

материал, профессиональные кадры, и, в итоге, - суверенитет страны. Государственная селекция, базирующаяся на долгосрочной научной стратегии, успешно выживает: нерайонированный сорт – тоже успех, новый исходный материал.

Вавиловское «селекция - наука, искусство и отрасль сельскохозяйственного производства» - это о том, что отбросив внедрение, мы обнуляем возможности сорта, а не о том, что семеноводство – база для селекции. Оно вторично. Оно может существовать за счет иностранных сортов, но независимое государство – нет! Надо устранить перекос в планировании и повысить профессионализм = рост производительности труда, это деньги, соответственно – оснащенность и новые технологии в селекции.

Экологическую организацию селекции, концентрацию, специализацию, квалификацию кадров может обеспечить создание государственной корпорации. Четко государственной организации, как армия, так как речь идет о независимости страны. Госкорпорация должна охватить типовые этапы селекции от постановки задачи, до маточных семян, с подчинением всех селекционеров, независимо от их нынешней принадлежности.

**Заключение.** В Российской Федерации сохранилось желание и, в ряде НИИ, возможность проводить селекцию сортов, противостоящих мировым климатическим и цивилизационным вызовам. Для перехода на прорывной путь создания сортов и ускорение их внедрения нужно увеличить концентрацию и специализацию селекционной науки путем ее объединения под эгидой госкорпорации. Это даст рост профессионализма, производительности, качества, конкурентоспособности селекции, Обеспечит продовольственную безопасность, суверенитет страны, благосостояние населения.

### Список литературы

1. Гуляев, Г.В. Дубинин, А.П. / Селекция и семеноводство полевых культур с основами генетики. М.: «Колос». 1969. 487 С.

2. Жученко, А.А. / Адаптивное растениеводство. М.: ООО «Издательство Агрорус», 2009, т. 3, 960 С.

3. Неттевич, Э.Д. / Рождение и жизнь сорта. 2-е изд. М.: «Московский рабочий». 1983. 174 С.

4. Пленарное заседание Совета Федерации 24 декабря 2021 года. Парламентская газета: <https://www.pnp.ru/politics/matvienko-dala-neudovletvoritelnyu-ocenku-tempam-razvitiya-semenovodstva.html>.

5. ПРОГРАММА фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021 - 2030 годы), утвержденная распоряжением Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2020 г. № 3684-р <http://static.government.ru/media/acts/files/1202101090048.pdf>

6. Скатова С.Е. Организация селекции зерновых культур как фактор ее эффективности и конкурентоспособности // «Владимирский земледелец», № 3 (81), 2017. –С.2-5.

7. Таланов В.В. Общий очерк успехов и перспектив селекции и семеноводства / «Селекция и семеноводство в СССР», 1924. -С. 6-12.

УДК 633.32:57.085.23

**Особенности микроразмножения и сохранения в культуре *in vitro* трансгенных растений клевера лугового**

**Любовь Андреевна Солодкая, Людмила Ивановна Лапотышкина, Мария Николаевна Агафодорова**

*Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса, Московская область г.Лобня*

**Аннотация.** В статье представлены результаты по сравнительному изучению морфобиологических параметров вегетативного потомства различных клонов вегетирующих трансгенных растений клевера лугового, полученных с помощью микроразмножения.

**Ключевые слова:** клевер луговой, трансгенные растения, пазушные почки, морфогенная ткань

### **Particularities of micropropagation and maintenance in culture in vitro of red clover transgenic plants**

*Lubov Andreevna Solodkaya, Ludmila Ivanovna Lapotishkina, Maria Nikolaevna Agafodorova*

*Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology, Moscow region, Lobnya*

**Abstract.** The results on comparative study of morphobiological parameters of vegetative progeny of different clones of transgenic red clover plants, created during micropropagation, are described.

**Key words:** red clover, transgenic plants, axillary buds, morphogenic tissue

Размножение и длительное поддержание традиционными методами ценных селекционных образцов клевера лугового (*Trifolium pratense L.*), в том числе создаваемых методом генетической инженерии, связано с рядом трудностей, обусловленных тем, что клевер луговой представляет собой самонесовместимый перекрестноопыляемый вид, который при самоопылении в естественных условиях, а также и в контролируемых скрещиваниях образует незначительное количество семян с высокой степенью гетерогенности признаков в последующих семенных поколениях (F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, и т.д.).

