише в індукційному, а й у регенераційному середовищі.

Метою цього дослідження була оцінка морфогенетичного ефекту хімічно модифікованого крохмалю Д-2 при його використанні як заміника агар-агару у середовищах для індукції новоутворень і регенерації рослин. Вихідним при розробці схеми дослідження було припущення щодо стимулювання розвитку ембріодів з глобул та ембріогенного калюсу на регенераційному середовищі з крохмалем. Порівняльне вивчення ефективності заміни агар-агару на модифікований крохмаль у двох типах середовищ проведено вперше.

МЕТОДИКА

У дослідженнях було використано сорти ярого ячменю Екзотик і Фенікс селекції Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва та лінію по-

двоєних гаплоїдів ДГ00-126, створену нами методом культури пиляків *in vitro* на основі гібрида F₁ сортів Екзотик і Харківський 74.

Згадані вище генотипи характеризуються контрастною здатністю до андрогенезу *in vitro*, яка була визначена на основі аналізу багаторічних даних [2]. Зокрема, сорт Фенікс мав низьку здатність до утворення андрогенних структур і рослин-регенерантів. Сорту Екзотик були притаманні високий вихід новоутворень і низька частота регенерації зелених рослин, а лінії ДГ00-126 – високий рівень усіх показників гаплопродукції з переважанням серед регенерантів нормально пігментованих рослин.

Рослини для отримання культури пиляків *in vitro* вирощували на дослідній ділянці (посів ручною саджалкою, відстань між рядками – 15, між рослинами – 5 см). Дослідження проведено у 2007 р.

Добирали колосся, яке містило пиляки з мікроспорами у середній та пізній фазах розвитку [23]. Цитологічний аналіз з визначення фази розвитку мікроспор проводили за допомогою мікроскопа МБИ-11 на тимчасових препаратах пиляків, забарвлених ацетокарміном, за стандартною методикою [8].

Попередню обробку колосся проводили, вмщуючи пагони у воду і витримуючи їх впродовж 5-6 діб за температури + 4°C у холодильнику. Асептичну культуру пиляків отримували за власною методикою [5].

Схемою дослідження передбачалося використання для індукції новоутворень і регенерації рослин середовищ з агар-агаром (контроль); середовища для індукції новоутворень з модифікованим крохмалем і середовища для регенерації рослин з агар-агаром (1-й дослідний варіант); середовища для індукції новоутворень з агар-агаром і середовища для регенерації рослин з модифікованим крохмалем заміником агар-агару (2-й дослідний варіант).

Як контроль було використане розроблене нами для культивування пиляків ярого ячменю середовище NMSмод.2, яке містило макроелементи середовища N6 [13], мікроелементи середовища MS [19] і такі компоненти в мг/л: 2,4-Д – 2 (2,4-дихлорфеноксіоцтова кислота); БАП (бензиламінопурін) – 0,5; В₁ – 1; В₆ і РР – по 0,5; гліцин – 2; аланін і пролін – 100; глутамін – 200; лактальбумін – 300; міо-інозитол – 100; а також мальтозу – 90 г/л; картопляний екстракт – 20 %; крохмаль – 10 г/л; агар-агар – 0,76 %.

ВИКОРИСТАННЯ МОДИФІКОВАНОГО КРОХМАЛЮ

Новоутворення – калус і ембріоїди – пересаджували на регенераційне живильне середовище Р: мінеральна основа MS, вітаміни В₁, В₆ і РР – по 0,5 мг/л; глютамін, міо-інозитол по – 100 мг/л; сахароза – 30 г/л; агар-агар – 0,80 %.

У відповідних дослідних варіантах індукційного і регенераційного середовищ агар-агар було замінено на хімічно модифікований крохмаль Д-2 [6], одержаний у Науково-інженерному центрі «АКСО» Інституту біоорганічної хімії і нафтохімії НАНУ. Концентрація цієї речовини у середовищах становила 120 г/л.

Пробірки з висадженими на штучне живильне середовище пиляками вміщували у термостат й інкубували за температури 24°C впродовж 30–35 діб. Регенерацію проводили при освітленні 4-5 клк, фотоперіоді 16 год, температурі 22–24°C.

Спостереження проводили, починаючи з 20-ї доби культивування пиляків *in vitro*. При цьому підраховували пиляки, на поверхні яких утворилася принаймні одна макроструктура (калус, ембріоїд), ембріоїди і рослини-регенеранти як на індукційному, так і на регенераційному середовищі.

