
ОТРИМАННЯ ГАПЛОЇДІВ ТА ДИГАПЛОЇДІВ РІПАКА (BRASSICA NAPUS L.) IN VITRO

О. Л. КЛЯЧЕНКО, професор, доктор сільськогосподарських наук
Національний університет біоресурсів і природокористування
України

ORCID 0000-0002-4087-4082,

E-mail: Klyachenko@ukr.net

Анотація. У селекційно-генетичних дослідженнях сільськогосподарських культур застосування методів експериментальної гаплоїдії пов'язано з можливістю отримання гомозиготного константного матеріалу за одну генерацію, тоді як у традиційній селекції необхідно проводити декілька поколінь інбридингу впродовж 6-8 років. Підібрано та застосовано ступінчасту передобробку ізольованих бутонів зниженими (+4 °C упродовж 36 год) і підвищеними температурами (+22 °C упродовж 21 доби та +30 °C – 10, 14, 21 діб), що уможливило завершення процесу диференціації. Показано, що для індукції ембріогенного розвитку незалежно від генотипу оптимальною виявилася температура +30 °C за тривалості культивування впродовж 21 доби. Водночас регенераційна здатність отриманих ембріоїдів зумовлювалась вихідним генотипом. Одержані укорінені гаплоїдні рослини-регенеранти з нормальною гео- і фототропічною реакцією переводили на диплоїдний рівень ($2n = 38$) за допомогою дії водного розчину 0,1 % колхіцину на кореневу систему за експозиції 4 год. На основі одержаних методом культури пилку *in vitro* дигаплоїдів нами в співавторстві були вперше в Україні створені ранньостиглий сорт ріпака озимого Антарія та середньостиглий сорт ріпака ярого Аіра.

Ключові слова: ріпак озимий та ярий, гаплоїди, калюс, рослина-регенерант

Вступ. Створення нових сортів і гібридів ріпака озимого та ярого залежить від генетичної різноманітності вихідного матеріалу, який можна створювати за допомогою методів біотехнології. Одним із них є метод гаплоїдії *in vitro* з послідовним подвоєнням числа хромосом через колхіцинування (Бочкарева и др., 2019). Пріоритетним напрямом у сучасній інноваційній біотехнології рослин є метод андроклинної гаплоїдії, який полягає в реалізації тотипотентності клітин до регенерації рослин із мікроспор і пилових зерен через утворення різних типів структур: глобул, ембріоїдів, поліембріоїдів, морфогенних і неморфогенних калюсів (Жамбакин и др., 2012; Сорока, 2015). За-

мом у сучасній інноваційній біотехнології рослин є метод андроклинної гаплоїдії, який полягає в реалізації тотипотентності клітин до регенерації рослин із мікроспор і пилових зерен через утворення різних типів структур: глобул, ембріоїдів, поліембріоїдів, морфогенних і неморфогенних калюсів (Жамбакин и др., 2012; Сорока, 2015). За-

стосування одержаних клонів полегшує відбір фенотипів за якісними та кількісними ознаками, дає можливість діставати гомозиготні константні гаплоїдні сорти й гібриди, які зберігають у генотипі господарсько-цінні ознаки вихідних форм та прискорювати оцінку їхньої перспективності (Белинская, 2007; Сатарова та ін., 2013; Seguí-Simarro, Nuez, 2007). Метод експериментальної гаплоїдії дає можливість пришвидшити створення гомозиготних ліній порівняно з традиційною селекцією в 5-6 разів (Rahman, Michalak de Jiménez, 2016; Shamekova et al., 2015). Одержання гаплоїдних рослин, ініційоване через культуру пиляків, описано для більш ніж 240 видів 85 родів і 38 родин однодольних і дводольних (Бутенко, 1999; Белинская, 2007; Mandal, 2008; Gu et al., 2014; Kiszczak et al., 2017; Ілюшко и др., 2018; Зонтиков и др., 2020). У ріпака й різних видах капусти цей метод широко застосовують під час селекції на стійкість до хвороб та в гетерозисній селекції (Карпачев, Пастухов, 2017).