. Микроразмножение в культуре *in vitro* обеспечивает получение генотипов клевера лугового в необходимом количестве и их длительное сохранение. Однако при размножении трансгенных растений таким способом возникли некоторые проблемы. В связи с тем, что питательная среда содержит уменьшенную вдвое концентрацию всех входящих в ее состав компонентов, наблюдается быстрая регенерация интактных растений с корнями, а морфогенная ткань, необходимая для длительного поддержания в культуре *in vitro* коллекции трансгенных растений клевера лугового, не образуется. Кроме того, размножение данным способом осуществляется на питательных средах, не содержащих селективный фактор – канамицин. Это значительно увеличивает риск получения в процессе размножения нетрансгенных растений. Нами разработан способ размножения трансгенных растений клевера лугового методом культуры почек *in vitro* (1).

Целью наших исследований является сравнительное изучение вегетативного потомства различных клонов вегетирующих трансгенных растений клевера лугового, полученного вышеназванным методом.

Материалы и методы. Проводили микроразмножение вегетирующих трансгенных растений клонов T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> клевера лугового, созданных с помощью генетических конструкций, содержащих маркерный ген канамицинустойчивости *nptII* из сорта Топаз селекции ВНИИ кормов им. В.Р.Вильямса, и характеризующиеся повышенной кислотостойкостью.

Микроразмножение трансгенных растений клевера лугового осуществляли разработанным нами методом (1).

Результаты. В процессе разработки способа размножения трансгенных растений клевера лугового методом культуры почек *in vitro* нами определены оптимальные размеры эксплантов (почек). Так, 54,4% почек размером не менее 4 мм после 3 недель культивирования на питательной агаризованной среде Гамборга В<sub>5</sub> с 2,0 мг/л БАП и 50 мг/л селективного фактора канамицина оставались зелеными и увеличивались в размере в среднем до 6,2 мм. Тогда как число выживших почек размером менее 4 мм не превышало 9,2%, и из них только 0,1% оставались зелеными (1).

В связи с этим для размножения вегетирующих трансгенных растений клонов Т<sub>1</sub>, Т<sub>2</sub>, Т<sub>3</sub>, Т<sub>4</sub> использовали пазушные почки размером не менее 4 мм. При этом число выживших и инфицированных почек как в варианте без канамицина (контроль), так и с 50 мг/л

Таблица 1. Выживаемость почек трансгенных растений клевера лугового в культуре *in vitro*

Число эксплантов	Состав питательной среды									
	Гамборга В <sub>5</sub> с 2,0 мг/л БАП (контроль)					Гамборга В <sub>5</sub> с 2,0 мг/л БАП и 50 мг/л канамицина				
	Т <sub>1</sub>	Т <sub>2</sub>	Т <sub>3</sub>	Т <sub>4</sub>	Средн.	Т <sub>1</sub>	Т <sub>2</sub>	Т <sub>3</sub>	Т <sub>4</sub>	Средн.
Инфицированных	10,1	10,9	11,1	12,3	11,1	12,1	9,9	10,9	11,1	10,9
Выживших	89,7	80,3	85,4	91,2	84,2	80,9	85,4	83,1	86,0	83,9
Из них альбиносы	0	0	0	0	0	5,1	4,3	4,9	4,7	4,8

канамицина существенно не различались (84,2%; 83,9% и 11,1%; 10,9%) (табл.1).

Для получения морфогенной ткани с зелеными побегами (устойчивыми к селективному фактору канамицину) на агаризованную питательную среду Гамборга В<sub>5</sub> с 2,0 мг/л БАП и 50 мг/л канамицина помещали зеленые почки не менее 4,0 мм и субкультивировали несколько пассажей на среде того же состава до получения морфогенной ткани с зелеными побегами. После 20 дней культивирования на агаризованной питательной среде Гамборга В<sub>5</sub> с 2,0 мг/л БАП и 50 мг/л канамицина образовалась морфогенная ткань только с зелеными побегами (табл.2). Во втором пассаже число культур со смешанными побегами (альбиносными и зелеными) варьировало от 39,2% до 46,5%, а число культур с зелеными побегами было больше и составляло от 53,5 до 60,8%.

