

*Сельскохозяйственные науки***ВЛИЯНИЯ КОНСИСТЕНЦИИ
ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ
И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
НА МОРФОГЕНЕЗ ПОДСОЛНЕЧНИКА
IN VITRO**

Лобачев Ю.В., Костина Е.Е., Ткаченко О.В.

ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ
имени Н.И. Вавилова», Саратов,
e-mail: lobachevuyuv@gmail.com

На современном этапе развития селекции растений важное значение приобретают методы получения растений-регенерантов в культуре клеток и тканей *in vitro*. Способность клеток и тканей к росту и развитию *in vitro* определяется генотипом растения-донора и условиями культивирования.

Целью исследования являлось изучение влияния консистенции питательной среды и генетических факторов (гены *l*, *la*, *o*, *pa*) на морфогенез подсолнечника *in vitro*.

В качестве изучаемого материала использовали набор модельных линий, несущих аллели генов *l*, *la*, *o*, *pa*, контролирующей нестандартную окраску язычковых цветков подсолнечника, созданных в генофоне линии ЮВ-28Б, служившей в проводимых экспериментах стандартом. Незрелые зародыши помещали на жидкую или с содержанием агара 8 г/л питательную среду Мурасиге-Скуга и с добавлением гидролизата казеина 400 мг/л, фитогормонов 6-бензиламинопурина (6БАП) 4 мг/л и нафтилуксусной кислоты (НУК) 2 мг/л. Экспланты, высаженные на питательные среды, культивировали в темноте при температуре 25°C.

Для регенерации использовали питательную среду Мурасиге-Скуга с добавлением 6-бензиламинопурина (6БАП) 0,5 мг/л, гидролизата казеина 500 мг/л и инозита 100 мг/л. Пробирки с новообразованиями помещали на свет и культивировали при температуре 25°C. Полученные данные обрабатывали методом двухфакторного дисперсионного анализа.

Морфогенез клеток растений *in vitro* может происходить различными путями – от дифференцировки отдельных клеток до развития целого растения. Регенерация растений *in vitro* может осуществляться прямым или непрямым органогенезом либо соматическим эмбриогенезом (Ozyigit I.I. at all., 2007). В наших исследованиях наблюдалось несколько путей морфогенеза: каллусогенез, прямой органогенез и соматический эмбриогенез из клеток каллуса.

Анализ экспериментальных данных показал, что на жидкой среде клетки активно делились без дифференциации и формировалась масса каллусных клеток неокрашенных и активно пролиферирующих. На твёрдой среде с

агаром преимущественно наблюдалась прямая регенерация побегов из клеток эксплантов, при этом каллус образовывался плотный и меньшего объёма. Рыхлые, оводнённые каллусы со временем подвергались некрозу. На морфогенных каллусах формировались плотные молочного цвета зоны меристематической активности, которые после пассирования окрашивались и формировали от 1 до 12 почек.

В ряде случаев после нескольких пассирований на части побегов наблюдалось образование одной или нескольких корзинок, что негативно сказывается на конечной регенерации растений. Подобное развитие побегов также отмечали и другие исследователи (Ozyigit I.I. at all., 2007).

Двухфакторный дисперсионный анализ данных показал, что достоверные различия наблюдались между генотипами и при взаимодействии факторов «генотип-среда». У всех генотипов наблюдалось преимущество каллусогенеза на жидкой среде и усиление регенерации на твёрдой среде. По данным ряда авторов увеличение концентрации агара в среде в целом повышает уровень дифференциации клеток и регенерации побегов, а использование жидкой среды активизирует процесс каллусогенеза.

Анализ полученных на 28 сутки культивирования новообразований показал, что каллус образовывался с различной частотой. В среднем за три года все изучаемые линии, несущие аллели генов *l*, *la*, *o*, *pa*, по показателю «индукция каллуса» достоверно превышали линию-стандарт ЮВ-28Б. Только у трех линий, несущих аллели генов *pa*, *la*, *l* на твердой питательной среде частота регенерации почек, листьев и побегов достоверно превышали стандарт.

Отсюда следует, что каллусы формировались у всех линий не зависимо от содержания в питательной среде агара, при этом введение в генофонд линии ЮВ-28Б генов *l*, *la*, *o*, *pa* повышало эффективность каллусогенеза. Регенерация почек и побегов существенно зависела от генотипа линий. Обнаружен достоверный положительный эффект на этот показатель только трех аллелей генов *pa*, *la* и *l*.

Таким образом, на жидкой питательной среде клетки экспланта преимущественно делились без дифференциации и формировалась каллусная ткань, которая стимулировала каллусогенез, а на твердой питательной среде преимущественно наблюдалась прямая регенерация. Использование маркерных генов *pa*, *la* и *l* оказывали положительное влияние на процессы каллусогенеза и регенерации подсолнечника *in vitro*, в то время как ген *o* не оказал существенного влияния.

Список литературы

1. Ozyigit I.I., Gozukirmizi N., Semiz B.D. Genotype dependent callus induction and shoot regeneration in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // African Journal of Biotechnology. – 2007. – Vol. 6 (13). – P. 1498–1502.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОВ
УСТОЙЧИВОСТИ К ЛИСТОВОЙ
РЖАВЧИНЕ В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ**

¹Лобачев Ю.В., ²Сибикеев С.Н., ¹Панькова Е.М.