Унікальність ріпака полягає в його здатності до прямого пилкового ембріоїдогенезу в культурі пиляків *in vitro* і вторинного ембріоїдогенезу, високій регенераційній здатності, відсутності альбінізму в гаплоїдів. Це зумовлено перманентною гетерозиготністю цієї культури, як природного амфідиплоїда, і пов'язаного з нею міжгеномного гетерозису, що призводить до підвищеної життєздатності ембріоїдів і збільшення виходу гаплоїдів (Грищенко, 2001; Mandal, 2008).

Технологія отримання подвоєних гаплоїдів (DH (double haploid)-технології) застосовуючи культуру пиляків або мікроспор *in vitro* – один зі шляхів генетичного покра-

щення сільськогосподарських рослин (Шмыкова и др., 2015). Гомозиготні подвоєні гаплоїди використовують для отримання гібридів ріпака, стабілізації вже існуючих та створення нових сортів, а також виявлення унікальних генотипів, які виникають у результаті рекомбінації генів батьківських форм (Asif, 2013). Підвищення частоти регенерації і вищий вихід подвоєних гаплоїдів спостерігаються за обробки мікроспор колхіцином іще на стадії культивування *in vitro*. Такий захід призводить до підвищення частоти ембріоїдогенезу і подвоєння хромосом у 84-88 % регеноерованих рослин ріпака озимого (Zhou, 2002; Zhou, 2002).

Мета роботи – отримання гаплоїдів та дигаплоїдів ріпака озимого та ярого *in vitro* і застосування в селекційній практиці.

Матеріали і методи досліджень.

Матеріалом для індукції гаплоїдів слугували сорти озимого (Каріна, Тисменецький) та ярого (Форте, Марія, Квантум). Рослини-донори пиляків вирощували в польових умовах. Використовували бутони з головного та бычних пагонів. Стерилізували бутони за методикою Бутенко (Бутенко, 1999). Пиляки відділяли від квітколоже під біокулярною лупою та переносили на живильне середовище по 40 шт на одну чашку Петрі. Для культивування пиляків та пилку використовували модифіковане середовище Мурасіре-Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962) з різним умістом ауксинів та цитокінінів, які детально описані нами в попередніх роботах (Klyachenko, 2002). Контролем слугувало безгормональне живильне середовище МС. Спостереження за ембріогенною

здатністю експлантатів проводили через кожні 7 діб. Диплоїдизацію отриманих гаплоїдних рослин-регенерантів здійснювали за допомогою 0,1 % водного розчину колхіцину. Рівень плідності визначали на цитофлуоресційному фотометрі Partec (Німеччина). Статистичну обробку одержаних експериментальних даних здійснювали з використанням пакету програм «Аналіз електронних таблиць Microsoft Excel», Statistica 6,0.

Результати та обговорення.

Для спрямованої зміни гаметофітного способу розвитку пилкових зерен на ембріогенний використовують різні види фізичного та хімічного впливу, зокрема такі, як передобробка рослин холодом, тепловий вплив на культуру (Круглова, 2009). Згідно з літературними даними найбільший вихід зародків із мікроспор у культурі пиляків *Brassica napus* L. одержують за

використання ізольованих бутонів IV фази розвитку квітки рослин і вирощування рослин-донорів за температури +15 °C (Dunwell, 2010).

У наших експериментах для забезпечення ембріогенезу із мікроспор, ізольованих із суцвіть різних генотипів ріпака ярого та озимого, розроблено схему комплексної передобробки ізольованих бутонів зниженими (+4 °C упродовж 36 год) і підвищеними (+22 °C строком 21 добу та +30 °C тривалістю 10, 14, 21 діб) температурами. Обробка ізольованих бутонів низькими позитивними температурами й культивування пиляків за підвищених температур завершувала процес диференціації ембріодних мікроспор. Встановлено, що для індукції ембріогенного розвитку незалежно від генотипу оптимальною була температура +30 °C за тривалості культивування впродовж 21 доби (табл. 1).