Таблица 2. Влияние длительности культивирования на канамицинсодержащих средах на выход морфогенной ткани с зелеными побегами

Номер пассажа	Морфогенная ткань с побегами, %									
	смешанными					зелеными				
	Т <sub>1</sub>	Т <sub>2</sub>	Т <sub>3</sub>	Т <sub>4</sub>	Средн.	Т <sub>1</sub>	Т <sub>2</sub>	Т <sub>3</sub>	Т <sub>4</sub>	Средн.
1	0	0	0	0	0	100	100	100	100	100
2	43,1	39,2	46,5	40,4	42,3	56,9	60,8	53,5	59,6	57,7
3	47,7	50,7	48,6	50,9	49,5	52,3	49,3	51,4	49,1	50,5
4	9,2	10,1	4,9	8,7	8,2	90,8	89,9	95,1	91,3	91,8

Несмотря на то, что для каждого последующего пассажа отбирали кусочки морфогенной ткани только с зелеными побегами, и в 3-м пассаже почти половина культур в среднем (49,5%) имела смешанные побеги, а число культур с зелеными побегами снизилось в среднем с 57,7% до 50,5% и только в 4-м пассаже это число выросло до 91,8%.

Таким образом, для получения растений-трансформантов клевера лугового использовали морфогенную ткань 4-го пассажа, культивируемую на питательной среде с канамицином.

Образующиеся из зеленых побегов растения-регенеранты с корнями не менее 50 мм высаживали в стаканчики с почвой, а затем по достижении фазы 5-6 настоящих тройчатых листьев в грунтовую теплицу при индивидуальном стоянии по 40 растений-регенерантов каждого клона (Т и Р) клевера лугового.

Сравнительное изучение морфобиологических показателей трансгенных растений и их вегетативного потомства (табл.3) не выявило существенных различий при 5%-ном уровне значимости по высоте растений, числу стеблей, цветков, семян в соцветии.

Поскольку размножаемые трансгенные растения клевера лугового обладали свойством кислотоустойчивости, то сохранение данного признака растениями вегетативного

Таблица 3. Сравнительное изучение морфобиологических показателей трансгенных растений (Т) и их вегетативного потомства (Р)

Генотип	Высота растений, см		Количество, шт.							
			стеблей		соцветий		цветков в соцветии		семян в соцветии	
	средняя	% к Т	среднее	% к Т	среднее	% к Т	среднее	% к Т	среднее	% к Т
Т	75,3	100,0	29,5	100,0	78,75	100,0	75,0	100,0	2,25	100,0
Р	74,8	99,3	29,25	99,2	82,5	104,8	75,5	100,7	2,5	111,1
НСР <sub>05</sub>	9,48		3,46		2,01		3,01		1,71	

потомства важное условие при использовании разработанного нами способа (1).

В экспериментах по сравнительной оценке кислотоустойчивости трансгенных растений и их вегетативного потомства в агаризованную среду Гамборга В<sub>5</sub> с 2,0 мг/л БАП, 50,0 мг/л канамицина как для культивирования исходной морфогенной ткани, так и для полученной в процессе вегетативного размножения, добавляли 50 мг/л ионов алюминия (Al<sup>3+</sup>). Установлено, что между растениями изучаемых клонов различий по средней массе побегов и корней, средней длине побегов и корней не выявлено.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанный способ размножения трансгенных растений клевера лугового методом культуры почек *in vitro* обеспечивает получение растений вегетативного потомства, сохраняющих селекционно-ценные признаки, в том числе кислотоустойчивость, исходных трансгенных растений.

В связи с высокой самостерильностью при самоопылении в изолированных условиях размноженные растения, также как и исходные, отличались низкой завязываемостью семян, что еще раз подтверждает актуальность разработки вышеназванного способа размножения трансформированных растений клевера лугового.

Кроме того, разработанный способ позволяет повторно вводить в культуру *in vitro* генетически трансформированные растения клевера лугового, получать и длительно культивировать морфогенную ткань трансформированных растений, проводить генетические исследования, изучать экспрессию генов в вегетативно размноженных растениях клевера лугового.

### Список литературы:

1. Патент 2617944 Российской Федерации Способ размножения трансгенных растений клевера лугового методом культуры почек *in vitro*. / Солодка Л.А., Агафодорова М.Н., Лапотышкина Л.И. - №2617944; заявлено 09.11.2015; Опубликовано 28.04.2017, бюл.№13.

УДК 633.11