

8. Мартыненко Г.Е. Особенности плодообразования зеленоцветковой гречихи в связи с перспективами использования её в селекции // Вопросы физиологии, селекции и технологии возделывания сельскохозяйственных культур. – Орёл: Орёлиздат, 2001. – С. 105-111.
9. Мартыненко Г.Е. Селекция детерминантных сортов зеленоцветковой гречихи// V съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров. Ч.1.–М, 21-28 июня. – М., 2009. – С. 280.
10. Зеленов А.Н., Павловская Н.Е., Щетинин В.Ю., Корниенко Н.Н. Непрерывная трансформация генома у гороха// Доклады РАСХН.– 2011. – № 5. – С. 12-15.

FEATURES OF THE DETERMINANT BUCKWHEAT FORM THE MONOPODIUM AND ITS RECOMBINANTS

G. E. Martynenko

FGBNU «THE ALL-RUSSIA RESEARCH INSTITUTE OF LEGUMES AND GROAT CROPS»

Abstract: *Determinant buckwheat form the Monopodium has increased quantity of reproductive branches on the main shoot, from 7 to 15 and above, the attribute is supervised recessive-monogenetic by the dm allele. The data is displayed, allowing to judge alternativeness of properties of Monopodium in comparison to widely used in selection the determinant form, supervised by the d allele. In selection process in combinations of cross with various mutants of the last (short stem, triangular leaf, green flower and others) additional process of formation of forms is revealed: plants giants with long branch and their number on shoot up to 30; dwarfs with long branch, by form of the bush close to eared grasses; plants, shedding leafage to ripening stage; plants with mutations of raceme and leaves. Selection for decrease of number of inflorescences on the shoot is effective, thus in nodes of zone of fruit formation the branch is reduced only, the leaf remains that also is peculiar to eared grasses model. The recombinants from cross of Monopodium to green flower and triangular leaf determinants d registered positive effect on integration of fruits and inflorescences, and also productivity as a whole. For the account of more favourable ratio on length of branching zone and zone of fruit formation of the main shoot resistance to lodging has increased. The together ripening donor Dvina with absolute resistance to lodging is created. Varieties Design and Druzhina with productivity over 4 t/hectares are bred. Fertile mutant forms are revealed: Parus and Ivolistnaja fertile, giving prospect of optimisation of habit at buckwheat and on its basis of increase of productivity of the crop as a whole.*

Keywords: buckwheat, selection, mutations, determinacy, productivity, mutability, green flower trait, narrow leaf, habit, inflorescence.

УДК 635.656:581.143.5

РЕГЕНЕРАЦИЯ РАСТЕНИЙ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.) В КУЛЬТУРЕ КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ

Г.В. СОБОЛЕВА, кандидат сельскохозяйственных наук
ФГБНУ «ВНИИ ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР»

E-mail: alniksobolev@rambler.ru

В статье представлены результаты получения пассируемых каллусных тканей четырех генотипов гороха (сорта Орлус, Батрак и селекционных линий Аз 26, Аз 93-1964), сохраняющих высокий морфогенетический потенциал и способность к регенерации побегов в течение длительного времени. Установлено, что для эффективной закладки морфогенетических структур с последующим образованием растений оптимальным является сочетание в питательной среде 5,0 мг/л БАП и 0,2 мг/л НУК. Разработаны условия обеспечивающие получение равновесной системы, при которой одновременно происходит рост недефференцированной ткани и формирование регенерантных побегов в длительно пассируемых каллусах. В данном случае предпочтительнее использовать чередование циклов

культивирования на питательных средах с низким содержанием ауксинов (НУК-0,2 мг/л) и более высоким (НУК-2,0 мг/л) при неизменной концентрации цитокининов (БАП-5,0 мг/л). Разработаны условия получения корнесобственных регенерантных растений гороха на ризогенных средах в присутствии ауксинов. Получены растения-регенеранты R_0 всех изученных генотипов гороха. Максимальную способность к индукции морфогенеза и формированию регенерантных побегов в культуре длительно пассируемых каллусов продемонстрировал белоцветковый, безлисточковый сорт Орлус.

Ключевые слова: горох посевной, каллус, морфогенез, ризогенез, регенерация растений.

Горох является ведущей зернобобовой культурой, широко возделываемой в различных регионах России. Решающее значение для дальнейшей интенсификации сельскохозяйственного производства имеет создание высокопродуктивных, устойчивых к абиотическим и биотическим стрессам сортов различных направлений хозяйственного использования. Успех селекционной работы во многом определяется наличием исходного материала, в расширении спектра которого могут быть использованы биотехнологические методы [1].

Важным условием использования методов биотехнологии в селекционных программах служит разработка простых и эффективных методов регенерации растений из культивируемых *in vitro* тканей и клеток.

Основным типом культивируемых *in vitro* растительных клеток являются, как правило, каллусные. Особую значимость для селекции имеют длительно пассируемые каллусные культуры, которые представляют специфическую биологическую популяцию клеток, среди которых возможен отбор соматональных вариантов, позволяющих повысить уровень генетической изменчивости и тем самым расширить спектр исходного материала. Но существенным ограничением их использования является снижение уровня морфогенетического потенциала и, как следствие, регенерации побегов.

