

Клітинна селекція *in vitro* на стійкість ріпака озимого та ярого (*Brassica napus L.*) до посухи

Ріпак (*Brassica napus L.*) — один з найважливіших джерел сировини для харчової промисловості, виробництва біопалива та кормів. В умовах зміни клімату актуальності набувають дослідження, направлені на створення гібридів із комплексною стійкістю проти несприятливих абіотичних факторів.

Для отримання посухостійких ліній використовували сорти ріпаку озимого Аліот та Антарія. Оцінку посухостійкості проводили з використанням модифікованої нами лабораторної методики для рослин ріпаку, яка базується на здатності насіння проростати у розчинах сахарози з високим осмотичним тиском. Нами використано розчини сахарози в діапазоні 10–18%. Фізіологічним підґрунтям цієї здатності є властивість генотипів по-різному проростати в розчинах сахарози, що до деякої міри моделює рівень водоспоживання насіння за умов нестачі води при підвищеній концентрації ґрунтового розчину. Підвищений відсоток пророслих насінин при цьому відображує здатність генотипу використовувати недостатні запаси вологи у ґрунті уже на перших етапах онтогенезу рослин, що свідчить про його посухостійкість.

Отримані проростки висаджували на живильні середовища з додаванням ПЕГ 6000 та манітолу в різних концентраціях. Встановлено, що за дії 12% концентрації ПЕГ 6000 та 17% манітолу виявлено істотні відмінності між дослідженими сортами ріпаку озимого за зменшенням приросту маси калюсної тканини, яка залежно від генотипу знижувалась приблизно на 50%. В подальшому мікрокалюси обробляли γ -опроміненням в дозі 40 Гр. та висаджували на середовище з сублетальною концентрацією ПЕГ 6000. Її встановлювали шляхом висіву суспензійної культури на живильні середовища з концентрацією ПЕГ 6000 (10%; 20%; 30%; 40%). В результаті нами визначено сублетальну концентрацію ПЕГ 6000 (20%), за якої спостерігалось значне зменшення приросту маси калюсної тканини, яку в подальшому використовували для проведення ступінчастої клітинної селекції *in vitro*.

Для цього в кінці першого пасажу виділяли лише світлі ділянки калюсних тканин і переносили на свіжоприготовлене середовище з селективним агентом. Проводили перевірку колоній, які росли в селективних і неселективних умовах. Встановлено, що до сьомого пасажу кількість виділених спочатку колоній зменшувалась на порядок.

В результаті обробки γ -опроміненням кількість життєздатних колоній у першому пасажі зменшилась до 35–50%. Після трьох селективних пасажів число живих колоній складало 15–25%.

В наших дослідженнях після проведення двох пасажів на середовищі без селективного агента та перевірки росту мікроколоній в селективних умовах вдалось виділити близько 4% резистентних клонів ріпаку, що стабільно зберігали ознаку посухостійкості.

Калюси всіх клонів були подібні за морфотипом, утворювали щільну, глобулярну структуру зеленуватого забарвлення і відзначались дуже повільним ростом. Отримані посухостійкі калюсні лінії ріпаку використовували для регенерації рослин, додаючи до живильного середовища екзогенні гормони в різних концентраціях.

Отже, на основі отриманих даних визначено, що в процесі клітинної селекції *in vitro* для отримання посухостійких ліній ріпаку доцільно застосовувати ПЕГ 6000 в концентрації 12%. Встановлено ефективність ступінчастої селекції *in vitro* з використанням γ -опромінення в якості мутагенного агента. Відповідно до запропонованої схеми отримано близько 4% клонів ріпаку озимого толерантних до посухи, які стабільно зберігали ознаку.