

Reference

1. Ob utverzhdenii Doktriny prodovol'stvennoi bezopasnosti Rossiiskoi Federatsii: Ukaz Prezidenta Ros. Federatsii ot 30 yanvarya 2010 g. №120 (On Approval of Food Security Doctrine of the Russian Federation: the Decree of the President Grew. Federation of January 30, 2010 №120), Sobranie zakonodatel'stva RF, 2010, St.502.
2. Inshakova, S.N., Emel'yanov, A.N. Ispol'zovanie fitomeliorantov v zemledelii Primorskogo kraia: monografiya (The Use of Phytomeliorants in Agriculture in Primorsky Region: Monograph), Ussuriisk, FGBOU VO Primorskaya GSKhA, 2016, 128 p.
3. O merakh po realizatsii gosudarstvennoi nauchno-tekhnicheskoi politiki v interesakh razvitiya sel'skogo khozyaistva: Ukaz Prezidenta Ros. Federatsii ot 24 iyulya 2016 g. (Concerning Measures to Implement the State Science and Technology Policy for Agricultural Development, The Decree of the President of the RF of July 24, 2016 No. 350.), 2016.

УДК 635.655

ГРНТИ 68.35.31

Ефремова О.С., канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр.;

Фисенко П.В., канд. биол. наук., ст. науч. сотр.,

Приморский научно-исследовательский институт сельского хозяйства,

пос. Тимирязевский, Уссурийский район, Приморский край, Россия

E-mail: fe.smc_rf@mail.ru

ВЛИЯНИЕ МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ МЕДИ НА УРОВЕНЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ РЕГЕНЕРАНТОВ СОИ

В статье представлены результаты исследований влияния ионов меди в питательной среде на регенерационную способность сои. Получено 88 регенерантных линий сои от 9 исходных форм, созданных на селективных средах с добавлением ионов меди. По биохимическим показателям четыре соматональные линии превысили показатели содержания в семенах масла и гистидина, снизив содержание линоленовой кислоты. Превышение над стандартом по содержанию масла составляло от 7,7-16,0%, содержанию гистидина – 24,6-75,3%, снижение содержания линоленовой кислоты – на 24,0-64,0%. Регенерантная линия R 1357 выделена как лучшая по некоторым достоверно превышающим стандарт признакам. Проведен подбор праймеров к различным ди- и тринуклеотидным микросателлитным повторам, дана оценка генетической изменчивости регенерантных линий сои с помощью метода ISSR. В результате исследования проанализировано семь сортообразцов сои с участием 9 праймеров к различным ди- и тринуклеотидным микросателлитным повторам. При анализе продуктов амплификации регенерантной линии 1357 и ее исходной формы – сорта Ходсон выявлены 53 фрагмента, 9 из которых оказались полиморфными (17%), остальные – мономорфные.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ (ИОНЫ), *IN VITRO*, МУТАГЕННЫЙ ФАКТОР, СЕМЯДОЛЬНЫЙ УЗЕЛ, СЕЛЕКТИВНАЯ СРЕДА, РЕГЕНЕРАЦИЯ, ГЕН, ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ.

UDC 635.655

Efremova O.S., Cand. Agr. Sci., Senior Research Worker;