¹ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ
имени Н.И. Вавилова», Саратов;

²ГНУ НИИСХ Юго-Востока РАСХН, Саратов,
e-mail: lobachevyuv@gmail.com

В связи с постоянной генетической изменчивостью патогена эффективность генов Lr (устойчивость к листовой ржавчине), недолговечны, поэтому необходимо постоянное изучение состава популяции патогенов в районе возделывания культуры, а также необходим постоянный поиск новых генов устойчивости, пригодных для селекции пшеницы. Собственный потенциал яровой мягкой пшеницы по генам устойчивости к листовой ржавчине в большей мере использован, и известные гены уже преодолены патогеном. Поэтому единственный выход – это интрогрессия генов устойчивости из других видов и родов. В Каталоге генных символов зарегистрировано более 70 генов устойчивости к листовой ржавчине (*Lr*-гены) (Catalogue of Gene Symbols for Wheat, 2013). Донорами 27-и из них являются родственные виды пшеницы, остальные же *Lr*-гены перенесены в пшеничный генофон с помощью отдаленной гибридизации от диких сорочидей и эффективность большинства из них во многих регионах высокая.

В межвидовой и межродовой гибридизации различают три вида генетических пулов – первичный, вторичный и третичный (Friebe B. et al., 1996; Ступина Н.В., 2006).

В первичный генпул входят:

- гексаплоидные виды пшеницы, содержащие ABD-геномы: *Triticum spelta* L., *Triticum vavilovii* Jakubz., *Triticum compactum* Host. и другие;

- тетраплоидные виды с АВ-геномами, в первую очередь сорта возделываемой твердой пшеницы – *Triticum durum* Desf., а также образцы *Triticum dicoccoides* (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf., *Triticum dicoccum* (Schränk.) Schuebl., *Triticum persicum* Vav. ex Zhuk. и другие;

- диплоидные виды, содержащие А-геном: *Triticum urartu* Thunb. ex Gandil., *Triticum boeoticum* Boiss., *Triticum monococcum* L. и другие; D-геном: *Aegilops tauschii* Coss.

Гены у первичного пула могут быть перенесены прямой гибридизацией, гомологичной рекомбинацией хромосом, обычным бекроссированием и отбором. Интрогрессия генов не требует специальных цитогенетических манипуляций, исключая, в некоторых случаях, сохранение и доразвивание зародышей гибридов F₁.

Ко вторичному генпулу относят близкородственные виды рода *Triticum* L. и *Aegilops* L., у которых хотя бы один из геномов гомологичный одному из геномов мягкой пшеницы, а также диплоидные виды рода *Aegilops* L. секции *Sitopsis*, которые несут геном S, близкородственный геному В мягкой пшеницы. Гены из вторичного пула могут быть интрогрессированы также путем гибридизации с последующим отбором после гомологичных рекомбинаций. Тем не менее, есть ряд трудностей в скрещиваемости, доразвивании зародышей гибридов F₁, восстановлении фертильности. Основным условием интрогрессии генов устойчивости из данных видов является нахождение их в хромосомах гомологичного мягкой пшеницы генома, если этого нет, то для переноса желательных генов цитогенетические манипуляции как для третичного пула.

Третичный генпул включает диплоидные и полиплоидные виды, содержащие геномы негомологичные пшеничным, тем не менее, геномы ряда видов данного пула генетически частично родственны (гомеологичны) геномам мягкой пшеницы. Для успешного переноса генов требуются специальные цитогенетические методы, индукция хромосомных транслокаций с помощью ионизирующей радиации, химического мутагенеза или культуры тканей *in vitro*. В большинстве случаев такие переносы включают целые хромосомные плечи или большую часть плеч и локализируются в терминальных участках хромосом, крайне редко в интерстилярных. В данном случае, для того, чтобы данная транслокация успешно использовалась в коммерческом сорте необходимо, чтобы она успешно замещала (компенсировала) вытесненный сегмент пшеничной хромосомы.

Из первичного генпула в геном *Triticum aestivum* L. перенесены следующие гены устойчивости к листовой ржавчине: *Lr14a* (*Triticum dicoccum* (Schränk.) Schuebl.), *Lr23* (*Triticum durum* Desf.), *Lr21*, *Lr22a*, *Lr32*, *Lr39*, *Lr40*, *Lr41*, *Lr42*, *Lr43* (*Aegilops tauschii* Coss.), *Lr44*, *Lr65*, *Lr71* (*Triticum spelta* L.), *Lr53*, *Lr64* (*Triticum dicoccoides* (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf.), *63* (*T. monococcum*) (Catalogue of Gene Symbols for Wheat, 2013).

Из них широкое распространение в практической селекции и как следствие в коммерческих сортах получили гены:

- *Lr14a* – сорта Hope, Selkirk, Inia 66, Саратовская 46 и их производные;

- *Lr23* – огромное количество сортов яровой и озимой мягкой пшеницы – Timstein, Gabo, PV 18, Саратовская 56;

- комбинации генов *Lr14* и *Lr23* с другими *Lr*-генами:

- *Lr14a* + *Lr10* + *Lr16* – в сорте Selkirk;

- *Lr14a* + *Lr13* + *Lr17* – в сорте Inia 66;

- *Lr23* + *Lr3* – в сорте Gamenua;

- *Lr23* + *Lr10* – в сортах Gabo, Lee, Timstein;