

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ АНДРОГЕНЕЗУ *IN VITRO* ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ ЗА ВИКОРИСТАННЯ РІДКОГО ТА ТВЕРДОГО ІНДУКЦІЙНОГО СЕРЕДОВИЩ

**О. Л. Шестопа́л, І. С. За́мбріборц, М. С. Чекалова, О. А. Афіно́генов, О. А. Васи́льєв,
В. А. Траско́вецька, Н. І. Сауляк, Є. А. Голуб, Є. І. Кірчук**

*Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення,
Овідіопольська дорога 3, Одеса, Україна.*

Актуальність. Сучасна селекція пшениці в Україні орієнтована на скорочення строків створення нових сортів, підвищення їхньої адаптивності та стабільності господарсько-цінних ознак. За умов зростання фітосанітарного навантаження та кліматичної мінливості особливої актуальності набуває впровадження біотехнологічних методів, здатних підвищити ефективність селекційного процесу. Одним із таких методів є отримання подвосних гаплоїдів пшениці методом культури пиляків *in vitro*, але він потребує постійного удосконалення для підвищення ефективності. **Мета.** Вивчення ефективності андрогенезу *in vitro* пшениці м'якої за використання для культивування пиляків рідкого й твердого індукційних середовищ. **Матеріали і методи.** Дослідження проводили у 2025 р. з використанням методу культури *in vitro* ізольованих пиляків. **Визначали:** відсоток калюсів, що сформувалися, відсоток зелених та альбіно рослин-регенерантів від висаджених пиляків, відсоток рослин, що вижили після етапів адаптації до ґрунту та яровизації. **Статистичні методи,** ANOVA. **Результати.** Вивчено андрогенез *in vitro* в культурі пиляків 26 генотипів пшениці м'якої озимої. Частота індукції калюсу варіювала як на твердому, так і на рідкому середовищах: від 0,23 до 41,7 % та від 0,22 до 15,0 % – від кількості висаджених пиляків відповідно. Відсоток регенерації зелених рослин у більшості генотипів не перевищував 1–1,5%, та варіювала у межах 0,22–4,33 % для рідкого середовища 190-2 та 0,04–17,33 % – для твердого. Альбіно рослини формувались у незначній кількості незалежно від середовища. Показаний достовірний вплив генотипу, типу середовища та їх взаємодії на кількість зелених регенерантів (ANOVA two-way, $p < 0.001$). Після адаптації до умов *ex vitro* та яровизації регенерантів отримано 64 зелених рослин, які наразі дороцюються в умовах штучного клімату. Відсоток адаптації регенерантів достовірно вищий ($69,6 \pm 6,8\%$ проти $41,6 \pm 5,6\%$) у рослин, отриманих на рідкому середовищі. **Висновки.** Генотип є ключовим фактором андрогенної відповіді, тоді як тип середовища визначає рівень її реалізації. Значуща взаємодія «генотип × середовище» вказує на необхідність добору умов культивування для кожного генотипу. Тверде середовище сприяло інтенсивнішому калюсоутворенню та подальшій регенерації зелених рослин, тоді як адаптивний потенціал останніх був вищий за використання рідкого індукційного середовища.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, культура пиляків *in vitro*, регенерант, індукційне живильне середовище.

Інформація про авторів:

Шестопа́л Оксана Леоні́дівна, канд. біол. наук, ст.дослідник, пр.наук. співр., <https://orcid.org/0000-0002-2987-9712>

За́мбріборц Ірина Сергі́ївна, канд. біол. наук, ст.дослідник, завідуючий лаб. культури тканин, <https://orcid.org/0000-0003-2430-3690>.

Чекалова Марія Сергі́ївна, молод. наук. співр. <https://orcid.org/0000-0001-7505-8459>

Афіно́генов Олександр Анато́лійович, молодший науковий співробітник лаб. культури тканин, e-mail: alexriety@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0000-9392-0233>

Васи́льєв Олексій Анато́лійович, канд. с.-г. наук, с. н. с., завідуючий відділом фітопатології та ентомології, <https://orcid.org/0000-0003-2070-565X>

Траско́вецька Ві́та Анато́лївна, науковий співробітник відділу фітопатології та ентомології, <https://orcid.org/0000-0001-6529-1919>

Сауляк Надія Іванівна, доктор філософії, науковий співробітник відділу фітопатології та ентомології, <https://orcid.org/0000-0001-5164-1105>

Голуб Євгенія Анато́лївна, канд. с.-г. наук, в.о. завідуючого відділу селекції пшениці, <https://orcid.org/0000-0002-3415-4193>

Кірчук Євгеній Ілліч, доктор філософії, наук. співр., <https://orcid.org/0000-0003-1681-9160>

Надійшла:
26.02.2026

Прийнята:
14.04.2026

Опублікована:
26.05.2026

Вступ. Застосування подвійно гаплоїдних (DH) рослин у сучасних селекційних програмах є одним із найбільш ефективних інструментів прискореного створення нових сортів сільськогосподарських культур. Використання DH-технологій дозволяє суттєво скоротити тривалість селекційного циклу, забезпечуючи швидке отримання генетично однорідного матеріалу та підвищення точності добору цінних господарських ознак [1, 2]. У селекції пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.) одним із найбільш результативних методів отримання DH-рослин є індукція ембріогенезу з мікроспор, або андрогенез *in vitro*, який широко застосовується в провідних селекційних програмах світу [3, 4]. Протягом останніх років значна увага дослідників зосереджена на оптимізації умов індукції андрогенезу, зокрема, на порівнянні ефективності рідких та агаризованих індукційних середовищ у культурі пиляків і мікроспор злакових культур. Показано, що тип середовища може істотно впливати як на частоту переходу мікроспор до ембріогенного розвитку, так і на подальшу регенерацію зелених рослин, при цьому реакція значною мірою визначається генотипом і фізіологічним станом експлантів [5, 6].