Fisenko P.V., Cand. Biol. Sci., Senior Research Worker,

Primorsky Research Institute of Agriculture,

Village of Timiryazevsky, Ussuriysk District, Primorsky Territory, Russia

E-mail: fe.smc_rf@mail.ru

EFFECT OF MUTAGENIC ACTION OF COPPER IONS UPON THE LEVEL OF GENETIC VARIABILITY OF SOYBEAN REGENERANTS

The article presents the findings of investigations on effect of copper ions, being in the nutrient medium, upon regeneration ability of soybean. We have grown 88 regenerate lines of soybean using 9 original forms created on selective medium with the addition of copper ions. As for biochemical parameters, four somaclonal lines exceeded seeds' oil and histidine content and reduced the content of linolenic acid. Excess of oil content over the standard amounted to 7,7-16,0%, of histidine content – 24,6-75,3%, decrease in linolenic acid content by 24,0-64,0%. Regenerate line R1357 was marked as the best one that truly excels the standard in some parameters. We carried out the selection of primers for different di- and trinucleotide microsatellite repetitions; carried out the assessment of genetic variability of the regenerate lines of soybean using method of ISSR. The research resulted in analysis of seven variety samples of soybean with participation of 9 primers for various di- and trinucleotide microsatellite repetitions. Analysis of products of amplification of the regenerate line 1357 and its initial form - variety Hodson found out 53 fragments, 9 of which were polymorphic (17%), the rest – monomorphic.

KEY WORDS: HEAVY METALS (IONS), IN VITRO, MUTAGENIC AGENT, COTYLEDONARY NODE, SELECTIVE MEDIUM, REGENERATION, GENE, GENETIC VARIABILITY.

Введение. Тяжелые металлы (ТМ) в силу своей малоподвижности практически навечно остаются в биогеоценозах, постепенно накапливаясь с течением времени. Подобные концентрации, как правило, не настолько значительны, чтобы вызывать отравления, но их длительное воздействие может иметь генетические последствия [1]. Влияние на растения ионов тяжелых металлов в последнее время приобретает все большее значение среди большого числа абиотических факторов и может быть причиной ионного стресса у растений, что привлекает особое внимание исследователей. Ученые полагают, что накопление металлов в молекулах нуклеиновых кислот приводит к нарушению функционирования клеток [2-9]. В связи с этим, для получения нового исходного материала в целях выделения ценных генотипов, наряду с классическим методом – гибридизацией, используются возможности создания *in vitro* данных форм с применением в питательных средах ионов тяжелых металлов как мутагенного фактора.

Растения семейства бобовых могут аккумулировать значительное количество металлов (более 5 г/см³), в том числе и опасных для животных организмов тяжелых металлов [10]. Вместе с этим следует отметить узкий спектр исследований по сое в изложенном направлении, что подтверждает необходимость проведения экспериментов по использованию тяжелых металлов в качестве селективного фона *in vitro* при работе с культурой ткани в условиях расширения генотипической изменчивости хозяйственно ценных и адаптивных признаков сои.

Целью данной работы было определить в условиях *in vitro* влияние ионов меди на регенерационную способность сои и оценить уровень генетической изменчивости регенерантов.

Материал и методы исследований

Исследования проводили в лаборатории сельскохозяйственной биотехнологии ФГБНУ "Приморского НИИСХ" (2015-2017 гг.). Предметом исследований были сорта сои: Приморская 13, Ходсон, Приморская

81, Приморская 69, Приморская 301, Лидия и регенеранты: R362, R1 и R565.

Стерильные семена первоначально помещали на питательную среду Мурасиге и Скуга [11] в половинном составе макро- и микросолей (MS) с добавлением цитокинина 6-Бензиламинопурина (БАП) – среда А (контроль) и как мутагенного фактора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (6 мг/л, 12 мг/л) – среда А+ТМ.

Перевод пробирочных растений с нормально развитой корневой системой осуществляли в почвенный грунт (стерильный, ранее проавтоклавированный). Дальнейшее развитие растений R_0 получали в условиях культуральной комнаты: освещенность 3,5-4,0 тыс. люкс, $t +25^\circ\text{C}$, фотопериод 16 часов.

Биохимический состав семян исходных форм и регенерантных линий проведен на ИК-сканере Nig-42 (ВНИИ сои, г. Благовещенск).