1. Вплив температури на частоту виходу ембріодів різних генотипів ріпака ярого та озимого

Сорт	Температура культивування, °C	Тривалість обробки, діб	Кількість висаджених пиляків, шт.	Кількість ембріодів, шт.	Частота ембріогенезу пиляків, %
Форте Марія Квантум Карина Тисменецький	22	21	1100	0	0,00
			1920	1	0,05
			1450	0	0,00
			1300	4	0,20
			1500	6	0,60
Форте Марія Квантум Карина Тисменецький	30	10	1610	2	0,12
			950	1	0,10
			1200	1	0,08
			1300	10	1,20
			1500	15	1,80
		14	1513	30	2,00
			1085	33	3,00

Квантум			1110	17	1,50
Карина			1300	150	13,00
Тисменецький			1500	165	14,20
Форте			1300	35	2,70
Марія			740	27	3,60
Квантум		21	990	21	2,10
Карина			1300	185	14,00
Тисменецький			1500	160	12,70
НІР ₀₅				2,16	0,18

Під час вивчення ембріогенної здатності мікроспор встановлено генотипну специфічність ріпака ярого й озимого до проявлення цієї ознаки, яка ґрунтується на значній її варіабельності. Отримані нами дані засвідчують, що порівняно із сортами ріпака ярого (Форте, Марія, Квантум) у ріпака озимого (сорт Каріна, Тисменецький) спостерігалось підвищення морфогенетичної активності ізольованих мікроспор. Це пов'язано, ймовірно, з формуванням озимих форм ріпака в більш стресових умовах дозвілля, що сприяє підвищенню рівня переключення розвитку мікроспор із гаметофітного на спорофітний шлях. Різниця виявлялася також і в межах вибірки досліджених сортів, що характерно як для ярого, так і ріпака озимого. Так, з поміж ярих форм ріпака найбільша кількість ембріодів утворювалась у сорту Марія, а в ріпака озимого – у сорту Тисменецький.

У численних дослідженнях виявлено низку чинників, від яких залежить процес андрогенезу ріпака в культурі *in vitro* і збільшення частки морфогенних мікроспор. У системі індукції гаплоїдів *in vitro* суттєва роль належить компонентам культурального середовища, а саме макро- і мікроелементам, вітамінам, компонентам вуглеводного й азотного живлення (Don Palmer, 2005; Olmedilla et al., 2010), регуляторам росту, агару

(Charne et al., 1988; Na et al., 2011; Жамбакин, 2012; Takahashi et al., 2012;). Загальними, найбільш важливими чинниками, які впливають на процес регенерації є генотип рослин, стадія розвитку експлантів, умови їхньої попередньої обробки перед культивуванням, склад живильного середовища, параметри подвоєння хромосом та умови акліматизації під час переведення рослин-регенерантів із пробірок у відкритий ґрунт (Жамбакин, 2004; Kiszczak et al., 2017).

Для одержання рослин-регенерантів сформовані ембріоди ми відділяли від первинного експлантата й переносили на агаризовані середовища, які містили мінеральні солі за прописом МС і були доповнені вітамінами та регулятори росту.

Основним компонентом ініціального середовища, який впливає на індукцію ембріодів у культурі пиляків є регулятор росту 2,4Д у концентрації 0,1–2,5 мг/л (Жамбакин, 2004). У серії проведених нами експериментів максимальна індукція ембріодів спостерігалася за додаванням до всіх досліджених середовищ 2 мг/л 2,4-Д. Однак ембріоди тим часом мали пухку, глобулярну структуру і в разі перенесення на регенераційне середовище відбувалась їхня загибель. Культивування мікроспор за зниженої концентрації до 0,2 мг/л 2,4-

Д призводило до утворення серце-подібних і торпедоподібних ембріогенних структур. Водночас вихід ембріодів знижувався, хоча підвищувалась їхня регенераційна здатність, що уможливлювало отримання більшої кількості рослин-регенерантів.

Оскільки відомо, що в стадії торпедо ембріод містить апекси коренів і пагонів, а в низці випадків – тільки коренів або тільки пагонів (Жамбакин, 2004), у наших дослідженнях для одержання гаплоїдів

із пилкових ембріодів різних генотипів ріпака ярого й озимого, було використано оптимальне з протестованих, модифіковане живильне середовище МС, доповнене 1,25 мг/л БАП і 0,04 мг/л НОК. Одночасно відбувалось утворення пагонів зі стеблового та кореня – із кореневих апексів ембріодів. З даних, наведених у таблиці 2 можна бачити, що регенераційна здатність отриманих ембріодів значною мірою зумовлювалася генотипом.