Ефективність експериментального андрогенезу *in vitro* оцінювалася за такими показниками (у відсотках від кількості культивованих пиляків):

- кількість пиляків з новоутвореннями;
- кількість ембріоїдів;
- кількість рослин-регенерантів (зелених, хлорофілдефектних, всього);
- кількість зелених рослин (у відсотках від кількості пиляків з новоутвореннями).

Експериментальні дані оброблено за допомогою дисперсійного аналізу [9].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Використаний як замітник агар-агару хімічно модифікований крохмаль Д-2 являє собою аналог дослідженого нами раніше ДККмод. [3, 6]. Тому цілком природно, що були виявлені спільні для обох речовин особливості гелеутворення і морфогенетичний ефект. Зокрема, гель, отриманий з хімічно модифікованого крохмалю Д-2, був білого кольору, непрозорий, на відміну від гелю з агар-агару, більш щільної консистенції. Оптимальна концентрація – 120 г/л.

Спостереження за динамікою формування андрогенних структур на середовищах для культивування пиляків (індукційних середовищах), які містили модифікований крохмаль Д-2 і агар-агар, показали, що у лінії ДГ00-126 і сорту Екзотик, генотипів з високою здатністю до андрогенезу *in vitro*, поява перших новоутворень відбувалася одночасно на обох середовищах, тобто приблизно через 20-25 діб від моменту інокуляції пиляків на штучне живильне середовище. У сорту Фенікс, якому притаманний низький рівень прояву зазначеної ознаки, андрогенні структури на середовищі, яке містило модифікований крохмаль Д-2, формувалися на 10–15 діб пізніше, ніж на середовищі з агар-агаром.

Слід зазначити, що у останнього генотипу ріст і розвиток новоутворень був істотно уповільнений порівняно з лінією ДГ00-126 і сортом Екзотик в обох варіантах індукційного середовища, що призвело до збільшення часового інтервалу від інокуляції пиляків на індукційне середовище до пересадки отриманих новоутворень на середовище для регенерації рослин. Зокрема, пересадку новоутворень у лінії ДГ00-126 було розпочато через 31–39 діб після початку культивування пиляків, в той час як перші новоутворення у сорту Фенікс з контрольного середовища було пересаджено через 61–66 діб.

Як і в раніше проведеному експерименті з вивчення морфогенетичного ефекту хімічно модифікованого крохмалю [3], спостерігалися відмінності за морфологією андрогенних структур, сформованих на крохмаль- і агаровмісному середовищах. Так, на середовищі, яке містило замітник агар-агару, новоутворення мали вигляд дрібних глобулярних структур (0,5–1мм) з помітно зниженою ростовою активністю. Але саме з них формувалися ембріоїди, як на індукційному, так на регенераційних середовищах з обома гелеутворюючими сполуками.

На індукційному середовищі з агар-агаром, поряд з формуванням ембріоїдів, відбувалося перетворення більшості глобулярних структур на калус, який характеризувався високою інтенсивністю росту і низькою здатністю до регенерації.

Результати досліджень (таблиця) підтвердили дані щодо зниження інтенсивності індукції новоутворень у культурі пиляків *in vitro* під дією модифікованого крохмалю [3]. Зокрема, в усіх трьох генотипів, залучених до експерименту, виявлено зменшення кількості пиляків з

Використання модифікованого крохмалю Д-2 як заміника агар-агару у середовищах для індукції новоутворень і регенерації рослин у культурі пиляків *in vitro* ярого ячменю (2007 р.)