Тотальную ДНК выделяли из фрагментов свежих или высушенных в лиофилизаторе листьев. ПЦР анализ полученных образцов проводили в двух-трех повторностях, используя термоциклеры Mj Mini (Bio-

Rad) и C-1000 Touch (Bio-Rad) в 25 мкл реакционной смеси. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 2% агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Визуализацию фрагментов ДНК проводили облучением УФ с помощью гель-документирующей системы Gel-Doc XR + (Bio-Rad). Для определения длины фрагментов использовался маркер молекулярных масс 100 bp DNA Ladder. Для каждого праймера составлены бинарные матрицы, где присутствие или отсутствие фрагмента с одной молекулярной массой обозначается «1» или «0», соответственно. На основании бинарных матриц рассчитаны основные показатели генетической изменчивости. Статистическую обработку полученных данных проводили с применением пакетов программ POPGENE, TFPGA.

Результаты и обсуждения

Результаты регенерации с использованием в качестве первичного экспланта семядольного узла на средах с содержанием двух разных концентраций меди приведены в таблице 1.

Таблица 1

Эффективность регенерации семядольных узлов на вариантах с различными концентрациями Cu^{+2}

Сорт, форма	Контроль				6 мг/л Cu^{+2}				12 мг/л Cu^{+2}			
	число регенерировавших семядольных узлов, %	продуктивность семядольных узлов, шт.			число регенерировавших семядольных узлов, %	продуктивность семядольных узлов, шт.			число регенерировавших семядольных узлов, %	продуктивность семядольных узлов, шт.		
		max	min	\bar{X}		max	min	\bar{X}		max	min	\bar{X}
Приморская 13	100,0	5	1	2,1	100,0	3	1	1,8	90,0	3	1	1,9
Ходсон	100,0	2	1	1,8	100,0	4	1	2,0	92,8	3	1	1,7
Приморская 69	92,0	3	1	1,9	100,0	2	1	1,6	93,4	2	1	1,3
Лидия	77,8	3	1	1,9	91,8	3	1	1,8	93,7	3	1	2,0
Приморская 301	84,0	2	1	1,6	91,7	2	1	1,1	100,0	2	1	1,4
Приморская 81	100,0	4	1	1,7	75,0	1	1	1,0	100,0	2	1	1,7
R362	100,0	3	1	1,5	82,4	2	1	1,6	81,3	2	1	1,4
R565	100,0	3	1	2,2	100,0	3	1	1,4	100,0	4	1	1,2
R1	-	-	-	-	100,0	2	1	1,7	90,0	3	1	1,7
\bar{X}	92,6			1,6	92,1			1,5	91,0			1,6

Генотипы по-разному отзывались на регенерацию. В контрольном варианте число регенерирующих узлов варьировало в зависимости от исходной формы (и.ф) в пределах от 77,8% до 100%, в среднем составило 92,6%. Продуктивность семядольных узлов в среднем соответствовала 1,6 шт. при минимальном значении данного показателя 1,5 (R362) и максимальном – 2,2 (R565).

На изученных вариантах питательных сред с ионами меди эффективность регенерации практически по отношению к контролю не изменилась. Показатель числа регенерировавших семядольных узлов в варианте 6 мг/л Cu^{+2} составил 92,1%, в варианте 12 мг/л Cu^{+2} – 91%. Эта же картина прослеживается и по признаку продуктивности семядольного узла. Некоторая изменчивость данных показателей отмечена лишь в пределах исходных форм.

Полученные на селективных средах побеги культивировали для дальнейшего развития и перевода *ex vitro* в условиях

культуральной комнаты. Фертильные растения были размножены в селекционном питомнике для дальнейшего изучения.

По результатам биохимического анализа почти все полученные регенерантные линии превысили показатели содержания в семенах масла и гистидина, при этом снизив содержание линоленовой кислоты, которая влияет на качественный состав соевого масла (табл. 2).

Превышение над стандартом по содержанию масла составляло 7,7-16,0%, содержанию гистидина – 24,6-75,3%, снижение содержания линоленовой кислоты на – 24,0-64,0%. Регенерантная линия R 1357 выделена как лучшая по некоторым достоверно превышающим стандарт признакам: масло – 16,0%, гистидин – 35,8%, линолевая кислота – 2,0%, линоленовая – ниже на 64,0%. Предположительно, что выделенные преимущества объясняются влиянием ионов меди в питательной среде, как дополнительного мутагенного фактора.