2. Регенерація рослин із пилкових ембріодів ріпака ярого і озимого

Сорт, гібрид	Висаджено ембріодів, що регенерують, шт	Частота коренеутворення, шт.	Частота морфогенетичних реакцій, %
Форте	415	211	50,8
Квантум	460	186	40,4
Марія	510	307	60,2
Тисменецький	180	150	83,3
Карина	190	135	71,1
НІР ₀₅		11	3,06

Найвищі частота коренеутворення й морфогенетичних реакцій, що призводили до утворення пагонів, спостерігалися в сортів ріпака ярого Марія та озимого Тисменецький. Поступове збільшення довжини пагона та кореня призводило до розвитку рослин-регенерантів, які у фазі 3–4 листків мали добре сформовану кореневу систему завдовжки 4–8 см і були придатними для висадження в ґрунтосуміші (рис. 1).



Рис. 1. Укорінені гаплоїдні рослини-регенеранти ріпака ярого сорту Марія

Відомо, що тривале культивування укоріненних регенерантів у стерильній культурі негативно впливає на їхню приживлюваність і подальший ріст (Бутенко, 1999).

Використання закритих посудин для культивування для запобігання мікробній контамінації знижує газообмін, що і собі призводить до обмеження надходження CO_2 і видалення газоватих продуктів обміну рослин. Водночас значно знижується водний потенціал середовища внаслідок збагачення його сахарозою, яка є основним джерелом живлення та енергії. За таких умов культивування змінюються морфологічна й анатомічна структура та деякі фізіологічні процеси мікропагонів (Nazarika, 2006).

У разі перенесення в субстрат рослина потрапляє в нові умови культивування, а саме зниження вологості повітря, вплив мікроорганізмів, перехід до автотрофного живлення, що вимагає підбору відповідного субстрату та умов культивування. У наших дослідженнях як субстрат використовували суміш торф : дерновий ґрунт : перліт у співвідношенні 1 : 1 : 1 і вирощували за умов 100 % вологості повітря. Укорінені та адаптовані до зовнішніх умов рослини-регенеранти висаджували у відкритий ґрунт (табл. 3).

3. Приживаність гаплоїдних рослин-регенерантів ріпака озимого і ярого в ґрунті

Генотип	Висаджено рослин в ґрунт, шт.	Рослин, що прижилися	
		шт.	%
Марія	46	37	80 ± 8,0
Квантум	47	33	68,8 ± 11,6
Форте	48	35	72,2 ± 10,6
Тисменецький	47	28	57,1 ± 18,7
Карина	51	32	62,7 ± 3,1

Найвищий відсоток приживаності рослин спостерігався у ріпака ярого сорту Марія і становив 80 %, а найнижчий - у ріпака озимого сорту Тисменецький – 57, 1% відповідно.

Одержані укорінені гаплоїдні рослини-регенеранти з нормальною гео- і фототропічною реакцією переводили на диплоїдний рівень ($2n=38$) за допомогою дії водного розчину 0,1% колхіцину на кореневу систему при експозиції протягом 4 год. Дія поліплоїдизуючого агента строго специфічна і полягає в пригніченні веретена поділу в метафазі клітини, в результаті чого подвоєні хромосоми не розходяться по полюсах (Zhou et al., 2002).

Одержані рослини висаджували у відкритий ґрунт, а перед цвітінням поміщали під ізолятори. В 50% випадків у ди гаплоїдних рослин утворювались фертильні квітки з подальшим дозріванням насіння. При посіві насіння в ґрунт отримували ди гаплоїдні рослини, що супроводжувалось цитологічним контролем. У варіанті без обробки колхіцином рослини виявились стерильними, внаслідок чого насіння не утворювалось.

Висновки.

Розроблено схему комплексної передобробки ізолюваних бутонів зниженими (+4°C протягом 36 год) і підвищеними (+22°C строком 21

добу та +30°C тривалістю 10, 14, 21 діб) температурами для забезпечення ембріогенезу із мікроспор, ізольованих із суцвіть різних генотипів ріпака ярого та озимого. Обробка ізольованих бутонів низькими позитивними температурами і культивування пиляків при підвищених температурах завершувала процес диференціації ембріодних мікроспор. Встановлено, що для індукції ембріогенного розвитку незалежно від генотипу оптимальною була температура +30°C за тривалості культивування упродовж 21 доби. Приживлюваність гаплоїдних рослин становила 57-82%. На основі одержаних методом культури пилку *in vitro* дигаплоїдів, нами в співавторстві були вперше в Україні створені ранньостиглий сорт ріпака озимого Антарія, який характеризується однорідністю досягання насіння і слабо ушкоджується квіткоїдом та середньостиглий сорт ріпака ярого Аїра, стійкий до обсіпання і посухи, з підвищеним вмістом білка в насінні.