Назва сорту, лінії, середовища	Висаджено пиляків, шт.	О д е р ж а н о										
		пиляків з новоутвореннями		ембріодів		зелених рослин			рослин-альбіносів		рослин-регенерантів, всього	
		шт.	%	шт.	%	шт.	% ¹	% ²	шт.	%	шт.	%
Екзотик												
NMSмод.2+P (контроль)	281	117	41,64	66	23,49	9	3,20	7,69	51	18,15	60	21,35
NMSД ₂ *+P (1-й варіант)	315	104	33,02	120	38,10	13	4,13	12,50	100	31,75	113	35,87
NMSмод.2+PД ₂ * (2-й варіант)	341	160	46,92	109	31,96	14	4,11	8,75	104	30,50	118	34,60
НІР ₀₅			7,51		7,25		–	–		6,94		7,21
Фенікс												
NMSмод.2+P (контроль)	428	30	7,00	23	5,37	5	1,69	16,67	16	3,74	21	4,91
NMSД ₂ +P (1-й варіант)	316	7	2,22	13	4,11	1	0,32	14,29	9	2,85	10	3,16
NMSмод.2+PД ₂ (2-й варіант)	357	22	6,16	26	7,28	20	5,60	90,91	13	3,64	33	9,24
НІР ₀₅			3,25		–		2,18	22,33		–		3,37
ДГ00-126												
NMSмод.2+P (контроль)	425	183	43,06	177	41,64	133	31,29	72,68	67	15,76	200	47,05
NMSД ₂ +P (1-й варіант)	329	102	31,00	245	74,46	128	38,90	125,49	91	27,66	219	66,57
NMSмод.2+PД ₂ (2-й варіант)	430	183	42,56	273	63,48	131	30,46	71,58	110	25,58	241	56,04
НІР ₀₅			6,80		6,62		6,56	6,60		5,81		6,86

Примітка. *Середовища NMSД₂ і PД₂ замість агар-агару містили модифікований крохмаль Д-2 у концентрації 120 г/л. %¹ – кількість зелених рослин-регенерантів у відсотках від загальної кількості культивованих пиляків; %² – кількість зелених рослин регенерантів у відсотках від кількості ембріогенних пиляків.

ВИКОРИСТАННЯ МОДИФІКОВАНОГО КРОХМАЛЮ

новоутвореннями на індукційному середовищі, яке містило модифікований крохмаль Д-2 (1-й дослідний варіант). Разом з тим, заміна агар-агару на модифікований крохмаль в цілому сприяла збільшенню регенераційного потенціалу пилякової культури культури за рахунок стимулювання ембріодогенезу. Як і в проведених раніше дослідженнях [3], виявлено наявність генотипних відмінностей за реакцією на гелеутворюючі речовини штучного живильного середовища. Так, у сорту Екзотик, якому притаманна висока частота індукції новоутворень і низька регенераційна здатність щодо зелених рослин, не вдалося істотно підвищити останній показник за рахунок заміни агар-агару ні в індукційному, ні в регенераційному середовищі, хоча цей методичний прийом було застосовано для збільшення виходу гаплоїдів саме у таких генотипів. Водночас на регенераційному середовищі, яке містило заміник агар-агару Д-2, мало місце уповільнення росту калюсу порівняно з контролем, а також утворення з глобул і на поверхні ембріогенного калюсу ембріодів та їх проростання, яке призводило, однак, до збільшення лише кількості рослин-альбіносів.

У лінії ДГ00-126, якій властиві висока частота індукції новоутворень з переважанням серед них ембріодів і висока частота регенерації зелених рослин, істотного зростання виходу зелених рослин було досягнуто за застосування замінника агару Д-2 у середовищі для індукції новоутворень і агар-агару у регенераційному середовищі (1-й дослідний варіант), що відповідає раніше отриманим результатам [3]. Саме у цьому варіанті досліді було отримано найбільшу кількість ембріодів – 66,57 % від загальної кількості пиляків – і найвищу частоту регенерації рослин від кількості ембріогенних пиляків – 125,49 %, тобто вирішальне значення мало формування ембріодів і глобул на індукційному середовищі з модифікованим крохмалем Д-2.

Застосування крохмалю Д-2 у складі регенераційного середовища у лінії ДГ00-126 не призвело до зростання частоти регенерації зелених рослин відносно культивованих та ембріогенних пиляків, в той же час порівняно з контролем збільшилася кількість ембріодів. Як і у сорту Екзотик, це призвело лише до підвищення частоти регенерації хлорофілдефектних рослин і за рахунок цього – загальної частоти регенерації.

Що стосується сорту Фенікс, який характеризувався низьким рівнем обох показників

культурабельності, то у цього генотипу частота регенерації зелених рослин досягла найвищого значення – 5,60 % при 1,69 % у контролі – за заміни агар-агару на модифікований крохмаль Д2 у середовищі для регенерації рослин (2-й дослідний варіант).

Спостереження показали, що при пересадженні новоутворень, які було отримано на агаровмісному індукційному середовищі, мало місце уповільнення росту калюсу і стимулювання ембріодогенезу, що і стало причиною зростання виходу нормально пігментованих рослин регенерантів, адже сорт Фенікс, на відміну від Екзотика, не мав генетично детермінованої здатності до переважання серед регенерантів альбіносів.