Таблица 2

Характеристика регенерантных линий сои, полученных на средах с ионами меди по биохимическим показателям

Сорт, форма	Содержание в семенах белка, %	Содержание в семенах масла, %	Содержание гистидина, % от общего количества аминокислот	Содержание кислоты, % от общего количества масла в семенах		
				олеиновая кислота	линолевая кислота	линоленовая кислота
Ходсон – стандарт	38,8	18,1	8,1	18,4	53,5	9,2
R 1431 (и.ф. Ходсон-12 Cu^{2+})	34,8	19,5*	10,1*	10,7	54,0	4,7*
R 1482 (и.ф. Приморская 69-6 Cu^{2+})	37,1	19,6*	11,6*	10,2	54,5*	5,9*
R 1496 (и.ф. Приморская 81-12 Cu^{2+})	35,0	19,9*	11,1*	9,6	53,9	5,4*
R 109 (и.ф. R1-6 Cu^{2+})	35,2	19,9*	10,3*	12,4	54,0	5,8*
R 1485 (и.ф. R1-6 Cu^{2+})	33,4	20,8*	10,8*	9,7	54,3*	3,6*
R 1477 (и.ф. Приморская 301-12 Cu^{2+})	35,8	19,5*	11,3*	10,4	53,9	5,7*
R 1486 (и.ф. Приморская 301-12 Cu^{2+})	37,1	18,7	10,8*	11,4	53,2	7,0*
R 1490 (и.ф. R1-6 Cu^{2+})	34,2	20,0*	14,2*	8,0	53,3	4,8*
R 1524 (и.ф. R1-6 Cu^{2+})	34,8	19,7*	11,1*	9,9	53,7	6,0*
R 1357 (и.ф. Ходсон-6 Cu^{2+})	34,5	21,0*	11,0*	10,0	54,7*	3,3*
НСР ₀₅	1,5	0,9	1,6	1,8	0,6	1,5

Примечание: * – достоверно превосходит стандарт на 5% уровне

Методом ISSR анализа проанализировано семь сортообразцов сои с участием 9 праймеров к различным ди- и тринуклеотидным микросателлитным повторам. При исследовании линий 1490, R1, 1485 и исходной формы (Приморская 301) получены мономорфные картины распределения амплифицированных фрагментов по всем использованным праймерам.

В результате анализа продуктов амплификации не выявлено фрагментов, носящих диагностический характер, данные линии генетически идентичны друг другу и своей исходной форме по исследованным маркерам. При анализе продуктов амплификации регенерантной линии 1357 и ее исходной формы – сорта Ходсон выявлены 53

фрагмента, 9 из которых оказались полиморфными (17%), остальные – мономорфные. Размер выявленных фрагментов варьировал от 300 до 3000 пар нуклеотидов (п.н.). В зависимости от праймера число полиморфных фрагментов варьировало от 1 до 5. Исследуемые линия и исходная форма оказались генетически однородными (рис.1).

Наиболее распространенным и информативным показателем генетических различий являются генетические дистанции. На основе анализа бинарной матрицы рассчитан индекс генетического различия линии 1357 и сорта Ходсон, значение которого составило 0,1861. Выявлены достоверные генетические отличия линии от исходной формы.