Referens

1. Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. (2019). Селекционная ценность дигаплоидных линий рапса ярового (*Brassica napus* L.). *Масличные культуры*. 4 (180). 18–22 <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-4-180-18-22>
2. Жамбакин К.Ж., Шамекова. Д.В. Волков, А.К. и др. (2012). Получение удвоенных гаплоидов рапса. *KazNU Bulletin. Biology series*, 3(55). 47-57.
3. Сорока А.И. Разработка биотехнологических основ создания селекционно-ценного материала масличных культур: Автореф. дисс. на соиск. учен. степени док. с. - х. наук. - К. - 2015. - 42 с.
4. Белинская Е.В. (2007). Создание признаковой коллекции ячменя по способности к андрогенезу *in vitro* и ее использование в генетических и биотехнологических исследованиях. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 5(1-2). 11-20.
5. Сатарова Т.Н., В.Ю. Черчель, А.В. Черенков. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспекты. Днепропетровск: Новая идеология. 2013. 552 с.
6. Segui-Simarro J.M., F. Nuez. (2007) Embryogenesis induction, callusogenesis and plant regeneration by *in vitro* culture of tomato isolated microspores and whole anthers. *J. Exp. Bot.* 58(5).1119-1132. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri271>
7. Rahman M., Michalak de Jiménez M. (2016). Behind the scenes of microspore-based double haploid development in *Brassica napus*: A review // *J. Plant Sci. Mol. Breed.* 5. P. 1–9. <http://dx.doi.org/10.7243/2050-2389-5-1>.
8. Shamekova M.H., Volkov D.V., Zatybekov A.K., Zhambakin K.Zh. (2015). Double haploid production of spring rapeseed with the value traits. *NEWS of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Biological and Medical*. 3(309). 5– 11.
9. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
10. Mandal A. (2008). Induction of androgenetic haploids in the breeding materials of winter rape (*Brassica napus*). *Hereditas*. 106(2). 189-193. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1987.tb00252.x>

11. Gu H., Zhao Z., Sheng X., Yu H., Wang J. (2014) Efficient doubled haploid production in microspore culture of loose-curd cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis). *Euphytica*, 195(3): 467-475. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-1008-x>
12. Kiszczak W., Kowalska U., Karpusińska A., Burian M., Górecka K. (2017) Comparison of methods for obtaining doubled haploids of carrot. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 86(2): 3547. <https://doi.org/10.5586/asbp.3547>
13. Илюшко М.В., Скапцов М.В., Ромашова М.В. (2018) Содержание ядерной ДНК у регенерантов 135 риса (*Oryza sativa* L.), полученных в культуре пыльников *in vitro*. *Сельскохозяйственная биотехнология*. 53(3). 531-538. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.3.531rus>
14. Зонтиков Д.Н., Зонтикова С.А., Малахова К.В., Марамохин Э.В., Поляков А.В., Сергеев Р.В. (2020). Получение гаплоидных растений *Rubus arcticus* L. методом культуры микроспор *in vitro*. *Сельскохозяйственная биология*, 55(1). 128-136. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.1.128rus>
15. Карпачев В.В., Пастухов И.О. (2017). Оценка комбинационной способности андроклиных линий ярового рапса в диаллельных скрещиваниях. *Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК*. 1(169). 40-42. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2020-4-184-18-23>
16. Грищенко Е.В. (2001). Эмбриогенная детерминация развития *in vitro* пыльцы *Brassica napus* (Brassicaceae). *Ботанический журнал*. 11. 1 – 9.
17. Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Супрунова Т.П. (2015). Получение удвоенных гаплоидов у видов рода *Brassica* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 19 (1). 111-118. <https://doi.org/10.18699/VJ15.014>
18. Asif M. Progress and Opportunities of Doubled Haploid Production. Springer International Published. 2013. 75 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-00732-8>
19. Zhou W.J., Tang G.X., Harberg P. (2002). Efficient production of doubled haploid plants by immediate colchicine treatment of isolated microspores in winter *Brassica napus* L. *Plant Growth Regulation*. 37(2). 185-192. <https://doi.org/10.1023/A:1020561201125>
20. Zhou W.J., Tang G.X., Harberg P. (2002). Increasing embryogenesis and doubling efficiency by immediate colchicine treatment of isolated microspores in spring *Brassica napus* L. *Euphytica*. 128(1). 27-34. <https://doi.org/10.1023/A:1020687517888>
21. Murashige T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*. 15. 473 – 497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
22. Klyachenko O.L. (2002). Obtaining haploid plants of *Brassica napus* L. under *in vitro* conditions. *Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens*. 86. 34- 35.
23. Круглова Н.Н. (2009). Унификация терминологии при разработке инновационной биотехнологии андроклиной гаплоидии *in vitro*: постановка проблемы. *Физиология и биохимия культурных растений*. 41(6). 476-486.

