

ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ВЛИЯЮЩИХ НА РЕГЕНЕРАЦИОННУЮ СПОСОБНОСТЬ ЭМБРИОИДОВ РАПСА ЯРОВОГО, ПОЛУЧЕННЫХ В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИКРОСПОР

Вишнякова Анастасия Васильевна, к.с.-х.н., доцент кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, E-mail: a.vishnyakova@rgau-msha.ru

Александрова Анастасия Алексеевна, магистрант 2го года, кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, E-mail: nasty445577@gmail.com

ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева,

Аннотация: В статье изложены результаты исследования по изучению влияния кислотности среды, холодной обработки эмбриоидов и культивирования на среде с половинным содержанием макро- и микроэлементов (1/2 B5) на регенерацию эмбриоидов ярового рапса.

Ключевые слова: Рапс, культура микроспор, регенерация эмбриоидов, питательная среда.

Введение. Рапс играет важную роль в мировой экономике как источник растительного масла. Значение рапсового масла для человека сложно переоценить. Рапсовое масло имеет уникальный состав и очень полезно для человека. [1] Каждый год площади занятые рапсом растут. В 2005 году посевная площадь составляла 244 тыс. га, в 2015—2016 годах — около 1 млн га, а в 2021 году рапс занимал уже 1,68 млн га. Это означает, что растет потребность в посевном материале. Наиболее востребованы так называемые «00» гибриды (с без эруковой кислоты и низким содержанием глюкозинолятов). [3]

Процесс создания родительских линий в классической селекции занимает 5-6 лет. Используя методы современной биотехнологии коллекцию чистых линий можно получить уже через год. Одним из таких методов является культура микроспор. [2]

Получение удвоенные гаплоиды (DH) методом культуры микроспор можно разделить на три этапа:

1. Выделение микроспор и получение эмбриоидов
2. Регенерация эмбриоидов на твердой питательной среде
3. Пересадка полученных регенерантов в почву.

Нами была исследована возможность оптимизации условий регенерации эмбриоидов на твердой питательной среде. А именно исследовалось влияние pH среды, содержание макро- и микроэлементов в среде и холодовая обработка эмбриоидов при температуре +5°C.

Целью исследования было изучить влияние различного уровня рН, холодной обработки и половинного содержания макро- и микроэлементов в среде на регенерацию эмбрионов ярового рапса.

Материалы и методы. В качестве растительного материала для изоляции микроспор использовали F1 Джаз селекции KWS. Изоляцию микроспор проводили по Монахосу [4] с модификациями.

Кислотность питательной среды влияет на усвояемость питательных веществ растением. Оптимальным показателем рН для питательной среды считается 5,8. В ходе опыта было изучено влияние питательной среды для регенерации с показателями рН 6,1 и 6,4. В качестве контроля использовали среду с рН 5,8. Эмбриониды, достигшие семядольной стадии развития, пересаживали на твердую среду В5 Гамборга, в контейнеры по 12 шт. Использовали три варианта питательной среды В5 с рН 5,8, 6,1 и 6,4 по 12 контейнеров в каждом варианте.

Холодовую обработку эмбрионидов проводили в холодильнике при температуре +5°C. Эмбриониды достигшие семядольной стадии развития пересаживали на стандартную питательную среду В5 для регенерации с рН 5,8 в один контейнер помещали 12 эмбрионидов и ставили в холодильник на 5, 6, 8 и 12 дней. Опыт заложен в 6 кратной повторности.

Для опыта с половинным содержанием макро- и микроэлементов (1/2 В5) готовили среду, уменьшив объем стоков в половину. Количество сахарозы и агар-агара оставили стандартным.

Для дальнейшей регенерации контейнеры оставляли в культивационной комнате с 16 часовым фотопериодом и температурой 22°C. Каждый месяц растения пересаживали на свежую питательную среду. Растения готовые для адаптации пересаживали в кассеты с увлажненным субстратом (рН 5,5-6,6, P₂O₂ 80 мг/л, K₂O 140 мг/л, N общ. 120 мг/л). Оценивали количество адаптированных растений в каждом варианте опыта.

Результаты и обсуждение. Количество растений оценивали в динамике, подсчитывая количество адаптированных эмбрионидов в каждом варианте опыта и повторности во время пересадки на свежую питательную среду.

В эксперименте по изучению влияния кислотности среды на питательной среде с рН 5,8 за весь период регенерации получено 33 растения-регенеранта. Максимальное количество растений-регенерантов было адаптировано в период с 50 до 100 дня культивирования, минимальное количество с период с 0 до 50 дня (табл.1). Больше всего было адаптировано на 78 день (10 раст.), первые растения были адаптированы на 59 день культивирования (3 раст.), последние растения-регенеранты были адаптированы на 168 день.

На питательной среде с рН 6,1 всего за весь период было получено 55 растений. Минимальное количество растений-регенерантов было адаптировано в период с 0 до 50 дня культивирования, максимальное количество в период с 50-100 дни (табл. 1). На 30 день культивирования были получены первые растения готовые к адаптации. Максимальное количество растений было

адаптировано на 85 день (15 раст.). Меньше всего растений адаптировали на 117 (1 раст.) и 185 (1 раст.) дни. Последние растения были адаптированы на 183 день культивирования.

На питательной среде с рН 6,4 всего было получено 41 растение. Максимальное количество растений-регенерантов готовых к адаптации было получено в период с 100-220 день культивирования, минимальное в период с 50-100 (табл.1). Первые растения-регенеранты готовые к адаптации были получены уже на 30 день культивирования. Максимальное количество растений было адаптировано на 207 (9 раст.) и 220 (9 раст.) дни. Последние растения-регенеранты были адаптированы на 220 день.