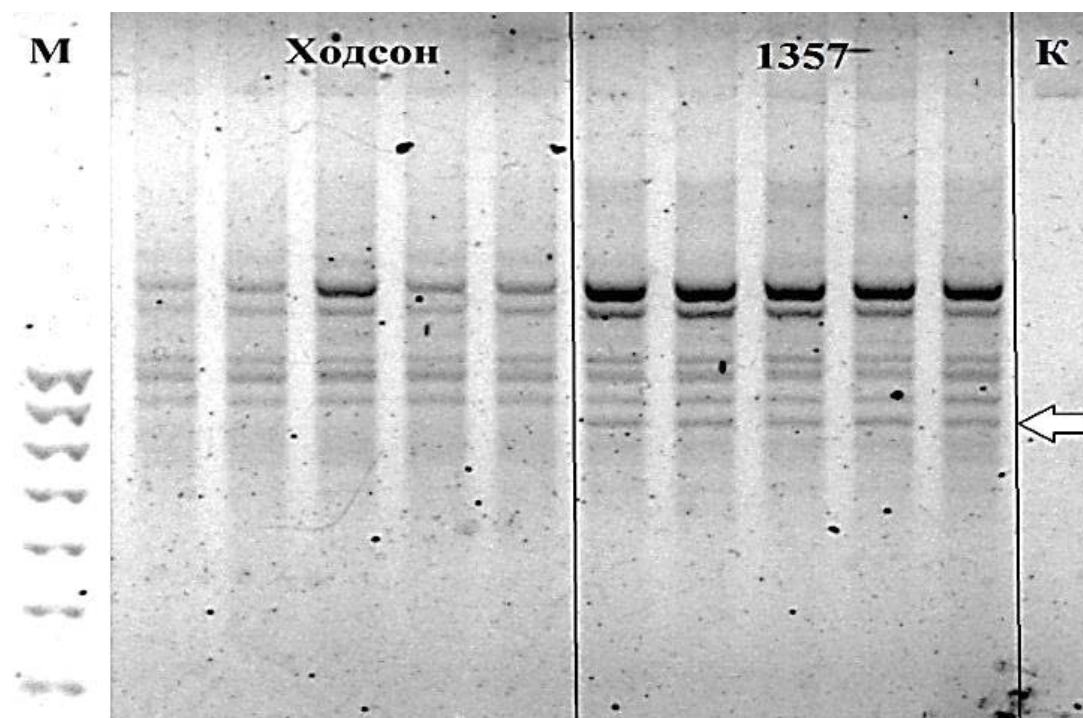


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации с праймером 840 образцов сорта Ходсон и регенерантной линии 1357. М – маркер длин фрагментов 100 bp ladder, К – контрольный образец, не содержащий ДНК. Белой стрелкой показан фрагмент длиной ~870 п.н., отличающий мутантную линию от исходной формы

Проведено генетическое сравнение регенерантных линий R1357 и R1485, выделенных по комплексу биохимических показателей (табл. 2) с перспективными сортообразцами сои (лаб. селекции сои) с целью их включения в селекционный процесс. По ре-

зультатам анализа с помощью пакета программ TFPGA, используя алгоритм невзвешенного попарно-группового анализа (UPGMA), построена дендрограмма филогенетических взаимоотношений исследуемых сортообразцов сои (рис.2).

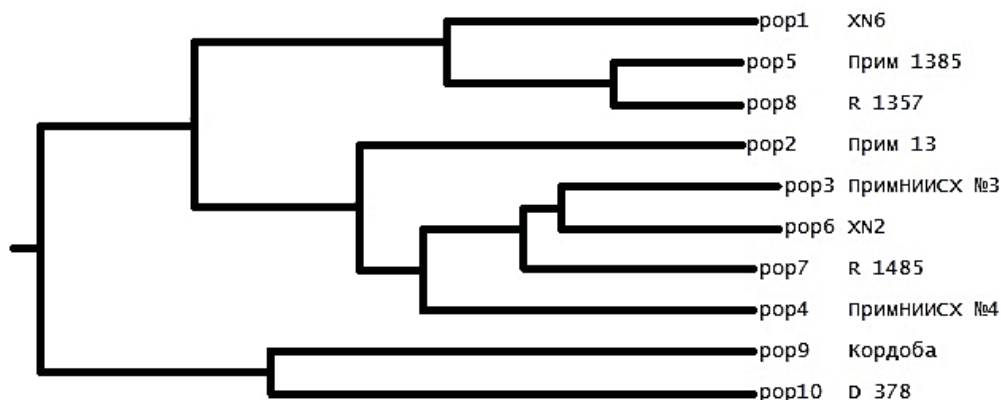


Рис. 2. UPGMA дендрограмма филогенетических взаимоотношений сортообразцов сои и регенерантов, полученных с использованием Cu^{2+} по данным ISSR анализа. Длина ветвей отражает уровень генетических различий