Сучасні дослідження свідчать, що використання рідких індукційних середовищ часто забезпечує вищу частоту індукції андрогенних ембріонів у пшениці порівняно з агаризованими аналогами, що пов'язують із кращою доступністю поживних речовин, регуляторів росту та більш рівномірним впливом стресових факторів, необхідних для ініціації ембріогенезу [7, 8]. Аналогічні тенденції відзначено й у дослідженнях інших злакових культур, де рідкі середовища сприяли активності більшої кількості мікроспор і формуванню ембріоїдних структур [6]. Водночас низка авторів наголошує, що підвищена ефективність індукції на рідких середовищах не завжди супроводжується високою регенераційною здатністю отриманих ембріонів. Показано, що ембріоїди, сформовані в умовах рідкого культивування, можуть характеризуватися порушенням морфогенезу та зниженням частки зелених рослин, що пов'язують із надмірним фізіологічним стресом і дисбалансом гормональної регуляції [9, 10]. У зв'язку з цим агаризовані середовища

розглядаються як більш стабільні для подальших етапів розвитку та регенерації рослин, незважаючи на потенційно нижчі показники первинної індукції [8].

Протягом останніх 15 років у нашій лабораторії для отримання подвійно гаплоїдних рослин пшениці м'якої озимої успішно застосовується тверде індукційне середовище 190-2 [11]. З огляду на суперечливі літературні дані щодо ефективності рідких і агаризованих середовищ, а також на сучасні тенденції оптимізації DH-технологій, метою даного дослідження було порівняти ефективність андрогенезу *in vitro* за використання рідкого та твердого індукційного середовища однакового хімічного складу. Задачі дослідження: 1) ввести в культуру *in vitro* пиляки різних генотипів пшениці м'якої озимої; 2) порівняти ефективність формування калюсу з мікроспор пиляків, що культивували на рідкому та твердому індукційному живильному середовищі 190-2; 3) дослідити регенераційну здатність отриманих новоутворень на регенераційному (однакового складу) середовищі; 4) визначити адаптивний потенціал рослин-регенерантів.

Матеріал та методи досліджень. Дослідний матеріал відбирали з польових ділянок відділу селекції пшениці (G генотипи) та відділу фітопатології та ентомології (F генотипи) Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення (СГІ–НЦНС). Всього було залучено 26 різних генотипів, які активно використовуються в селекційній роботі даних підрозділів. Пагони з пиляками зрізали з донорних рослин, коли мікроспори знаходились від ранньої до пізньої вакуолізованої фази розвитку. Для отримання подвоєних гаплоїдів пшениці використовували метод культури *in vitro* ізольованих пиляків за протоколом лабораторії культури тканин СГІ–НЦНС [12, 13].

Зрізане колосся пшениці попередньо надавали три-п'ятидобовій холодовій обробці (+2...4 °C) у водному розчині абсцизової кислоти (АБК) з концентрацією 0,5 мг/л. Після чого пиляки асептично виділяли в умовах ламінар-боксу та експлантували на два варіанти індукційного живильного середовища – 190-2, які мали однаковий гормональний склад (1,5 мг/л 2,4-дихлорфеноксоцетової

кислоти (2,4-Д) + 0,5 мг/л кінетину), містили по 400 мг/л глютаміну і проліну, але відрізнялися лише консистенцією: рідке (у чашках Петрі діаметром 60 мм із 5 мл середовища 190-2) та тверде (3 г/л герліт (Gelrite)), розлите у пробірки (скошення при застиганні). Культивування проводили у темряві за температури +30°C протягом перших трьох діб, після чого переносили матеріал в термостат та культивували за температури +24 °C до формування калюсу на поверхні пиляків. Сформовані макроструктури (0,7-3 мм) переносили на модифіковане тверде середовище MS [14] з додаванням 0,2 мг/л 2,4-Д; 0,1 мг/л кінетину, 200 мг/л глютаміну, 200 мг/л проліну [12, 13] і культивували у темряві протягом 14 діб. Після – пересажували на живильне середовище MS, доповнене 0,5 мг/л гібберелової кислоти (ГК) та 25 мг/л яблуневої кислоти до регенерації рослин. Останні переносили на тверде безгормональне середовище MS з половинною концентрацією макро- та мікроелементів. Культивування здійснювали за шістнадцяти годинного фотоперіоду, освітленості – 5 тис. люкс і температури – +24 °C до формування коріння у рослин. Відсоток калюсів і рослин-регенератів для кожного генотипу визначали відносно загальної кількості висаджених пиляків (AND). Також визначали загальну для кожного варіанту (рідке/тверде середовище) кількість добре розвинутих рослин (RN) на 100 одержаних зелених регенератів (GR) – (RN/100GR) та на 100 висаджених пиляків – RN/100AND. Після етапу адаптації до ґрунтових умов, регенеранти піддавали яровизації та подальшому дорощуванню в умовах штучного клімату. Приживаність рослин-регенератів оцінювали як частку рослин (ADRN), що вижили після етапів адаптації та яровизації, відносно загальної кількості нормально сформованих зелених регенератів (ADRN/100RN). Аналіз експериментальних даних здійснювали у середовищі jamovi (The jamovi project, версія 2.x) [15]. Для оцінки впливу факторів використовували двофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Достовірність відмінностей між середніми визначали за пост-хок тестом Tukey (HSD) при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати і обговорення. Отримання зелених рослин у культурі пиляків пшениці

м'якої озимої характеризується значною варіабельністю та значною мірою залежить від генотипу донорних рослин. Численні дослідження свідчать, що навіть за використання однакових індукційних середовищ і умов культивування різні генотипи пшениці демонструють істотно відмінну здатність до індукції андрогенезу та регенерації зелених рослин. У зв'язку з цим ефективна реалізація андрогенезу *in vitro* потребує індивідуального підбору культуральних маніпуляцій для кожного генотипу, зокрема, оптимізації складу живильного середовища, концентрацій регуляторів росту, джерел вуглецю та фізичних умов культивування. Показано, що варіація цих факторів може істотно впливати як на частоту утворення андрогенних ембріонів, так і на їхню регенераційну здатність [2, 3, 5].

