

Финансирование: Работа выполнена научно-исследовательским институтом сельского хозяйства Северного Зауралья ТюмНЦ СО РАН в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FWRZ-2021-0015).

Список литературы

- 1 Чиганцев Н.П. Продуктивность ярового ячменя и условия ее формирования // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 2006. Т. 162. С. 74–77.
- 2 Сурин Н.А., Ляхова Н.Е., Зобова Н.В. Потенциал засухоустойчивости сортов ярового ячменя красноярской селекции// Сибирский вестник с.-х. науки 2003. № 2 (148) С. 7–11.
- 3 Сурин. Н.А., Ляхова Н.Е., Герасимов С.А., Липшин А.Г. Экологическая селекция ячменя в Средней Сибири: монография. Красноярск, 2023. 333 с.

DOI 10.18699/GPB2024-94

Повышение эффективности получения удвоенных гаплоидов моркови столовой (*Daucus carota* L.) за счет повышения эффективности удвоения ДНК и эмбриогенного потенциала культуры микроспор

Фомичева М.Г.^{1*}, к.б.н., н.с., Кулаков Ю.В.^{1,2}, м.н.с.

¹Федеральный научный центр овощеводства, Москва, Россия

²РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

*email: maria.fomicheva.1@yandex.ru

Для повышения эффективности удвоения генома гаплоидной моркови столовой мы протестировали различные варианты обработки антимитотическими агентами – колхицином и трифлуралином. Наилучшие результаты наблюдались при обработке 3,35 г/л трифлуралином в течение 48 часов, при котором не оказывает токсического действия на растения и происходило удвоение хромосомного набора в 100 % случаев. Для повышения эмбриогенного потенциала культуры микроспор моркови столовой *in vitro* были подобраны антиоксиданты и адсорбенты для тестирования их эффективности в качестве ингибиторов этилена и фенольных соединений.

Ключевые слова: морковь столовая, ДН-технологии, антиоксиданты, антимитотические агенты.

Increasing the efficiency of obtaining doubled haploids of table carrots (*Daucus carota* L.) by increasing the efficiency of DNA doubling and the embryogenic potential of microspore culture

Fomicheva M.G.^{1*}, Kulakov Y.V.^{1,2}

¹Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Center for Vegetable Growing, Moscow, Russia

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education RGAU – Moscow

To increase the efficiency of genome doubling in haploid carrot plants, we performed different treatments with antimitotic agents colchicine and trifluralin. The best results were observed when plants were treated with 3.35 g/l trifluralin for 48 hours. This treatment protocol did not have a toxic effect on plants and the chromosome set doubled in 100 % of cases. To increase the embryogenic potential of carrot microspore culture in vitro, antioxidants and adsorbents were selected to test if they can effectively inhibit ethylene and phenolic compounds.

Key words: carrot, DH-technologies, antioxidants, antimitotic agents.

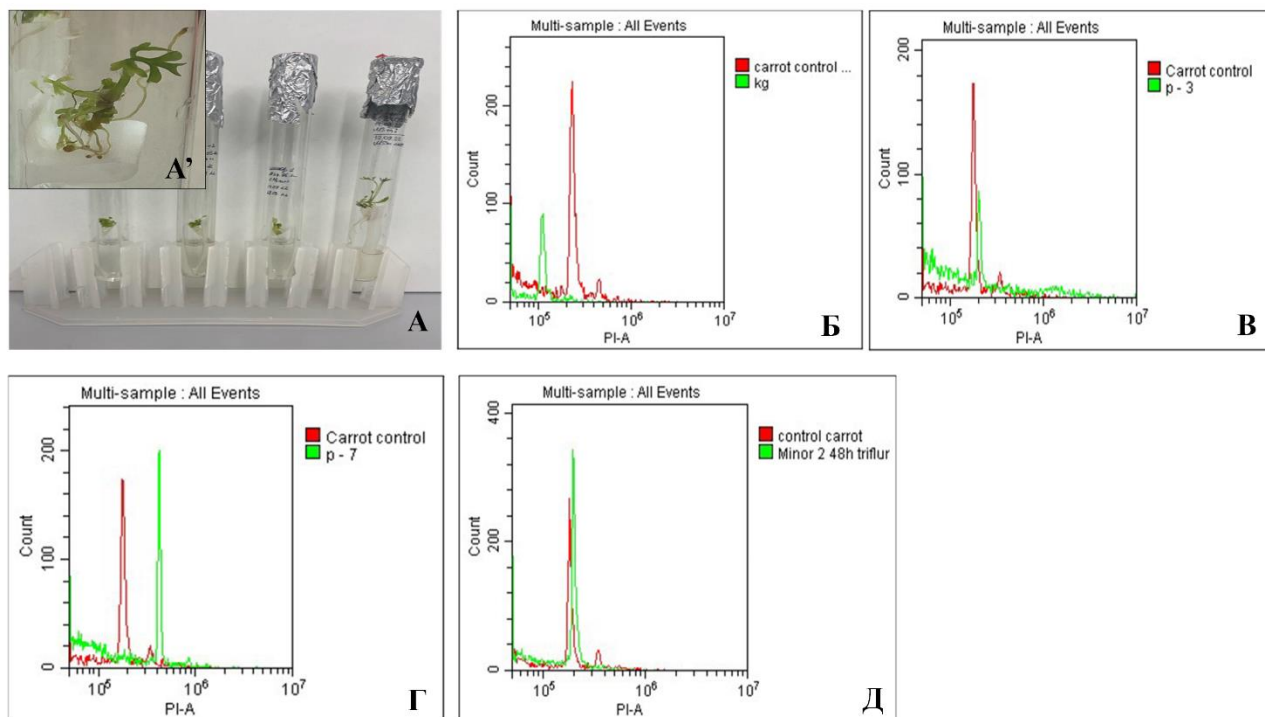
Технологии удвоенных гаплоидов (ДН-технологии) позволяют получать чистые линии сельскохозяйственно ценных растений за одно поколение. Это особенно важно для таких культур, как морковь столовая (*Daucus carota* L.), селекция которой усложнена развивающейся инбредной депрессией и двухлетним циклом развития. ДН-технология моркови усложнена низким эмбриогенным потенциалом культуры микроспор, а также низким процентом спонтанного удвоения генома.