На филогенетическом дереве образовались два кластера, имеющих наибольшие отличия. Кластер с наибольшим количеством сортообразцов подразделен на три подкластера. Исследуемые линии оказались в разных подкластерах основного кла-

стера, демонстрируя достоверные генетические отличия (длина ветвей отражает степень генетических различий). Также были рассчитаны генетические дистанции, которые подтвердили генетические отличия исследуемых линий (табл. 3).

Таблица 3

Генетические дистанции сортообразцов сои и регенерантов, полученных с использованием ионов Cu^{2+} по данным ISSR анализа

Сорт, форма	XN6	Приморская 13	ПримНИИСХ №3	ПримНИИСХ №4	Прим 1385	XN2	R 1485	R 1357	Кордоба
Приморская 13	0.3463	****							
ПримНИИСХ №3	0.3124	0.1301	****						
ПримНИИСХ №4	0.2478	0.1872	0.1582	****					
Прим 1385	0.1872	0.2478	0.2171	0.1582	****				
XN2	0.3814	0.1301	0.1027	0.1582	0.2796	****			
R 1485	0.2787	0.2460	0.0964	0.1246	0.2460	0.0964	****		
R 1357	0.0861	0.2005	0.1707	0.1707	0.0595	0.0964	0.1977	****	
Кордоба	0.2796	0.2171	0.3814	0.4555	0.3814	0.3814	0.4611	0.2631	****
D 378	0.3463	0.2171	0.3124	0.3124	0.3124	0.1872	0.2787	0.2313	0.2171

Выводы. Таким образом, применяемые в качестве мутагенного фактора в питательной среде ионы меди оказали влияние на биохимический состав культуры. Выявлены достоверные генетические отличия регенерантов от исходных форм, что

подтверждает возможность использования исследуемых линий в селекционном процессе в качестве источника хозяйственно ценных признаков.

Список литературы

1. Реутова, Н.В. Мутагенный потенциал ряда тяжелых металлов / Н.В. Реутова // Экологическая генетика. – 2015. – Т. XIII, № 3. – С. 70-75.
2. Кошкин, Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур / Е.И. Кошкин. – М.: Дрофа, 2010. – 640 с.
3. Генетический и структурный анализ устойчивости гороха посевного к токсичным концентрациям кадмия / В.Е. Цыганов, А.И. Жернаков, О.А. Кулаева и др. // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века. – Петрозаводск: Русское ботан. об-во, 2008. – Ч. 6. – С. 140-142.

4. Гладков, Е.А. Биотехнологические методы получения растений полевицы побегоносной *Agrostis stolonifera*, обладающих устойчивостью к кадмию и свинцу / Е.А. Гладков // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 3. – С. 83-87.
5. Коротченко, И.С. Влияние тяжелых металлов на содержание фотосинтетических пигментов в листьях моркови /И.С. Коротченко // Вестник КрасГАУ. – Красноярск, 2011. – № 4. – С. 86-91.
6. Белимов, А.А. Микробиологические аспекты устойчивости и аккумуляции тяжелых металлов у растений / А.А. Белимов, И.А. Тихонович // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 3. – С. 10-15.
7. Кулаева, О.А. Молекулярно-генетические основы устойчивости высших растений к кадмию и его аккумуляции / О.А. Кулаева, В.Е. Цыганов // Экологическая генетика. – 2010. – Т. VIII, № 3. – С. 3-15.
8. Воронина, Л.П. Влияние Zn и Cd на поступление питательных элементов в ячмень / Л.П. Воронина, Е.В. Морачевская, К.В. Павлов // Экологическая агрохимия / под ред. В.Г. Минеева. – М.: Изд-во МГУ, 2008. – С. 83-91.
9. Шалимова, О.А. Развитие растений гороха на средах с высоким содержанием тяжелых металлов при стимуляции салициловой кислотой / О.А. Шалимова, Т.А. Штахова // Вестник Россельхозакадемии. – 2007. – № 5. – С. 40-41.
10. Effect of cadmium on nodulation and N₂-fixation of soybean in contaminated soils / Y.X. Chen, Y.F. He, Y. Yang [et all.] // Chemosphere, 2003. – Vol. 50. – P. 781-787.
11. Murashige, T. Arevised medium for rapid growth and bio assays with to bacco tissue cultures / T. Murashige, F. Scoog. // Phisiol. plant., 1962. – Vol. 15, № 13. – P. 473-497.