За результатами досліджень виявлено, що ефективність андрогенної культури істотно залежить як від генотипу, так і від складу живильного середовища. Здатність до калусоутворення суттєво варіювала між генотипами. Так, показник «формування новоутворень» як на твердому, так і на рідкому середовищах коливався у широкому діапазоні: від 0,23 до 41,7 % та від 0,22 до 15,0 % відповідно. Отримати новоутворення в культурі пиляків *in vitro* генотипу F44 не вдалося на жодному з варіантів індукційних середовищ. Для дев'яти генотипів (F8, F38, F42, F46, G2, G10, G11, G13, G14) перевагу мало рідке середовище, для інших дев'яти (F21, F37, F54, G1, G4, G6, G7, G12, G15) – тверде середовище, та ще для восьми (F18, F44, F55, G3, G5, G8, G9, G16) – різниці не виявлено. Це свідчить про те, що реакція на тип середовища є генотип-специфічною (рис. 1).

Генотипи, надані відділом фітопатології, мали очікувано кращу здатність до формування калюсу, ніж генотипи селекції відділу пшениці, оскільки попередньо були відібрані як чутливі до андрогенезу *in vitro* саме за тестування на твердому середовищі. Можливо, саме тому різниця ефективності першого етапу андрогенезу на двох дослідних середовищах на даних генотипах була достовірною. Так, у середньому, відсоток формування калюсу для групи F-генотипів був значно вищим на твердому індукційному середовищі ($12,15 \pm 5,02$), ніж на рідкому ($5,07 \pm 1,68$). Тоді як для групи G-генотипів різниці

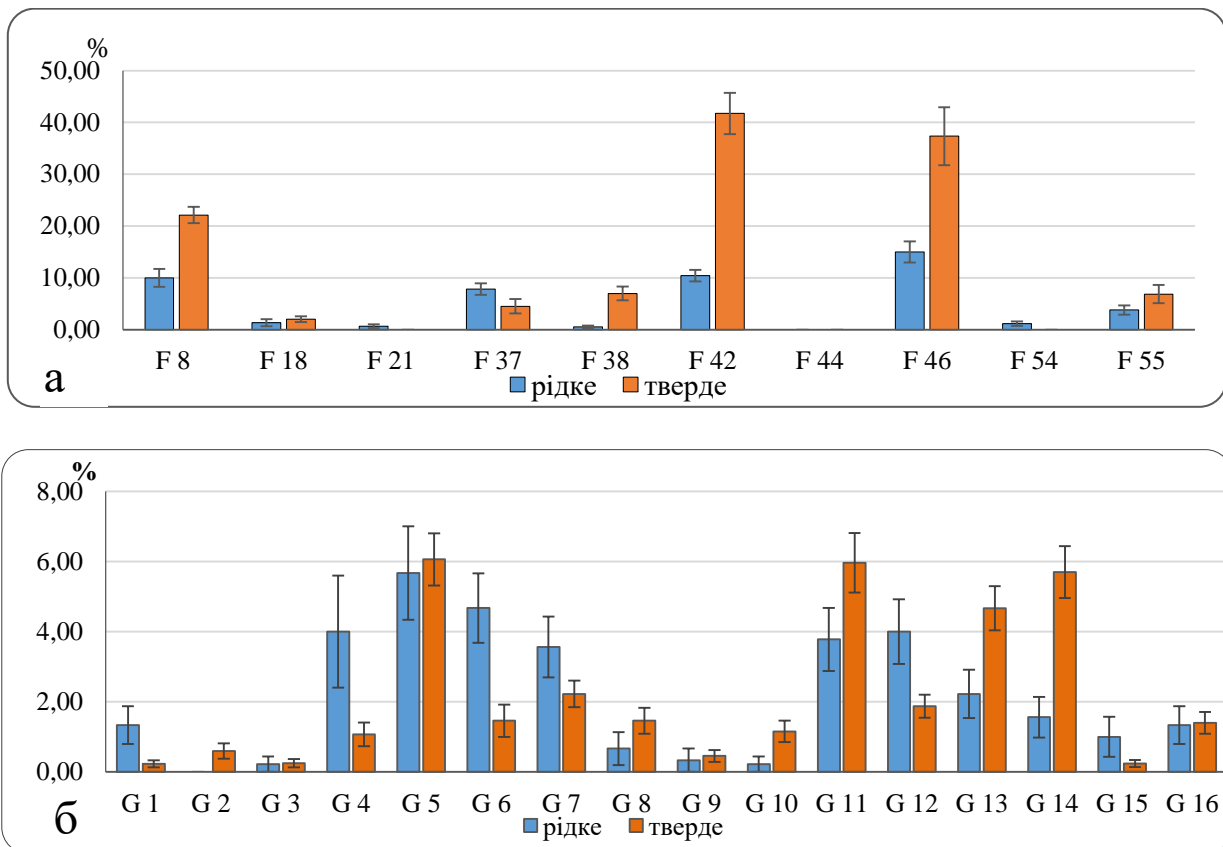


Рис. 1. Формування калусу в культурі пиляків різних генотипів пшениці озимої на рідкому та твердому індукційному середовищах 190-2:
 Примітка **а** – F-генотипи відділу фітопатології та ентомології СГІ-НЦНС;
б – G-генотипи відділу селекції пшениці СГІ-НЦНС.

між обома варіантами індукційного середовища не виявлено: $2,17 \pm 0,53$ відсотків на середовищі з герлітом та $2,16 \pm 0,46$ – на рідкому.

За абсолютними значеннями відсотку новоутворень найбільш чутливими до умов культури пиляків *in vitro* виявилися генотипи F42 та F46: $41,72 \pm 4,01$ та $37,33 \pm 5,59$ відповідно.

