

3. Ракутько С.А., Ракутько Е.Н., Васькин А.Н., Капошко Д.А. Энергоэкологическое обследование светокультуры салата (*Lactuca sativa* L.) на конвейерной линии // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 6-1. – С. 27-31

УДК 635.53:573.6

**ОСОБЕННОСТИ ИНДУКЦИИ ГИНОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ
ИЗОЛИРОВАННЫХ СЕМЯЗАЧАТКОВ И ФРАГМЕНТОВ ЗАВЯЗИ
CUCUMIS SATIVUS L.**

Осминина Екатерина Васильевна, аспирант 2 года обучения института садоводства и ландшафтной архитектуры ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, e.osminina@rgau-msha.ru

Монахос Сократ Григорьевич, заведующий кафедрой ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, s.monakhos@rgau-msha.ru

Аннотация: Применение современных биотехнологических методов – одно из перспективных направлений в селекции в настоящее время. ДН-технологии значительно сокращает срок получения гомозиготных родительских линий, необходимых для производства конкурентноспособных коммерческих F1 гибридов. В статье описываются особенности индукции гиногенеза у огурца в зависимости от технологий создания удвоенных гаплоидов.

Ключевые слова: удвоенные гаплоиды, огурец (*Cucumis sativus* L.), гиногенез, ДН-технология

Введение. Огурец (*Cucumis sativus* L.) – одна из наиболее востребованных и широко выращиваемых культур. По данным FAOSTAT за 2017 год огурец занимает 6-ое место по посевным площадям [5]. На сегодняшний день в мировой селекционной практике урожайность сельскохозяйственных культур может быть значительно повышена за счет широкого использования F1 гибридов [4]. Благодаря методам традиционной селекции производство коммерческих F1 гибридов занимает до 8-10 лет, особенно у перекрестноопыляемых видов [3]. ДН-технологии позволяют существенно сократить сроки получения чистых гомозиготных линий, необходимых для производства коммерческих F1 гибридов. Изучение и оптимизация технологии создания удвоенных гаплоидов огурца посредством гиногенеза позволит значительно увеличить темпы производства конкурентноспособных коммерческих F1 гибридов [3, 6].

Целью данного исследования является изучение особенностей индукции эмбриогенеза в культуре изолированных семязачатков и в культуре изолированных фрагментов завязи огурца.

Материалы и методы

Растительный материал и условия выращивания донорных растений

В качестве исходного материала использовали гибриды F1 Мамлюк и F1 Эстафета. Донорные растения выращивали в теплице по общепринятой технологии. Отбор завязей осуществляли спустя месяц после начала цветения.

Культура изолированных семязачатков

С завязей удаляли околоцветник и волоски и промывали под проточной водопроводной водой. Завязи стерилизовали в 2%-ном растворе гипохлорита натрия (NaOCl) с добавлением 1-2 капель Tween 20 в течение 10 мин. с последующим трехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде в течение 1, 5, 10 мин.

Семязачатки вводили в культуру согласно методике Домблидес Е.А., 2019. [6]. Завязи на стадии за 1 сутки до раскрытия цветка с вечера изолировали при помощи ваты, утром отбирали в фазе раскрытого венчика. Семязачатки изолировали с использованием стереомикроскопа при помощи пинцета и скальпеля и инокулировали на твердую питательную индукционную среду в чашки Петри диаметром 3,5 см по 25 штук в чашку. Из каждой завязи выделяли 50 семязачатков. Повторность – 50 семязачатков. Для каждого изучаемого генотипа было использовано не менее 4 повторностей.

В качестве индукционной питательной среды использовали ИМС (Домблидес Е.А., 2019), с добавлением 3 % сахарозы, 0,7 % агара, 0,2 мг/л TDZ. Тидиазурон разводили при помощи 1 мл 1 М КОН, доводили дистиллированной водой до концентрации 1 мг/мл, стерилизовали при помощи фильтрстерилизации. рН среды 5,8-5,9 до автоклавирования. Каждые 2 недели осуществляли пересадку семязачатков на свежую питательную среду до формирования эмбриоидов. Экспланты инкубировали при температуре 25 °С, с фотопериодом 16/8, 3500 Лк.

Культура фрагментов завязей

С завязей удаляли околоцветник и волоски и промывали под проточной водопроводной водой. Завязи стерилизовали в 2%-ном растворе гипохлорита натрия (NaOCl) с добавлением 1-2 капель Tween 20 в течение 10 мин. с последующим трехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде в течение 1, 5, 10 мин.

Фрагменты завязей вводили в культуру согласно методике Diao, W. P., 2009 [1]. Завязи отбирали за 1 сутки до раскрытия венчика. Завязи разрезали на поперечные фрагменты толщиной 0,5-1 мм и инокулировали на твердую питательную среду в чашки Петри диаметром 10 см по 1 завязи на чашку. Повторность – 1 завязь. Для каждого изучаемого генотипа было использовано не менее 4 повторностей.

В качестве индукционной питательной среды использовали МС (Murashige T., Skoog F., 1962), дополненную 3 % сахарозой, 0,8 % агаром, 0,04 мг/л TDZ, 10 мг/л нитрата серебра. Тидиазурон разводили при помощи 1 мл 1 М КОН, доводили дистиллированной водой до концентрации 1 мг/мл, стерилизовали при помощи фильтрстерилизации, рН среды 5,8-5,9 до автоклавирования.

Экспланты инкубировали при температуре 35 °С в течение 3 суток в темноте, далее при температуре 25 °С до формирования эмбриоидов при освещенности 3500 Лк с фотопериодом 16/8.