Reference

1. Reutova, N.V. Mutagennyi potentsial ryada tyazhelykh metallov (Mutagenic Potential of Some Heavy Metals), *Ekologicheskaya genetika*, 2015, T. XIII, No 3, PP. 70-75.
2. Koshkin, E.I. Fiziologiya ustoichivosti sel'skokhozyaistvennykh kul'tur (Physiology of Crops Resistance), M.: Drofa, 2010, 640 p.
3. Geneticheskii i strukturnyi analiz ustoichivosti gorokha posevnogo k toksichnym kontsentratsiyam kadmiya (Genetic and Structural Analysis of Pea Resistance to Toxic Concentrations of Cadmium), V.E. Tsyganov [i dr.] , *Fundamental'nye i prikladnye problemy botaniki v nachale KhKhI veka. Ch.6*, Petrozavodsk, Russkoe botan. ob-vo, 2008, PP. 140-142.
4. Gladkov, E.A. Biotekhnologicheskie metody polucheniya rastenii po-levitsy pobegonosnoi *Agrostis stolonifera*, obladayushchikh ustoichivost'yu k kadmiyu i svintsu (*Agrostis Stolonifer Resistant to Cadmium and Led: Biotechnique of Cultivation*), *S.-kh. Biologiya*, 2008, No 3, PP. 83-87.
5. Korotchenko, I.S. Vliyanie tyazhelykh metallov na sodержanie foto-sinteticheskikh pigmentov v list'yakh morkovi (Effect of Heavy Metals upon the Photosynthetic Pigments in the Carrot Leaves), *Vestnik KrasGAU*, Krasnoyarsk, 2011, No 4, PP. 86-91.
6. Belimov, A.A., Tikhonovich, I.A. Mikrobiologicheskie aspekty ustoichivosti i akku-mulyatsii tyazhelykh metallov u rastenii (Microbiologic Aspects of Resistance and Accumulation of Heavy Metals in Plants), *S.-kh. Biologiya*, 2011, No 3, PP. 10-15.
7. Kulaeva, O.A., Tsyganov, V.E. Molekulyarno-geneticheskie osnovy ustoichivosti vysshikh rastenii k kadmiyu i ego akku-mulyatsii (Molecular-Genetic Foundations of Higher Plants Resistance to Cadmium and Its Accumulation), *Ekologicheskaya genetika*, 2010, T. VIII, No 3, PP. 3-15.
8. Voronina, L.P., Morachevskaya, E.V., Pavlov, K.V. Vliyanie Zn i Cd na postuplenie pitatel'nykh elementov v yachmen' (Influence of Zn and Cd upon Entry of Nutrients in Barley), *Ekologicheskaya agrokhimiya*, pod red. V.G. Mineeva, M., MGU, 2008, PP. 83-91.
9. Shalimova, O.A., Shtakhova, T.A. Razvitie rastenii gorokha na sredakh s vysokim sodержaniem tyazhelykh metallov pri stimulyatsii salitsilovoi kislotoi (Development of Pea on the Mediums with High Heavy Metals Content and by Means of Salicylic Acid Forcing), *Vestnik Rossel'khozakademii*, 2007, No 5, PP. 40-41.
10. Effect of cadmium on nodulation and N₂-fixation of soybean in contaminated soils, Y.X. Chen, Y.F. He, Y. Yang [et all.], *Chemosphere*, 2003, Vol. 50, PP. 781-787.
11. Murashige, T. Arevised medium for rapid growth and bio assays with to bacco tissue cultures, T. Murashige, F. Scoog, *Phisiol. plant.*, 1962, Vol. 15, No 13, P. 473-497.