Ефективність утворення зелених регенерантів виявилася значно нижчою порівняно з процесом калусоутворення. П'ять із 26 генотипів не регенерували зелені рослини з новоутворень в наданих умовах культивування пиляків *in vitro*. Варіювання ознаки коливалось у межах 0,22–4,33% від кількості висаджених пиляків у варіанті дослідження з використанням рідкого індукційного середовища 190-2 та 0,04 – 17,33 % у варіанті з твердим індукційним середовищем. У більшості генотипів відсоток зелених рослин не перевищував 1–1,5%, за виключенням генотипів F42 та F46 (рис. 2).

Середні значення відсотка регенерації зелених рослин: $0,66 \pm 0,19$ (для новоутво-

рень, отриманих на рідкому індукційному середовищі) та $1,33 \pm 0,69$ (на твердому). При цьому у шести генотипів перевагу мало рідке середовище, а для семи більш ефективним було тверде середовище. Для більшості інших генотипів (8 шт.) відмінності між середовищами залишалися недостовірними, а рівень регенерації був мінімальним.

Альбіносні рослини спостерігали в незначній кількості серед усіх регенерантів (табл. 1).

Утворення альбіно регенерантів часто розглядається як небажаний результат андрогенезу; однак зростаюча кількість даних свідчить, що альбінізм відображає порушення диференціації пластид, а не знижену морфогенетичну здатність як таку. У даному дослідженні генотип F42 характеризувався найвищою частотою утворення альбіно-регенерантів, особливо на твердому середовищі, що супроводжувалося високими показниками калусоутворення та регенерації зелених рослин. Подібні взаємозв'язки між високою андрогенною активністю та підвищеною

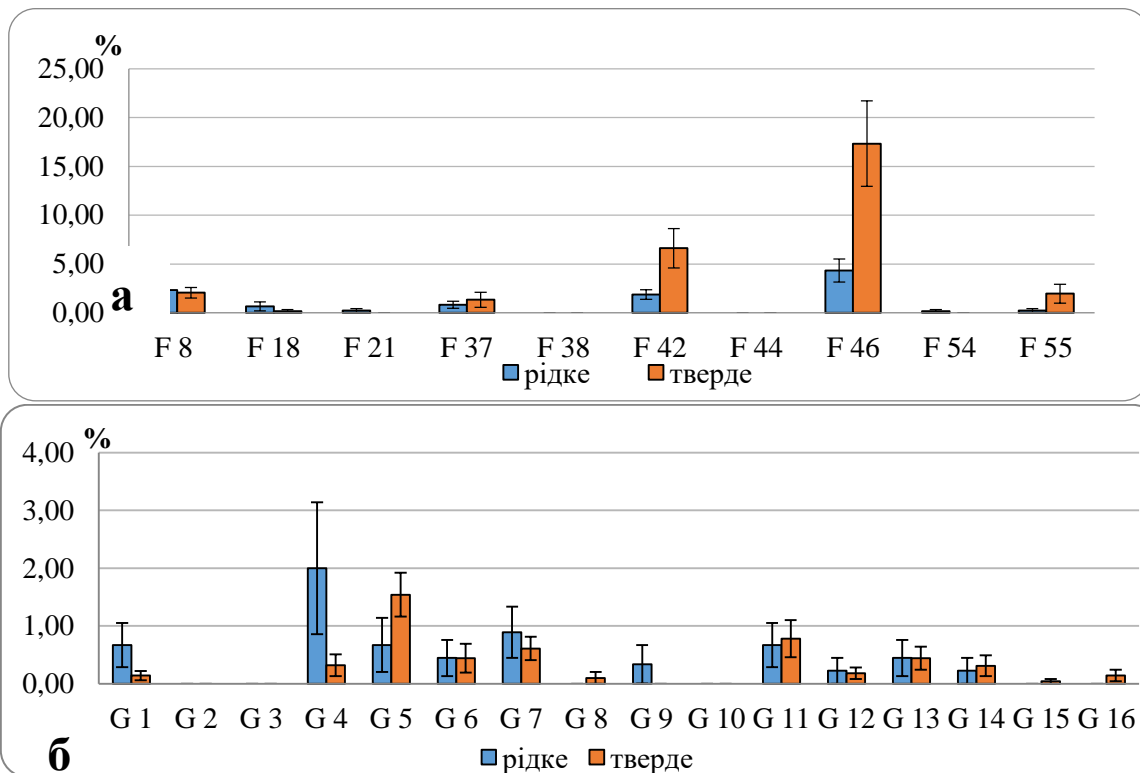


Рис. 2. Регенерація зелених рослин з новоутворень, що отримані на рідкому та твердому індукційних середовищах, в культурі пиляків пшениці м'якої озимої:
a – F-генотипи; *б* – G-генотипи.

Таблиця 1. Вплив генотипу та типу середовища на формування альбінорегнерантів

Генотип	Альбіно регенеранти		Генотип	Альбіно регенеранти	
	Рідке середовище	Тверде середовище		Рідке середовище	Тверде середовище
F8	0,00 ^e	0,00 ^e	G1	0,00 ^e	0,00 ^e
F18	0,44 ± 0,19 ^c	0,00 ^e	G2	0,67 ± 0,38 ^b	0,00 ^e
F21	0,00 ^e	0,00 ^e	G3	0,00 ^e	0,06 ± 0,04 ^{de}
F37	0,00 ^e	0,45 ± 0,18 ^c	G4	0,00 ^e	0,00 ^e
F38	0,00 ^e	0,00 ^e	G5	0,67 ± 0,27 ^b	0,38 ± 0,11 ^c
F42	0,40 ± 0,13 ^c	9,93 ± 1,40 ^a	G6	0,00 ^e	0,15 ± 0,09 ^{de}
F44	0,00 ^e	0,00 ^e	G7	0,22 ± 0,13 ^{cd}	0,47 ± 0,10 ^c
F46	0,00 ^e	0,00 ^e	G8	0,00 ^e	0,19 ± 0,08 ^{de}
F54	0,00 ^e	0,00 ^e	G9	0,00 ^e	0,00 ^e
F55	0,00 ^e	0,00 ^e	G10	0,22 ± 0,13 ^{cd}	0,08 ± 0,05 ^{de}
			G11	0,22 ± 0,13 ^{cd}	0,13 ± 0,07 ^{de}
			G12	0,00 ^e	0,00 ^e
			G13	0,00 ^e	0,44 ± 0,12 ^c
			G14	0,22 ± 0,13 ^{cd}	0,71 ± 0,16 ^b
			G15	0,00 ^e	0,04 ± 0,02 ^e
			G16	0,00 ^e	0,28 ± 0,08 ^{cd}

Примітки: Дані подано як середнє ± стандартна похибка, $n = 3$. Різні малі літери в межах одного стовпця вказують на статистично значущі відмінності за тестом Tukey ($p \leq 0,05$) [12].