В опыте с холодной обработкой больше всего растений за весь период получено без обработки холодом (65 растений). Больше всего растений-регенерантов было адаптировано в период с 100 до 203 день. Первые растения регенеранты сформировались на 19 день. Самое большое количество растений были пересажены в грунт на 166 день культивирования (23 растения). Меньше всего адаптировано на 19 день (1 растение). Все растения-регенеранты полностью сформировались на 166 день культивирования.

В варианте опыта с 5-ти дневной холодной обработкой самое большое количество растений были пересажены в грунт на 68 день культивирования (8 растений). Первые растения регенеранты сформировались на 39 день. Меньше всего адаптировано на 39 день (1 растение). Все растения-регенеранты полностью сформировались на 198 день культивирования. Всего было получено 17 растений-регенерантов.

В варианте опыта с 6-ти дневной холодной обработкой первые растения регенеранты сформировались на 19 день. Так же на 19 день самое большое количество растений было пересажено в грунт (7 растений). Меньше всего растений адаптировано на 178 день (1 растение). Все растения-регенеранты полностью сформировались на 189 день культивирования. Всего было получено 23 растений-регенерантов.

При 8-ми дневной экспозиции в холодильнике первые растения-регенеранты сформировались на 68 день. Так же на 68 день самое большое количество растений было пересажено в грунт (10 растений). Все растения-регенеранты полностью сформировались на 203 день культивирования. Всего за все периоды было получено 18 растений-регенерантов.

В варианте опыта с 12-ти дневной экспозицией впервые растения были получены на 79 день. Самое большое количество растений было пересажено в грунт на 101 день культивирования (6 растений). Меньше всего растений было получено на 79 день (1 растение). Все растения-регенеранты полностью сформировались на 178 день культивирования. Всего за все периоды было получено 14 растений-регенерантов.

В опыте с половинным содержанием микро- и макроэлементов в среде наибольшее количество растений-регенерантов было получено в среде с полной концентрацией макро и микро солей (131 растение). Первые растения были пересажены в грунт на 48 день культивирования. Самое большое количество

растений-регенерантов в среде с полной концентрацией макро и микро солей было получено на 183 день культивации (37 растений). Все растения-регенеранты полностью сформировались на 196 день культивирования.

При культивировании на $\frac{1}{2}$ В5 самое большое количество растений было пересажено в грунт на 129 день (20 растений). Первые растения-регенеранты были сформированы на 56 день культивирования. Все растения-регенеранты полностью сформировались на 203 день культивирования. Всего было получено 55 растения.

Заключение. Как показывают результаты опыта с рН среды, кислотность оказывает большое влияние на регенерацию эмбриоидов. В вариантах опыта с рН 6,1 и рН 6,4 наблюдали более раннюю регенерацию. При этом в варианте опыта рН 6,1 адаптировано большее количество растений-регенерантов во всех периодах по сравнению с другими вариантами опыта. Из чего можно сделать вывод, что вариант среды В5 с рН 6,1 оказывает более благоприятное влияние на регенерацию эмбриоидов ярового рапса.

Из результатов опыта с холодной обработкой видно, что оптимальным вариантом для регенерации эмбриоидов является отсутствие холодной обработки эмбриоидов. Показано, что холодная обработка задерживает регенерацию эмбриоидов.

В опыте по изучению концентрации макро- и микроэлементов регенерация началась раньше на среде с полной концентрацией макро и микро солей на 48 день. Так же на среде с полной концентрацией макро и микроэлементов было получено больше растений, чем на среде с половинной концентрацией нутриентов, что свидетельствует о повышенной потребности эмбриоидов ярового рапса в макро и микроэлементах на этапе регенерации в растения.

Библиографический список

1. Apostol R. Research in control of rapeseed fleas./ Apostol Roxana, Teodora Florian, Ion Oltean // Agricultura – 2020 – № 3 - 4 – P. 115-116 DOI: 10.15835/agrisp.v11i3-4.13827
2. Vanous, Kimberly Helen, Improvement and expansion of doubled haploid technology/ Vanous, Kimberly Helen// Iowa State University Digital Repository. – 2018. – <https://lib.dr.iastate.edu/etd/17342>
3. Егорова Т.А., Рапс (*Brassica napus* L) и перспективы его использования в кормлении птиц / Т.А Егорова, Т.Н. Ленкова// сельскохозяйственная биология. – 2015. – т. 50 – № 2 – С. 172-182 doi: 10.15389/agrobiology.2015.2.172rus
4. Монахос, С.Г. Создание чистых линий – удвоенных гаплоидов капусты в культуре изолированных микроспор и селекция F1-гибридов на основе современных методов биотехнологии: метод. Рекомендации / С.Г. Монахос. – Москва : Изд-во РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, 2014. – 44 с

Study of the influence of various factors on the regenerative capacity of spring rape embryoids obtained in culture of microspores

Vishnyakova A.V. PH.D. in Agricultural Sciences

Russian Timiryazev State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy 127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya str., 49

Alexandrova A.A. M. of Agricultural Sciences

Russian Timiryazev State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy 127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya str., 49

Abstract: *The article presents the results of a research the effect of acidity of the environment, cold treatment and cultivation on a medium with half the content of macro- and microelements (1/2 B5) on the regeneration of spring rape embryoids.*

Key words: *Rapeseed, microspore culture, regeneration of embryoids, medium.*