Без удвоения хромосомного набора растения-гаплоиды остаются стерильными и не могут использоваться в селекционных программах. Когда спонтанного удвоения генома не происходит, проводится удвоение ДНК с помощью антимитотических агентов, которые нарушают веретено деления, в результате чего хромосомы не расходятся, и в клетке остается двойной набор хромосом. Данные обработки осложнены их токсическим действием на растения, а также возникновением миксоплоидных и полиплоидных растений, поэтому этот этап требует отработки и поиска наиболее оптимального протокола.

На сегодняшний день существует мало достоверных исследований об индуцированном удвоении хромосом у растений семейства зонтичных (*Apiaceae*), в том числе полученных при использовании гаплоидных технологий [1]. Поэтому была поставлена цель разработать метод удвоения генома растений моркови столовой, полученных в культуре изолированных микроспор *in vitro*. Для достижения данной цели была поставлена задача подобрать антимитотический агент и время обработки для успешного удвоения генома и минимизации токсического эффекта на растения-регенеранты.

В качестве антимитотических агентов были выбраны наиболее часто используемый для этих целей агент – колхицин [2] а также трифлуралин, который успешно применялся для удвоения ДНК, в частности, у рапса (*Brassica napus* L.) [3]. По нашим сведениям, трифлуралин не тестировался в качестве антимитотического агента для видов семейства *Apiaceae*. Эксперименты проводились на гаплоидных растениях-регенерантах, полученных в культуре микроспор моркови столовой (см.

рисунок, А, А'), плоидность которых была определена при помощи анализа клеточных ядер с использованием проточного цитометра Beckman Coulter (USA). Обработку водным раствором колхицина (500 мг/л) проводили на 16 клонках гаплоидного растения генотипа моркови столовой Минор (размножен за счет вторичного эмбриогенеза) в течение 24 или 48 часов. Обработке водным раствором трифлуралина (3,35 г/л) в течение 24 или 48 часов подвергали микроклонально размноженные растения-регенеранты генотипа Минор, Алтайская лакомка и с.о. 44. Эксперимент был проведен на 18 растениях-регенерантах по шесть растений на каждый генотип.



Использование колхицина и трифлуралина для удвоения генома моркови столовой:

А – Гаплоидные растения-регенеранты, помещенные на бумажный мостик в стеклянные пробирки с жидкой питательной средой MSm после обработки антимицотическими веществами. А' – увеличенное фото растения-регенеранта. Б-В – цитометрический анализ изолированных ядер образцов моркови, покрашенных иодидом пропидия. Наложение гистограммы диплоидного образца моркови (стандарт, красная гистограмма) и гистограммы моркови генотипа Минор после обработки антимицотическим агентом в течение 48 часов (зеленая гистограмма) после шести недель культивирования; Б – контрольный гаплоидный образец моркови В – образец моркови, обработанный 500 мг/л колхицина, у которого произошло увеличение плоидности до диплоидного (2n) значения; Г – образец моркови, обработанный 500 мг/л колхицина, у которого произошло увеличение плоидности до тетраплоидного (4n) значения. Д – образец моркови, обработанный 3,35 г/л трифлуралина, у которого произошло увеличение плоидности до диплоидного (2n) значения

Цитометрический анализ растений, обработанных колхицином, спустя шесть недель показал, что в контроле без обработки растения оставались гаплоидными (см. рисунок, Б), а при использовании временной экспозиции в 48 часов у растений произошло увеличение хромосомного набора: два растения стали диплоидными (25 %) (см. рисунок, В), а шесть – тетраплоидными (75 %) (см. рисунок, Г). При использо-

вании водного раствора трифлуралина в течение 48 часов у всех растений произошло увеличение хромосомного набора до диплоидного уровня (см. рисунок, Д). Временная экспозиция в 24 часа не приводила к удвоению хромосомного набора при обработке колхицином или трифлуралином у всех растений-регенерантов.