частотою альбіносів були описані для пшениці та ячменю [16, 17]. Таким чином, альбінорегенерацію доцільно розглядати як індикатор інтенсивної андрогенної відповіді,

а не як виключно негативну ознаку.

Генотип був домінуючим джерелом варіації для всіх оцінених параметрів, що узгоджується з численними літературними да-

ними щодо андрогенезу пшениці, які вказують на сильний генетичний контроль індукції калюсу та регенераційної здатності [18, 19]. У цьому дослідженні генотипи F42 і F46 проявили найвищу морфогенетичну активність, яка характеризувалась високим рівнем калюсоутворення та значною кількістю зелених регенерантів. Це підтверджує наявність у цих генотипів підвищеної ембріогенної компетентності та високої чутливості до індукційних сигналів *in vitro*. Натомість більшість генотипів групи G характеризувалися низьким рівнем індукції калюсу та регенерації незалежно від типу середовища, що свідчить про наявність внутрішніх генетич-

них обмежень андрогенної здатності. Подібні генотип-специфічні обмеження широко описані для м'якої пшениці [5, 16, 18, 19] та часто пов'язані зі зниженою тотипотентністю мікроспор або порушеннями розвитку ембріодів [4, 9, 10].

Для оцінки впливу генотипу та типу середовища на морфогенетичні процеси *in vitro* було проведено двофакторний дисперсійний аналіз для показників формування калюсу, утворення зелених та альбіно-регенерантів (табл. 2). В усіх випадках встановлено статистично значущий вплив генотипу, типу середовища та їх взаємодії ($p < 0,001$).

Отримані результати підтверджують за-

Таблиця 2. Двофакторний дисперсійний аналіз морфогенетичних параметрів андрогенезу *in vitro* генотипів пшениці м'якої озимої (two-way ANOVA)

Джерело варіації	df	Mean squares		
		Формування калюсу	Зелені регенеранти	Альбіно регенеранти
Генотип	25	303,59*	29,13*	6,01*
Тип середовища	1	290,92*	17,35*	6,06*
Генотип × тип середовища	25	93,26*	11,27*	5,30*
Похибки	104	1,57	0,59	0,14
Загальне	155	–	–	–

Примітка: Значення представляють середньоквадратичне значення (Mean squares); * вказує на значущість при $p < 0,001$.

гальну для злаків картину: ефективність андрогенезу визначається поєднанням генотипу та складу/типу індукційного середовища, а не лише його агрегатним станом [20–22]. Подібну широку генотипову варіабельність частоти калюсоутворення (0–13 % і вище) та регенерації зелених рослин (0–1,8 %) у культурі пиляків озимої пшениці відзначали й інші автори [23, 24]. Це узгоджується з виявленою у нашому дослідженні значною різницею між 26 генотипами за показниками «новоутворення» та «регенерації зелених рослин».

Найбільший внесок у варіацію всіх досліджуваних ознак мав фактор «генотип», що свідчить про визначальну роль генетичних особливостей у реалізації морфогенетичного потенціалу експлантів. Тип середовища також істотно впливав на калюсогенез і регенерацію, однак його ефект був генотип-специфічним, про що свідчить наявність сильної взаємодії факторів. Тип поживного середовища мав статистично значущий вплив на всі андрогенні показники. Тверде середовище з герлітом сприяло більш інтен-

сивному формуванню калюсу та регенерації зелених рослин порівняно з рідким середовищем, особливо у високочутливих до андрогенезу *in vitro* генотипів. Це спостереження узгоджується з попередніми дослідженнями, в яких показано, що тверді середовища забезпечують кращу диференціацію ембріодів і регенерацію завдяки оптимальній фізичній підтримці, кращому газообміну та локалізованим гормональним градієнтам [23, 24]. Водночас вплив середовища не був однаковим для всіх генотипів, що підтверджується високодостовірною взаємодією «генотип × тип середовища». Це свідчить про те, що оптимальні умови андрогенезу не можуть бути універсальними й повинні підбиратися з урахуванням конкретного генотипу.

Слід зазначити, що отримані зелені регенеранти мали неоднакові компетенції щодо подальшого розвитку, росту та диференціації органів (табл. 3). Так, на рідкому середовищі в культурі пиляків наданих генотипів всього отримано 46 нормально розвинутих (RN) зелених рослин, що складає $0,42 \pm$

0,06 на 100 пиляків (RN/100AND) та $69,70 \pm 5,66$ на 100 отриманих зелених регенерантів (RN/100GR), які були висаджені в ґрунт для адаптації до умов *ex vitro*. В другому варіанті досліджу, при використанні твердого індукційного середовища, одержали 77 добре сформованих зелених рослин ($0,33 \pm 0,04$ RN/100AND та $77,78 \pm 4,18$ RN/100GR). Ана-

ліз приживаності регенерантів (ADRN/100RN) після яровизації показав істотні відмінності залежно від типу індукційного середовища. Рослини, отримані на рідкому середовищі, характеризувалися вищим рівнем приживаності в ґрунті ($69,57 \pm 6,78$) порівняно з регенерантами з твердого середовища ($41,56 \pm 5,62$).