Хімічно модифіковані крохмалі вперше було застосовано у біотехнології овочевих культур з метою зменшення ступеня вітрифікації рослин-регенерантів [6]. Пізніше в наших дослідженнях було підтверджено позитивний ефект модифікованого крохмалю ДККмод на морфологію і життєздатність рослин-регенерантів, отриманих у культурі пиляків *in vitro* ярого ячменю, в разі застосування цієї сполуки у складі індукційного живильного середовища [3].

Як свідчать результати порівняльної оцінки ефективності заміни агар-агару на модифікований крохмаль Д-2 в індукційному і регенераційному середовищах, цей методичний прийом також сприяв поліпшенню рослин-регенерантів за морфологічними ознаками і життєздатністю, але більшою мірою ефект зниження частки вітрифікованих рослин виявлявся, коли Д-2 було застосовано в індукційному живильному середовищі.

Таким чином, аналізуючи дані цього експерименту, можна зробити висновок щодо позитивного впливу нового замінника агар-агару Д-2 на процес ембріодогенезу, а отже і регенерації рослин у культурі пиляків *in vitro* ярого ячменю за застосування у складі індукційного та регенераційного середовищ. Разом з тим, використані у дослідженнях генотипи повною мірою зберегли притаманні їм особливості морфогенезу у культурі пиляків *in vitro*, що, на нашу думку, є основною причиною неоднозначного ефекту заміни агар-агару на модифікований крохмаль Д-2.

На найбільшу увагу, безперечно, заслуговують дані щодо зростання кількості нормально пігментованих рослин у генотипу з низькою здатністю до андрогенезу *in vitro* за рахунок

введення до складу регенераційного середовища модифіковано крохмалю, що і визначає перспективність подальших досліджень з оптимізації складу штучних живильних середовищ для культури пиляків *in vitro* ячменю та інших видів за гелеутворюючими компонентами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Батыгина Т.Б. Хлебное зерно. – Л.: Наука, 1987. – 103 с.
2. Белинская Е.В. Признаковая коллекция ячменя по способности к андрогенезу *in vitro* // Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке: состояние, проблемы, перспективы. Мат-лы II Вавиловской конф. (26-30 ноября 2007 г.). – СПб.: ВИР, 2007. – С. 239-241.
3. Белинская Е.В., Дульнев П.Г. Модифицированный крахмал как компонент питательной среды для получения гаплоидов ячменя в культуре пыльников *in vitro* // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39, № 2. – С. 136-143.
4. Білінська О.В. Культура пиляків *in vitro* як метод одержання вихідного матеріалу в селекції ячменю // Теоретичні основи селекції польових культур: Збірн. наук. праць. – Х.: ІР ім. В.Я. Юр'єва УААН, 2007. – С. 174-186.
5. Білінська О.В. Генотипові особливості індукції гаплоїдів ячменю (*H. vulgare* L.) методом культури пиляків *in vitro*: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Х., 1997. – 19 с.
6. Деклараційний патент на винахід 52031, Україна, МПК 7, C08B31/02, A01N57/00, A01N59/00, A01C1/06. Спосіб отримання полімерних матеріалів / Дульнев П.Г., Кондратенко С.І., Чернишенко Т.В. та ін. – Опубл. 16.12.02, Бюл. № 12.
7. Круглова Н.Н. Морфогенез в культурі пшениць: ембріологічний підхід. – Уфа: Гилем, 2001. – 203 с.
8. Паушева З.П. Практикум по цитології рослин. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
9. Плохинский Н.А. Биометрия. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1964. – 367 с.
10. Шепель Л.С., Махновская М.Л., Игнатова С.А. Морфогенез в культурі пшениць ярового ячменя // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2005. – Вип. 1. – С. 75-80.
11. Barr A.B., Jefferies S.P., Warner P. et al. Marker assisted selection in theory and practice // Barley Genetics III. Proc. 8th International Barley Genetics Symposium (22-27 October 2000). – Adelaide, 2000. – P. 167-178.
12. Choo T. M., Reinbergs E., Kasha K.J. Use of haploids in breeding barley // Plant breeding review. – 1985. – V. 3. – P. 219-252.
13. Chu C.-C. The N6 medium and its application to anther culture of cereal crops // Plant Tissue Culture: Proc. Symp. – Peking: Science Press, 1978. – P. 43-45.
14. Foster B.P., Powell W. Haploidy in barley // Opportunities and problems in plant biotechnology / Powell W., Hillman J.M. (Eds.). – Washington: Washington State University, 1998. – P. 99-115.
15. Kasha K.J., Simion E., Oro R. et al. An improved *in vitro* technique for microspore culture of barley // Euphytica. – 2000. – V. 120, № 3. – P. 319-385.
16. Kohlenbach H.W., Wernike W. Investigation on the inhibitory effect of agar and the function of active carbon in anther culture // Ztsch. Pflanzenphysiol. – 1978. – V. 86, № 5. – P. 463-472.
17. Liu W., Zheng Y., Polle E., Konzak C.F. Highly efficient doubled-haploid production in wheat (*Triticum aestivum* L.) via induced microspore embryogenesis // Crop Sci. – 2002. – V. 42, № 3. – P. 686-692.
18. Manninen O. Optimizing anther culture for barley breeding // Agricultural and Food Science in Finland. – 1998. – V. 6. – P. 389-398.
19. Murashige T., Skoog F. A revised medium for growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – V. 15. – P. 473-497.
20. Olsen F.L. Induction of microspore embryogenesis in cultured anthers of *Hordeum vulgare* L. The effect of ammonium nitrate, glutamine and asparagine as nitrogen sources // Carlsberg Research Communications. – 1987. – V. 52. – P. 393-404.
21. Sarrafî A. Genetic control for embryo and haploid production and potential use of doubled haploid lines for QTLs in Cereals // Haploids in Higher Plants III: Abstracts of International Conference. – Vienna, 2006. – P. 28.
22. Sorvari S. The effect of starch gelatinized nutrient media in barley anther culture // Annales Agr. Fennic. – 1986. – V. 25. – P. 127-133.
23. Wheatley W.G., Marsolais A.A., Kasha K.J. Microspore growth and anther staging in barley anther culture // Plant Cell Reports. – 1986. – V. 5, № 1. – P. 47-49.

