

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ГАПЛОПРОДЮСЕРА

Чекалин А. А.¹, Дуванов И. В.¹, Попова О. В.¹, Пронина И. В.¹, Долгов С. В.^{2,3},
Мирошниченко Д. Н.^{1,2,3}

¹ФГБНУ Федеральный исследовательский центр "Немчиновка", 143026, Московская обл.,
г.п. Одинцово, р.п. Новоивановское, ул. Агрохимиков д. 6;

²ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
биотехнологии, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская д. 42;

³Филиал ФГБНУ ГНЦ Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, пр. Науки, д. 6
sasha.chekalin.98@mail.ru

Последние десятилетия гаплоидные биотехнологии стали неотъемлемой частью селекционных программ для многих зерновых культур. Одним из методов получения гаплоидов пшеницы является метод отдаленной гибридизации пылью кукурузы, часто называемый методом гаплопродюсера. Благодаря меньшей чувствительности пыльцы кукурузы к генам-ингибиторам скрещиваемости, данный метод позволяет индуцировать до 50% гаплоидных зародышей даже у слабо отзывчивых генотипов пшеницы. Поиск способов и подходов, повышающих эффективность гаплоидогенеза и увеличивающих выход дигаплоидизированных растений, по-прежнему, актуален.

Цель исследований - повышение гаплопродукционной способности гибридов яровой мягкой пшеницы в системах *Triticum aestivum* L. x *Zea mays* L. через совершенствование различных биотехнологических подходов. Показано, что опрыскивание колосьев либо внесение раствора ауксина 2.4-Д непосредственно на рыльце пшеницы одинаково успешно позволяет индуцировать формирование гаплоидных зерновок и гаплоидных зародышей после опыления колосьев пшеницы пылью кукурузы. Исследования показали, что дигаплоидизация растений-регенерантов *in vitro*, вместо растений *ex vitro* (стандартный подход), является одним из приемов, сокращающих время и затраты на получение дигаплоидных растений и повышающим эффективность гаплоиндукции. Колхицинирование гаплоидных растений *in vitro* позволило повысить долю выживших растений с 73% (*ex vitro* растения) до 94%, сохранить эффективность выхода дигаплоидных растений (73% против 69% у *ex vitro* растений), а также увеличить среднее число семян на одном дигаплоидном растении с 53 шт. (*ex vitro* растения) до 75 шт. Проведение комплекса биотехнологических работ в системах *T. aestivum* x *Z. mays* позволило достичь высокой эффективности завязывания гаплоидных зерновок (79-91%) при опылении пылью кукурузы растений семи гибридов F₁, полученных в лаборатории селекции и первичного семеноводства яровой пшеницы ФИЦ «Немчиновка». Эффективность гаплоидного эмбриогенеза определялась гибридным генотипом, максимальную (37%) наблюдали у F₁ Фаворит x Юбилейная 60, минимальную (26%) – у F₁ Русалина x Дарья. Регенерация гаплоидных зародышей *in vitro* варьировала в пределах от 68% (F₁ Альбидум 6 x Московская 35) до 83% (F₁ Фаворит x Юбилейная 60). Эффективность выхода полноценных дигаплоидных растений составляла 8-20 растений после гибридизации 100 цветков яровой мягкой пшеницы пылью гаплопродюсера. Полученные результаты будут использованы для ускорения селекционного процесса, способствуя обнаружению редких рекомбинаций и рецессивных мутаций, получения генетически стабильной рекомбинации признаков.

IMPROVEMENT OF TECHNOLOGY FOR OBTAINING DOUBLED HAPLOIDS OF COMMON WHEAT USING HAPLOIDY INDUCER

Chekalin A. A.¹, Duvanov I. V.¹, Popova O. V.¹, Pronina I. V.¹, Dolgov S. V.^{2,3},
Miroshnichenko D. N.^{1,2,3}

¹Federal Research Center "Nemchinovka", 143026, Moscow region, Odintsovo, Novoivanovskoye,
st. Agrokhimikov, 6;

²All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, 127550, Moscow,
st. Timiryazevskaya, 42;

³Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, 142290, Moscow region,
Pushchino, Nauki ave., 6
sasha.chekalin.98@mail.ru

In recent decades, haploid biotechnologies have become an integral part of breeding programs for many grain crops. The inter-specific hybridization with pollen of the haploidy inducer, such as maize, is one of the methods for obtaining wheat haploids. Due to the lower sensitivity of maize pollen to genes that inhibit crossbreeding, this method allows inducing up to 50% of haploid embryos even in weakly responsive wheat genotypes. The search for methods and approaches that increase the efficiency of haploidogenesis and the yield of double haploid plants is still relevant.

The aim of the research was to increase the haploproductive capacity of spring common wheat F1 hybrids in *Triticum aestivum* L. x *Zea mays* L. systems through the application of various biotechnological approaches. It has been shown that spraying ears or applying auxin 2.4-D solution directly to the wheat stigma equally successfully induces the development of haploid caryopses and haploid embryos after pollination with maize pollen. Studies have shown that chromosome doubling of *in vitro* plantlets instead of *ex vitro* plants (standard protocol) is one of the techniques increasing the efficiency and reducing the time and the cost of obtaining doubled haploid plants. The treatment of *in vitro* haploid plantlets made it possible to increase the portion of surviving plants from 73% (*ex vitro* plants) to 94%, maintain the appropriate yield of doubled haploid plants (73% versus 69% for *ex vitro* plants), and increase the average number of seeds from 53 (*ex vitro* plants) to 75 per one doubled haploid plant. A complex of modified biotechnological approaches allowed achieving high efficiency of haploid caryopsis formation (79-91%) after the pollination with maize pollen of seven F1 hybrids provided by the laboratory of breeding and primary seed production of spring wheat of the Federal Research Center "Nemchinovka". The efficiency of haploid embryogenesis was dependent from the hybrid genotype; the maximum efficiency (37%) was observed in F1 Favorit x Yubileynaya 60, the minimum (26%) was found in F1 Rusalina x Daria. Ratio of *in vitro* regeneration of haploid embryos varied from 68% (F1 Albidum 6 x Moskovskaya 35) to 83% (F1 Favorit x Yubileynaya 60). The efficiency of generating doubled haploid seedy plants was 8-20 plants per 100 flowers of wheat pollinated with a haploidy inducer. The obtained results will be used to accelerate the breeding process, facilitating the detection of rare combinations, recessive mutations and producing the genetically stable breeding lines.