Аналіз результатів показав вищий рі-

Таблиця 3. Ефективність отримання зелених рослин-регенерантів на різних типах індукційного середовища

Тип середовища	Пиляки, (AND), шт.	Зелені регенеранти (GR), шт.	Розвинуті рослини (RN), шт.	RN/100GR	RN/100AND	Адаптовані рослини (ADRN), шт.	Приживаність, ADRN/100RN
190-2 рідке	10950	66	46	$69,70 \pm 5,66$	$0,42 \pm 0,06$	32	$69,57 \pm 6,78$
190-2 тверде	23376	99	77	$77,78 \pm 4,18$	$0,33 \pm 0,04$	32	$41,56 \pm 5,62$

вень приживаності рослин, отриманих на рідкому середовищі, що може бути пов'язаним з кращим фізіологічним станом регенерантів, зокрема більш рівномірним розвитком кореневої системи та меншою морфологічною напруженістю на ранніх етапах *in vitro* розвитку. Натомість рослини з твердого середовища, хоча й формувалися у більшій кількості, могли зазнавати вищого рівня стресу під час акліматизації, що знижувало їхню здатність до успішної адаптації та наступної яровизації. Отже, тип індукційного середовища впливає не лише на ефективність андрогенезу *in vitro*, але й на подальшу життєздатність регенерантів *ex vitro*. Для отримання однакової кількості адаптованих рослин тверде середовище потребувало більш ніж удвічі більшу кількість експлантованих пиляків.

Таким чином, оцінка ефективності андрогенезу лише за показником кількості регенерантів є недостатньою без урахування їхньої подальшої життєздатності та адаптаційного потенціалу. Загалом отримані результати підтверджують необхідність генотип-специфічної оптимізації умов культивування та засвідчують, що відбір високочутливих донорних генотипів залишається ключовим етапом підвищення ефективності отримання подвоєних гаплоїдів пшениці.

Висновки. У результаті проведених досліджень здійснено комплексну оцінку ефективності андрогенезу *in vitro* пшениці м'я-

кої озимої за використання рідкого та твердого індукційних середовищ. Встановлено, що андрогенна відповідь істотно залежить від генотипу, типу живильного середовища та їх взаємодії, що підтверджено результатами двофакторного дисперсійного аналізу.

Тверде індукційне середовище виявилося більш ефективним порівняно з рідким, забезпечуючи вищі показники формування калюсу та регенерації зелених рослин, особливо у високочутливих генотипів F42 та F46. Водночас ефект типу середовища був генотип-специфічним, що свідчить про необхідність індивідуального підбору умов культивування для реалізації андрогенного потенціалу конкретних генотипів.

Отримані результати демонструють, що генотип визначає потенціал андрогенної відповіді, тоді як тип індукційного середовища моделює ступінь його реалізації. Так, генотипи проявляли інтенсивну морфогенетичну активність на твердому середовищі, однак кінцева ефективність адаптації рослин виявилася вищою при використанні рідкого середовища. Це свідчить про те, що швидкість та інтенсивність морфогенезу не завжди корелюють із фізіологічною якістю регенерантів. Імовірно, рідке середовище забезпечує більш рівномірний розподіл регуляторів росту та поживних речовин, що позитивно впливає на формування функціонально повноцінних рослин.

