

Получение и изучение линий удвоенных гаплоидов озимой мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом *Aegilops umbellulata* и *Aegilops speltoides*

В.И. Басов*, Э.Р. Давоян, А.А. Кресамова, А.Н. Зинченко, Е.И. Чиркова, В.А. Бибишев, И.В. Бебякина, Р.О. Давоян

ФГБНУ Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

* basovv.i.2142@gmail.com

Цель: Получение методом культуры пыльников и изучение линий удвоенных гаплоидов озимой мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом *Aegilops umbellulata* и *Ae. speltoides*.

Материалы и методы: В работе были использованы 12 интрогрессивных линий мягкой пшеницы *Triticum aestivum*, несущих чужеродный генетический материал от *Ae. speltoides* (S) – T1DS.1DL-1S; T2DS.2DL-2SL; T5BS.5BL-5SL; 4D(4S) и *Ae. umbellulata* (U) – T7US-7DS.7DL, переданный от синтетической формы RS7 (BBAAUS). Отбор колосьев проводился в полевых условиях на экспериментальных делянках НЦЗ им. П.П. Лукьяненко.

В работе использовались питательные индукционные среды Pot4mf с добавлением сахарозы (90 г/л) и гелерита (1 г/л) с несколькими вариантами гормонального состава: 2,4-D – 1,5 мг/л, α-НУК – 0,3 мг/л, кинетин – 0,5 мг/л – среда № 1; 2,4-D – 0,7 мг/л, α-НУК – 0,3 мг/л, кинетин – 0,7 мг/л – среда № 2 и регенерационной среде Мурасиге-Скуга (MS) без добавления гормонов. Пыльники (30–50 штук с колоса), предположительно несущие микроспоры в одноядерной сильновакуолизированной стадии были помещены на оба варианта индукционных сред в чашки Петри. Далее производилась короткая шоковая высокотемпературная обработка с дальнейшим понижением температуры для инкубации. Полученные эмбриониды, достигшие размера 1–1,5 мм, переносились на среду MS и инкубировались в условиях фитотронной камеры. Зеленые регенеранты перемещались на яровизацию в пробирках на 45 дней. После чего проводилась пересадка в грунт для дорастивания до стадии кушения. Определение плоидности производилось методом анализа длины замыкающих клеток устьиц. Растения, определенные как гаплоиды, подвергали обработке колхицином (колхицина 0,2% в 2%-м водном растворе диметилсульфоксида (DMSO)). Эффективность андрогенеза оценивалась на основе следующих показателей: число эмбрионидов на 100 пыльников, число альбиносных регенерантов на 100 пыльников, число зеленых растений на 100 пыльников.

Результаты: Для отобранных генотипов были получены зеленые регенеранты и альбиносы, а также ризогенные эмбриониды. При получении линий, удвоенных гаплоидов наблюдались различия в отзывчивости исследуемых генотипов на условия культивирования пыльников. Так, на среде № 1 средний показатель количества эмбрионидов на 100 пыльников составил 2,17, и варьировал от 0 (у линии 55/23 до 10,32 у линии 49/23, а на среде № 2 составило 2,9 и варьировало от 0 у линий 19/23, 31/23 до 16,7 у линии 54/23. Несмотря на то что на среде № 2 получено в среднем больше эмбрионидов, выход зеленых растений на этой среде был на 27,3 процента меньше, чем на среде № 1. Линия 54/23 имела схожие результаты по получению зеленых регенерантов на обеих питательных средах (12 на среде № 1, 15 на среде № 2), однако среднее число зеленых растений на 100 пыльников на используемых средах оказалось малым (0,23 на среде № 1 и 0,17 на среде № 2). Стоит отметить, что для всех генотипов наблюдалось очень низкое образование альбиносов в среднем на 100 пыльников, 0,06 для среды № 1 и 0,05 для среды № 2, при этом у них выявлена высокая частота образования ризогенного каллуса (58,4% для среды № 1 и 53,5% для среды № 2). Средний процент образования самоудвоенных растений составил 28,1% (16 из 57 регенерантов были определены как спонтанно удвоенные).

Выводы: В целом, отобранные генотипы проявили низкую способность к андрогенезу. В этой связи для повышения эффективности метода необходимо продолжить работу по оптимизации сред и условий культивирования. В то же время важно отметить, что у пяти линий (19/23, 26/23, 54/23, 55/23 и 60/23) наблюдался высокий процент выхода самоудвоенных растений.