Надійшла до редакції
28.02.2008 р.

ВИКОРИСТАННЯ МОДИФІКОВАНОГО КРОХМАЛЮ

USE OF MODIFIED STARCH AS A GELETINIZED COMPONENT OF NUTRIENT MEDIA FOR NEW FORMATION INDUCTION AND PLANT REGENERATION IN BARLEY ANTHER CULTURE IN VITRO

E. V. Bilynska¹, P. G. Dulnyev²

¹*Yujev Plant Production Institute of Ukrainian Academy of Agrarian Sciences
(Kharkiv, Ukraine)*

²*Scientific Engineering Center "AKSO", Institute of bioorganic and oil chemistry,
National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)*

The efficiency of agar-agar replacement by chemically modified starch D-2 in the inductive and regenerative media for spring barley anther culture in vitro has been investigated. Data concerning positive effect of modified starch on the process of embriod formation have been proved. There have been revealed the genotypic differences in the reaction to gelatinized substances in the composition of media for new formation induction and plant regeneration. Higher yield of green plants in genotype possessing a low androgenetic capacity has been achieved via agar substitution by chemically modified starch in plant regeneration medium.

Key words: *Hordeum vulgare L., anther culture in vitro, nutrient media, agar-agar, modified starch, new formation induction, plant regeneration*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО КРАХМАЛА КАК ГЕЛЕОБРАЗУЮЩЕГО КОМПОНЕНТА ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ИНДУКЦИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ И РЕГЕНЕРАЦИИ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ IN VITRO ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

Е. В. Белинская¹, П. Г. Дульнев²

¹*Институт растениеводства им. В. Я. Юрьева Украинской академии аграрных наук
(Харьков, Украина)*

²*Научно-инженерный центр «АКСО» Института биорганической химии и нефтехимии
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)*

Проведено определение эффективности замены агар-агара химически модифицированным крахмалом Д-2 в средах для индукции новообразований и регенерации растений в культуре пыльников in vitro ярового ячменя. Подтверждены данные о положительном влиянии модифицированного крахмала на процесс формирования эмбрионов. Выявлены генотипические различия в реакции на гелеобразующие вещества в составе индукционной и регенерационной питательных сред. У генотипа с низкой способностью к андрогенезу in vitro выход зеленых растений-регенерантов был выше при замене агар-агара модифицированным крахмалом в среде для регенерации растений.

Ключевые слова: *Hordeum vulgare L., культура пыльников in vitro, питательные среды, агар-агар, модифицированный крахмал, индукция новообразований, регенерация растений*