Повышение эмбриогенного потенциала культуры микроспор моркови также является важной задачей для усовершенствования ДН-технологии моркови. Одной из причин, приводящих к ухудшению выживаемости микроспор и эмбриоидов является высокое содержание этилена и фенольных соединений. Мы изучили литературу для выявления потенциальных веществ-ингибиторов токсических соединений, накапливающихся в культуре микроспор моркови столовой. Мы отобрали различные адсорбенты и вещества-восстановители для ингибирования негативного воздействия этилена и фенольных соединений (см. таблицу) [4, 5]. Мы протестируем разные концентрации и комбинации указанных веществ, чтобы определить, что эффективно ингибирует окисление фенольных соединений и нетоксично для делящихся микроспор.

Вещества, отобранные для тестирования в культуре микроспор моркови столовой *in vitro* с целью повышения выхода эмбриоидов

Вещество	Рабочие концентрации
Аскорбиновая кислота	1–20 мг/л
Лимонная кислота	1–20 мг/л
PVP	100–1000 мг/л
Глутатион	1–2,5 мг/л
Тиосульфат натрия	100–300 мг/л
Нитрат серебра	2–10 мг/л
Коллоидный оксид кремния (Полисорб)	2–10 г/л
Полигидрат полиметилсилоксана (Энтеросгель)	2–10 г/л

Таким образом, наши данные показали, что обработка 500 мг/л колхицином и 3,35 г/л трифлуралином при используемом времени экспозиции (24–48 часов) не оказывает токсического действия на растения моркови. Впервые для моркови столовой применялся трифлуралин для удвоения хромосомного набора. При этом было показано, что трифлуралин с большей эффективностью приводит к удвоению генома по сравнению с колхицином. Также были подобраны вещества и их концентрации для снижения токсического действия этилена и фенольных соединений, однако требуется их тестирование в культуре микроспор моркови столовой *in vitro*.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ в рамках научного проекта № 23-76-01034.

Список литературы

- 1 Seguí-Simarro, J.M., Jacquier, N.M.A., Widiez, T. Overview of *in vitro* and *in vivo* doubled haploid technologies. In Doubled Haploid Technology. Methods in Molecular Biology. Seguí-Simarro, J.M., Ed. // Humana: New York, NY, USA. 2021. Vol. 2287. P. 3–22.
- 2 Leung Y.Y., Hui L.L.Y., Kraus V.B. Colchicine—update on mechanisms of action and therapeutic uses. Semin Arthritis Rheum. 2015. Vol. 45. № 3. P. 341–350.
- 3 Zhao J.-P., Simmonds D.H. Application of trifluralin to embryogenic microspores to generate doubled haploid plants in *Brassica napus*. // *Physiol Plant*, in Press. 1995.
- 4 Pugacheva, A., Bikmetova, K., and Smirnova, Y. Sorbents of phenols as a components of the nutritional medium in microclonal reproduction of plants. Natural Systems and Resources. 2021. Vol. 3. P. 39–48.
- 5 Зюзина, Ю. А. Влияние синтетического аморфного диоксида кремния на растения *Rhododendron roseum* (L.) в культуре *in vitro*. Разнообразие растительного мира. 2017. Т. 2. № 10. С. 48–54.

DOI 10.18699/GPB2024-95

Интродукция и селекция теплолюбивых овощных растений в Сибири

Фотев Ю.В.^{1,2}, к.с.-х.н., с.н.с.

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (ЦСБС СО РАН),
Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия
email: fotev_2009@mail.ru

На основе выполненных в ЦСБС СО РАН в более чем 240 комбинациях культурного томата с 13 дикорастущими видами и разновидностями созданы продуктивные и устойчивые к низкой температуре, кладоспориозу (*Cladosporium fulvum* Cooke), и ВТМ межвидовые гибридные формы. В результате интродукции и селекции культур из семейства *Fabaceae* – спаржевой вигны (*Vigna unguiculata* Walp.) и семейства *Cucurbitaceae* – кивано (*Cucumis metuliferus* E. Mey), момордики (*Momordica charantia* L.) и бенинказы (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.), изучению их биохимического состава, морфо-биологических особенностей, холодостойкости и устойчивости к патогенным микромицетам созданы 5 сортов, включенных в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Созданы симбиотические системы, включающие сорта вигны Сибирский размер, Юньнаньская и штаммы *Bradyrhizobium* sp. 162 0501 и 164 0503. Межвидовые гибриды томата и новые для РФ овощные интродуценты отличаются более высоким содержанием аскорбиновой кислоты, каротиноидов и микроэлементов – Fe, Mn, , Zn, Cu, Co. На основе комплексной оценки теплолюбивых овощных культур созданы методические основы их интродукции и селекции.

Ключевые слова: теплолюбивые овощные культуры, интродукция, селекция, Сибирь.