24. Dunwell J.M. (2010). Haploids in flowering plants: origins and exploitation. *Plant Biotechnology. J.* 8:377-424. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x>
25. Don Palmer C., Keller W.A., Kasha K.J (eds.). (2005). Overview of haploidy. In: Haploids in crop improvement II. Biotechnology in agriculture and forestry, (56). Springer, Berlin, Heidelberg. 3-9. https://doi.org/10.1007/3-540-26889-8_1
26. Olmedilla A., Pua E., Davey M. (eds.) (2010). Microspore embryogenesis. In: Plant developmental biology-biotechnological perspectives. Springer, Berlin, Heidelberg. 27-44 https://doi.org/10.1007/978-3-642-04670-4_2
27. Charne D.G., W.D. Beversdorf (1988). Improving microspore culture as a rapeseed breeding tool the use of auxins and cytokinins in an induction medium. *Can. J. Bot.* 66 (8). 1671-1675. <https://doi.org/10.1139/b88-228>
28. Na H., Kwak J.H., Chun C. (2011). The effect of plant growth regulators, activated charcoal, and AgNO₃ on microspore derived embryo formation in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). *Hortic. Environ. Biotechnol.* 52(5). 524-529 <https://doi.org/10.1007/s13580-011-0034-7>
29. Takahashi Y., Yokoi S., Takahata Y. (2012). Improvement of microspore culture method for multiple samples in Brassica. *Breeding Science.* 61: 96-98 <https://doi.org/10.1270/jsbbs.61.96>
30. Жамбакин К.Ж. Гаплоидная биотехнология растений. Алматы, 2004. 186 с.
31. Hazarika B.N. (2006). Morpho-physiological disorders in vitro culture of plants. *Sci. Hort.* 108. (2). 105-120. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.01.038>

Klyachenko O.L. (2021). OBTAINING HAPLOIDS AND DIHAPLOIDS OF RAPESEE (BRASSICA NAPUS L.) IN VITRO.

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 12(4): 34-42.
<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15990>
<https://doi.org/10.31548/biologiya2021.04.003>

Abstract. In selective breeding-genetic research of crops, the use of experimental haploidy methods is associated with the possibility of obtaining homozygous constant material in one generation, while in traditional breeding it is necessary to conduct several generations of inbreeding for 6-8 years. Step-wise processing of isolated buds with reduced (+4 ° C for 36 h) and elevated temperatures (+22 ° C for 21 days and +30 ° C for 10, 14, 21 days) was selected and applied, which allows to complete the differentiation process. It was shown that for the induction of embryogenic development, regardless of genotype, the optimal temperature was +30 ° C for the duration of cultivation for 21 days. The regenerative capacity of the obtained embryos was determined by the original genotype. Obtained rooted haploid plants-regenerants with normal geo- and phototropic reaction were transferred to the diploid level (2n = 38) using an aqueous solution of 0.1% colchicine on the root system at 4 hours of exposure. On the basis of in vitro pollen dihaploids obtained by us, we co-authored for the first time in Ukraine an early-ripening variety of winter rapeseed Antaria and a medium-ripening variety of spring rapeseed Aira.

Keywords: winter and spring rapeseed, haploids, callus, plant-regenerant.