Спустя 2 недели, после того как эмбриоиды переходили в глобулярную стадию развития, культивирования на индукционной питательной среде экспланты переносили на регенерационную питательную среду (Diao, W. P., 2009). В качестве регенерационной питательной среды использовали МС, дополненную 3 % сахарозой и 0,8 % агаром, 1,5 мг/л 6-ВАР. 6-ВАР разводили при помощи 1 мл 1 М КОН, доводили дистиллированной водой до концентрации 1 мг/мл, стерилизовали при помощи фильтрстерилизации. рН среды 5,8-5,9 до автоклавирования. Пересадку на свежую питательную среду осуществляли через каждые 2 недели.

Результаты. Через 1 неделю изолированные семязачатки, культивируемые на твердой питательной среде ИМС, увеличивались в размерах в 2-3 раза и изменяли цвет с белого на зеленый. Индуцированные семязачатки образовали небольшое количество желтоватого или прозрачного каллуса. Было отмечено, что у генотипа F1 Мамлюк индуцировалось большее число семязачатков по сравнению с генотипом F1 Эстафета. Фрагменты завязей формировали видимые структуры спустя 1 неделю после инокуляции на твердую индукционную питательную среду МС. Семязачатки увеличивались в размерах, изменяли цвет с белого на зеленый, выступали на поверхности поперечного среза фрагмента завязи огурца и образовали эмбриоиды глобулярной стадии развития. Спустя 1,5-2 недели после инокуляции на индукционную питательную среду на поверхности фрагментов завязей образовались клетки каллуса зеленого цвета. Через 30-40 суток эмбриоиды огурца образца F1 Эстафета образовали побегообразные структуры. Было отмечено, что у генотипа F1 Эстафета индуцировалось большее число семязачатков по сравнению с генотипом F1 Мамлюк.

Генотип F1 Эстафета показал значительное повышение числа индуцированных семязачатков при культивировании фрагментов завязей на питательной среде МС по сравнению с культурой изолированных семязачатков на питательной среде ИМС (207 и 111 шт. индуцированных семязачатков соответственно). Генотип F1 Мамлюк сформировал большее количество индуцированных семязачатков в культуре изолированных семязачатков на питательной среде ИМС по сравнению с культурой фрагментов завязей на питательной среде МС (163 и 45 шт. индуцированных семязачатков соответственно). Однако образование побегообразных структур наблюдали только у генотипа F1 Эстафета в культуре фрагментов завязи на питательной среде МС с добавлением сахарозы 3 %, агара 0,8 %, TDZ 0,04 мг/л, нитрата серебра 10 мг/л.

Разработка и оптимизация способов получения удвоенных гаплоидов является перспективным направлением, как в селекционном процессе, так и в области фундаментальных исследований. Технологии производства удвоенных гаплоидов огурца немногочисленны, что указывает на необходимость

дальнейшего изучения факторов, влияющих на эффективность эмбриогенеза, для разработки и использования рутинной ДН-технологий в селекции.

Благодарность: Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России, в рамках дополнительного соглашения № 075-15-2021-537/3 к соглашению № 075-15-2021-537 от 31.05.2021 г.

Библиографический список

1. Diao, W. P., Jia, Y. Y., Song, H., Zhang, X. Q., Lou, Q. F., & Chen, J. F. (2009). Efficient embryo induction in cucumber ovary culture and homozygous identification of the regenerants using SSR markers. *Scientia horticulturae*, 119(3), 246-251.

2. Dong Y. Q. et al. Androgenesis, gynogenesis, and parthenogenesis haploids in cucurbit species //Plant cell reports. – 2016. – Т. 35. – №. 10. – P. 1991-2019.

3. Kurtar, E. S., Seymen, M., & Ünal, K. A. L. (2020). An overview of doubled haploid plant production in Cucurbita species. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(3), 510-520.

4. Григолова, Т. Р., Вишнякова, А. В., Сеницына, А. А., Воронина, А. В., Зубко, О. Н., Зудова, О. В., & Монахос, С. Г. (2021). Методические подходы создания удвоенных гаплоидов сахарной и столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 25(3), 276-283.

5. Домблидес, Е. А., Белов, С. Н., Солдатенко, А. В., & Пивоваров, В. Ф. (2019). Получение удвоенных гаплоидов огурца (*Cucumis sativus* L.). *Овощи России*, (5), 3-14.

6. Домблидес, Е. А., Шмыкова, Н. А., Белов, С. Н., Коротцева, И. Б., & Солдатенко, А. В. (2019). Получение ДН-растений огурца (*Cucumis sativus* L.) в культуре неопыленных семян *in vitro*. *Овощи России*, (6), 3-9.

УДК 634.739.2

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФОРМ ДИКОРАСТУЩЕЙ КЛЮКВЫ БОЛОТНОЙ (*VACCINIUM OXYCCOS* L.) В МОСКВЕ И МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Наконечная Дарья Владимировна, агроном лаборатории культурных растений ГБС РАН, darla90@mail.ru

Крючкова Виктория Александровна, доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, vkrychkova@mail.ru

Аннотация: *Клюква болотная произрастает в северной части России. Имеет значительную вариабельность биоморфологических признаков. Количество отечественных сортов не велико. Необходимо продолжать деятельность по созданию новых сортов. Для этого требуется методика и средства по улучшению выживаемости сеянцев. Информация в литературных источниках оказалась противоречива. Поэтому наша цель обобщить имеющиеся данные и провести дополнительные исследования на базе*