Використана література

1. Dwivedi S. L., Britt A. B., Tripathi L., Sharma S., Upadhyaya H. D., Ortiz R. Haploids: constraints and opportunities in plant breeding. *Biotechnology Advances*. 2015. Vol. 33. № 6. P. 812–829. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.001>
2. Shanti Lata, Paspureddy et al.; Advances in Haploid and Doubled Haploid Technology for Accelerating Breeding Cycles in Crop Improvement. *Plant Cell Biotech. Mol. Biol.* 2025. Vol. 26 (7–8). P. 61–77. Article no.PCBMB.13038. <https://doi.org/10.56557/pcbmb/2025/v26i7-89369>
3. Tadesse W., Tawkaz S., Inagaki M.N., Picard E., Baum M. Methods and Applications of Doubled Haploid Technology in Wheat Breeding: ICARDA, Aleppo, Syria. 2013. 36 p. <https://mel.cgiar.org/reporting/download/hash/S4b31FVv>
4. Patel, N.B., Jha, Z. In Vitro Culture of Haploids. In: Jha, Z., Verulkar, S.B., Penna, S. (eds.). *Doubled Haploids: Technological Advances and Role In Crop Improvement*. Springer, Singapore. 2025. P. 57–83. https://doi.org/10.1007/978-981-96-2339-6_2
5. Weyen J. Application of Doubled Haploids in Plant Breeding and Applied Research. In: Segui-Simarro, J. M. (eds.). *Doubled Haploid Technology. Methods in Molecular Biology*, Humana, New York, NY. 2021. Vol. 2288. P. 23–39. doi:10.1007/978-1-0716-1315-3_2
6. Sahab S., Su T., Zhang X., Chen G., Liu H. Comparison of liquid and solid media for androgenesis induction in cereals. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2018. Vol. 54. № 4. P. 456–465. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9892-3>
7. Redha A., Talaat A. Liquid versus solid induction media effects on androgenesis in wheat. *Biologia Plantarum*. 2019. Vol. 63. № 2. P. 312–320. <https://doi.org/10.32615/bp.2019.037>
8. Liu C., Zheng Y., Wang Y., Chen F. Effects of culture media consistency on androgenesis and green plant regeneration in wheat. *Plant Biotechnology Reports*. 2021. Vol. 15. № 3. P. 345–356. <https://doi.org/10.1007/s11816-021-00685-4>
9. Jacquard C., Asakaviciute R., Hamalian A.M., Sangwan-Norreel B.S., Clément C. Physiological and molecular regulation of microspore embryogenesis in cereals. *Plant Science*. 2020. Vol. 290. Article 110287. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110287>
10. El-Hennawy M.A., Abdalla A.F. Stress responses and regeneration capacity during wheat androgenesis. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2022. Vol. 41. № 5. P. 2103–2115. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10467-5>
11. Zhuang J. J., Xu J. H. Increasing the efficiency of rice anther culture. *Acta Phytophysiologica Sinica*. 1983. Vol. 9. P. 303–314.
12. Литвиненко М. А., Топал М. М., Шестопап О. Л., Замбриборщ І. С., Галаєв О. В. Удосконалена технологія селекційного процесу пшениці м'якої озимої з використанням біотехнологічних і молекулярно-генетичних методів / Науково-методичний посібник. Одеса: Астропринт, 2015. 41 с.
13. Zambriborshch I., Shestopal O., Traskovetskaya V., Vasiliev O., Halaiev O., Halaieva M., Afinogenov O., Chekalova M. Obtaining dihaploid lines of winter bread wheat with complex resistance. *Cereal Research Communications*. 2024-01-18. <https://doi.org/10.1007/s42976-023-00466-3>.
14. Murashige, T., Skoog, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. № 3. P. 473–497.
15. The jamovi project (2023). jamovi (Version 2.3) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>
16. Weigt D., Siatkowski I., Magdalena Michalina Magaj M., Tomkowiak A., Nawracała J. Impact of Ionic Liquids on Induction of Wheat Microspore Embryogenesis and Plant Regeneration Agronomy. 2020. Vol. 10. № 6. Article 839. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060839>
17. Żur, I., Gajecka, M. G., Dubas, E., Krzewska, M., & Szarejko, I. M. Albino plant formation in androgenic cultures : an old problem and new facts. W *Doubled haploid technology*. New York: Humana Press. 2021. Vol. 2: *Hot topics, apiaceae, brassicaceae, solanaceae*. P. 3–23. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1335-1_1
18. Chaudhary, H., Dhaliwal, I., Singh, S. et al. Genetics of androgenesis in winter and spring wheat genotypes. *Euphytica*. 2003. Vol. 132. P. 311–319. <https://doi.org/10.1023/A:1025094606482>
19. Ferrie A.M.R., Möllers C. Haploids and doubled haploids in plant breeding. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2011. Vol. 104. № 3. P. 1–25. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9824-8>
20. Wang H. M. et al. Improving the efficiency of wheat microspore culture methodology: evaluation of pre-treatments, gradients, and epigenetic chemicals. *Plant Cell, Tissue and Organ Cul.* 2019. Vol. 139. № 6. P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01704-5>
21. Liu W., Chen Y., Wang C. Comparison of solid and liquid media for androgenic response in wheat anther culture. *Acta Genetica Sinica*. 1983. Vol. 10. No. 5. P. 360–367.
22. Замбриборщ І. С., Шестопап О. Л., Чекалова М. С., Афіногенов О. А., Литвиненко М. А., Васильєв О. А. Андрогаєз *in vitro* в культурі пиляків м'якої озимої пшениці. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2024. Вип. 34. С. 149–153. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v34.1632>
23. Kanbar O. Z., Lantos C., Chege P. K., Kiss E., Pauk J. Generation of doubled haploid lines from winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding material using in vitro anther culture. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2020. Vol. 56 (4). P. 150–158. <https://doi.org/10.17221/113/2019-CJGPB>.
24. Germana M.A. Anther culture for haploid and doubled haploid production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2011. Vol. 104. № 3. P. 283–300. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9852-z>