УДК 631.527:633.18 (571.6)
ГРНТИ 68.35.29, 68.35.03

Илюшко М.В., канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотр. лаборатории с.-х биотехнологии;
E-mail: ilyushkoiris@mail.ru;

Ромашова М.В., канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. лаборатории с.-х биотехнологии

Приморский научно-исследовательский институт сельского хозяйства,
пос. Тимирязевский, Уссурийский район, Приморский край, Россия

СОЗДАНИЕ РЕГЕНЕРАНТНЫХ ЛИНИЙ МЕТОДОМ КУЛЬТУРЫ ПЫЛЬНИКОВ IN VITRO ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ РИСА НА РОССИЙСКОМ ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

Приводятся данные по регенерационной способности риса в культуре пыльников in vitro после каллусообразования на двух вариантах индукционных питательных сред (N₆-1 и Mix-1). Среды имеют одинаковый гормональный (2,0 мг/л 2,4-Д) и углеводный составы (3 % сахарозы), различаются минеральной основой микроэлементов и витаминов. Исследования проводились на гибридах риса F₁ и F₂, всего использовано 26 генотипов. Питательная среда N₆-1 является более приемлемой для культуры пыльников дальневосточных гибридов риса в сравнении со средой Mix-1, так как после нее образуется на регенерационной среде больше каллусов с зелеными регенерантами, и, в конечном счете, больше зеленых побегов. Доля продуктивных регенерантов составляет 45,5-65,5 % от общего числа зеленых регенерантов. Получено 1536 регенерантных линий из восьми гибридов риса F₂, характеризующихся различными показателями хозяйственно ценных признаков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *ORYSA SATIVA L.*, КУЛЬТУРА ПЫЛЬНИКОВ *IN VITRO*, ИНДУКЦИОННАЯ СРЕДА, ПРОДУКТИВНЫЙ РЕГЕНЕРАНТ.

UDC 631.527:633.18 (571.6)

Ilyushko M.V., Cand. Biol. Sci., Senior Researcher;

E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

Romashova M.V., Cand. Agr. Sci., Senior Researcher;

Primorsky Research Institute of Agriculture,

Village of Timiryazevsky, Ussuriysk District, Primorsky Territory, Russia

CREATION OF REGENERANT LINES BY THE METHOD OF ANther CULTURE IN VITRO FOR RICE BREEDING IN THE RUSSIAN FAR EAST

The article presents data on rice regeneration capacity in anther culture in vitro after callusing on the two variants of inductive nutrient mediums (N₆-1 u Mix-1). Mediums have same hormone (2,0 mg/l 2,4-D) and carbohydrate (3 % saccharose) compositions and differ in mineral base of trace elements and vitamins. The research was carried out into rice hybrids F₁ u F₂, total genotypes used: 26. Nutrient medium N₆-1 is more suitable for anther culture of the Far Eastern rice hybrids as compared to medium Mix-1, since after it more calluses with green regenerants appear on the regeneration medium and finally more green shoots grow. Portion of productive regenerants amount to 45,5-65,5% of total green regenerants. We obtained 1536 productive regenerants lines from eight rice hybrids F₂, characterized by different productive economic indexes.

KEY WORDS: *ORYSA SATIVA L.*, ANther CULTURE *IN VITRO*, INDUCTIVE MEDIUM, PRODUCTIVE REGENERANT.

Рис – одна из важнейших культур в сельскохозяйственном производстве Приморского края. В селекционных программах рисосеющих стран мира широко и

успешно применяется культура пыльников *in vitro* [2, 11, 12, 17, 21, 26]. В последние годы в ФГБНУ «Приморский НИИСХ» проводятся исследования с целью создания