References

- Dwivedi S.L., Britt A.B., Tripathi L., Sharma S., Upadhyaya H.D., Ortiz R. (2015) Haploids: constraints and opportunities in plant breeding. *Biotechnology Advances*, 33 (6), 812–829. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.001>
- Shanti Lata, Paspureddy et al. (2025) Advances in Haploid and Doubled Haploid Technology for Accelerating Breeding Cycles in Crop Improvement. *Plant Cell Biotech. Mol. Biol.*, 26 (7–8), 61–77. Article no.PCBMB.13038. <https://doi.org/10.56557/pcbmb/2025/v26i7-89369>
- Tadesse W., Tawkaz S., Inagaki M.N., Picard E., Baum M. (2013) Methods and Applications of Doubled Haploid Technology in Wheat Breeding: ICAR-DA, Aleppo, Syria. 2013. 36 p. <https://mel.cgiar.org/reporting/download/hash/S4b3IFVy>
- Patel, N.B., Jha, Z. (2025). In Vitro Culture of Haploids. In: Jha, Z., Verulkar, S.B., Penna, S. (eds.) *Doubled Haploids: Technological Advances and Role In Crop Improvement*. Springer, Singapore. 57–83 pp. https://doi.org/10.1007/978-981-96-2339-6_2
- Weyen J. (2021) Application of Doubled Haploids in Plant Breeding and Applied Research. In: Segui-Simarro, J. M. (eds.) *Doubled Haploid Technology. Methods in Molecular Biology*, Humana, New York, NY. 2288:23-39. doi:10.1007/978-1-0716-1315-3_2
- Sahab S., Su T., Zhang X., Chen G., Liu H. (2018) Comparison of liquid and solid media for androgenesis induction in cereals. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 54 (4), 456–465. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9892-3>
- Redha A., Talaat A. (2019) Liquid versus solid induction media effects on androgenesis in wheat. *Biologia Plantarum*, 63 (2), 312–320. <https://doi.org/10.32615/bp.2019.037>
- Liu, C., Zheng, Y., Wang, Y., Chen, F. (2021). Effects of culture media consistency on androgenesis and green plant regeneration in wheat. *Plant Biotechnology Reports*, 15 (3), 345–356. doi.org/https://doi.org/10.1007/s11816-021-00685-4
- Jacquard C., Asakaviciute R., Hamalian A.M., Sangwan-Norreel B.S., Clément C. (2020) Physiological and molecular regulation of microspore embryogenesis in cereals. *Plant Science*, 290. Article 110287. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110287>
- El-Hennawy M.A., Abdalla A.F. (2022) Stress responses and regeneration capacity during wheat androgenesis. *Journal of Plant Growth Regulation*, 41 (5), 2103–2115. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10467-5>
- Zhuang J. J., Xu J. H. (1983) Increasing the efficiency of rice anther culture. *Acta Phytophysiological Sinica*, 9, 303–314.
- Lytvynenko M. A., Topal M. M., Shestopal O. L., Zambriborshch I. S., Galaev O. V. (2015) Udoskonalena tekhnolohiya selekciynogo procesu pshenyци myakoi ozymoi z vykoryctanniam biotekhnolohichnykh i moleculyarno-genetychnykh metodiv. Naukovo metodychnyi posibnyk. Odesa: Astroprint. 41 p. [in Ukrainian]
- Zambriborshch I., Shestopal O., Traskovetskaya V., Vasiliev O., Halaiev O., Halaieva M., Afinogenov O., Chekalova M. (2024) Obtaining dihaploid lines of winter bread wheat with complex resistance. *Cereal Research Communications*. 2024-01-18. <https://doi.org/10.1007/s42976-023-00466-3>.
- Murashige, T., Skoog, F. A (1962) Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15 (3), 473–497.
- The jamovi project (2023). jamovi (Version 2.3) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>
- Weigt D., Siatkowski I., Magdalena Michalina Magaj M., Tomkowiak A., Nawracała J. (2020) Impact of Ionic Liquids on Induction of Wheat Microspore Embryogenesis and Plant Regeneration *Agronomy*, 10 (6), 839. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060839>
- Žur, I., Gajecka, M. G., Dubas, E., Krzewska, M., & Szarejko, I. M. (2021). Albino plant formation in androgenic cultures : an old problem and new facts. *W Doubled haploid technology. Vol. 2: Hot topics, apiaceae, brassicaceae, solanaceae* (p. 3–23). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1335-1_1
- Chaudhary H., Dhaliwal I., Singh S. et al. (2003) Genetics of androgenesis in winter and spring wheat genotypes. *Euphytica*, 132, 311–319. <https://doi.org/10.1023/A:1025094606482>
- Ferrie A.M.R., Möllers C. (2011) Haploids and doubled haploids in plant breeding. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104 (3), 1–25. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9824-8>
- Wang H. M. et al. (2019) Improving the efficiency of wheat microspore culture methodology: evaluation of pretreatments, gradients, and epigenetic chemicals. *Plant Cell, Tissue and Organ Cul.*, <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01649-7>
- Liu W., Chen Y., Wang C. (1983). Comparison of solid and liquid media for androgenic response in wheat anther culture. *Acta Genetica Sinica*, 10 (5), 360-367. 1123. <https://doi.org/10.3390/plants10061123>
- Zambriborshch I. S., Shestopal O. L., Chekalova M. S., Afinogenov O. A., Lytvynenko M. A., Vasiliev O. A. (2024) Androgenesis *in vitro* in anther culture of bread winter wheat. *Faktori eksperimental'noi evolucii organizmiv*, 34, 149–153. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v34.1632>. [in Ukrainian]
- Kanbar O. Z., Lantos C., Chege P. K., Kiss E., Pauk J. (2020) Generation of doubled haploid lines from winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding material using *in vitro* anther culture. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 56 (4), 150–158. <https://doi.org/10.17221/113/2019-CJGPB>.
- Germana M.A. (2011) Anther culture for haploid and doubled haploid production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104 (3), 283–300. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9852-z>

Shestopal, O. L., Zambriborshch, I. S., Chekalova, M. S., Afinohenov, O. A., Vasiliev, O. A., Traskovetska, V. A., Sauliak, N. I., Holub, Ye. A., Kirchuk, Ye. I. Assessment of the effectiveness of *in vitro* androgenesis in bread winter wheat using liquid and solid induction media.

Grain Crops. 2026. 10 (1). 24–33.

Plant Breeding and Genetic Institute – National Centre of Seed and Cultivar Investigation, 3 Ovidiopska Road, Odessa, 65036, Ukraine

Topicality. Modern wheat breeding in Ukraine is focused on reducing the time required to develop new varieties, improving their adaptability and the stability of their valuable economic traits. Given the increasing phytosanitary load and climate variability, the introduction of biotechnological methods to improve the efficiency of the breeding process is becoming particularly relevant. One such method is the production of doubled-haploids of wheat using *in vitro* anther culture, but it requires continuous refinement for greater efficiency. **Purpose.** To evaluate the efficiency of *in vitro* androgenesis in bread wheat using liquid and agar-solidified induction media for anther cultivation. **Materials and Methods.** The study was conducted in 2025 using the isolated anther culture *in vitro*. The following parameters were determined: percentage of formed calli, percentage of green and albino regenerant plants relative to the number of cultured anthers, percentage of plants that survived after the stages of soil adaptation and vernalization. Statistical analysis was performed using ANOVA. **Results.** *In vitro* androgenesis in anther culture was investigated in 26 bread winter wheat genotypes. The frequency of callus induction varied on both solid and liquid media, ranging from 0.23 to 41.7 % and from 0.22 to 15.0 % of the cultured anthers, respectively. The percentage of green plant regeneration in most genotypes did not exceed 1–1.5 % and ranged from 0.22 to 4.33 % on liquid medium 190-2, and from 0.04 to 17.33 % on agar-solidified medium. Albino plants developed in small numbers regardless of the culture media. Two-way analysis of variance revealed a statistically significant effect of genotype, medium type, and their interaction on the number of green regenerants ($p < 0.001$). After adaptation to *ex vitro* conditions and vernalization, 64 green plants were obtained and are currently being grown under controlled climate conditions. The adaptation rate of regenerants was significantly higher ($69.6 \pm 6.8\%$ vs. $41.6 \pm 5.6\%$) in plants derived on liquid medium. **Conclusions.** Genotype is the key determinant of androgenic response, while the culture medium modulates its expression. A significant interaction between genotype and medium highlights the need to tailor culture conditions for each genotype. Solid medium enhanced callus formation and green plant regeneration, whereas liquid medium improved the adaptive potential of regenerants.

Key words: *Triticum aestivum* L., *in vitro* anther culture, regenerant, induction nutrient medium.