Несмотря на то, что горох впервые введен в культуру *in vitro* достаточно давно и в настоящее время имеется большое количество методик регенерации из каллусов, но общепринятых, легко воспроизводимых все еще нет. Анализ литературы показал, что эффективность индукции побегообразования из каллусов зависит от целого ряда факторов: исходного генотипа, тканевой принадлежности первичных эксплантов, минеральной основы питательных сред и концентраций гормонов. Многообразие сочетаний регуляторов роста и варьирования концентраций делают результаты опубликованных работ трудно сравнимыми между собой. Более того, предложенные регенерационные методики, разработанные на одних сортах гороха, не всегда пригодны для работ с другими генотипами. Длительно культивируемые (три года) каллусные культуры гороха, сохраняющие способность к регенерации побегов, были получены R.L. Malmberg [2] и G. Hussey, H.V. Gunn [3]. Возможность получения каллусных культур гороха, сохраняющих способность к морфогенезу от 3 до 10 лет, была продемонстрирована группой исследователей МГУ под руководством С.А. Гостимского [4].

Одним из наиболее сложных этапов культивирования изолированных тканей гороха можно считать индукцию ризогенеза у регенерантных побегов. В литературе до настоящего времени практически нет сведений о физиологических условиях формирования корней у растений-регенерантов и конкретных рекомендаций по проведению этого этапа работы. Попытки индуцировать ризогенез у регенерантных побегов и получить корнесобственные растения-регенеранты не увенчались успехом или эффективность корнеобразования была низкой [5]. Большинство авторов не приводят данных по методикам ризогенеза, сообщая только о получении незначительного числа регенерантов у которых удалось индуцировать корнеобразование или о том, что укоренение сопряжено со многими трудностями. Так в работе L. Natali, A. Cavallini [6] сообщается, что эффективность ризогенеза составляла всего 18,7 %. Причем, только несколько растений смогли укорениться в почве и сформировать семена. Тем более, не удалось получить корнесобственные регенерантные растения из

длительно пассируемых каллусных клонов. Полученные регенерантные побеги выращивали с помощью прививок на контрольных растениях в теплице [7].

Цель работы – изучение возможностей создания эффективной системы регенерации в пассируемой каллусной культуре и получения корнесобственных растений-регенерантов гороха.

Материал и методика исследований

Материалом для исследований послужили сорта гороха посевного (*Pisum sativum* L.), относящиеся к различным морфотипам: Орлус (белоцветковый, безлисточкового типа, лист видоизменен в сильно развитые усики), Батрак (белоцветковый, детерминантный, безлисточковый, прилистники в зоне плодоношения редуцированы), селекционные линии Аз 26 и Аз 93-1964 (белоцветковые, с ярусной гетероморфностью листьев: два нижних листа имеют два-три листочка и усик, на трех-четырех последующих узлах расположены усатые листья, в зоне плодоношения лист представлен многорядно разветвленными усиками с нерегулярно расположенными на них листочками).

Последовательность этапов, связанных с изучением вопросов морфогенеза и регенерации растений в пассируемых каллусных культурах гороха *in vitro* включала: инициацию первичного каллусогенеза, получение пассируемых культур, индукцию морфогенеза, регенерацию растений и адаптацию их к условиям *in vivo*.

Приготовление питательных сред, получение каллусов и культивирование проводили с использованием методик общепринятых в работе с культурами тканей *in vitro* [8].

В качестве первичных эксплантов для индукции каллусогенеза использовали верхушки 3-5 дневных стерильных проростков гороха. Первичные экспланты измельчали скальпелем и помещали на поверхность агаризованных питательных сред.

Для инициации каллусогенеза и получения первичного каллуса служила среда, включающая минеральные соли и витамины В5 [9], мезо-инозитол – 100,0 мг/л, глицин – 2,0 мг/л, сахара – 30000 мг/л, агар – 6000 мг/л и дополненная БАП – 0,66 мг/л + НУК – 5,0 мг/л.

Для получения пассируемых каллусных клонов и индукции морфогенеза использовали среду, включающую: минеральные соли MS [10], витамины В5, мезо-инозитол – 100,0 мг/л, глицин – 2,0 мг/л, сахарозу – 30000 мг/л, агар – 6000 мг/л и регуляторы роста.

Все культуры выращивали на свету при температуре 25°C, 16-часовом фотопериоде и освещенности 2000 лк. Продолжительность пассажа составляла 45-50 суток.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что интенсивность первичного каллусообразования у сортов и линий гороха оказалась весьма высокой и составляла 80-95% от числа посаженных эксплантов. Как правило, первичные каллусы возникали на раневых поверхностях экспланта. В некоторых случаях каллусообразование наблюдалось за счет равномерного разрыхления всего экспланта. Первые признаки формирования каллусных тканей визуально наблюдались на 7-10 сутки. С течением времени каллус разрастался и примерно через месяц после посадки эксплантов на питательные среды они покрывались сплошной каллусной тканью. При этом наблюдали формирование двух типов каллусов: плотного, компактного, более или менее однородного с белой бархатистой поверхностью и рыхлого, глобулярного, светло-зеленого, который представлял наибольший интерес для дальнейшей работы (рис. 1).

Полученные каллусы гороха для поддержания процессов недефференцированного роста переносили на свежие каллусогенные питательные среды и культивировали на них еще в течение одного пассажа.

Сформировавшиеся каллусы в дальнейшем пассировали на регенерационных средах. Для инициации процессов побегообразования в каллусных тканях было испытано несколько вариантов питательных сред с различным сочетанием регуляторов роста (табл. 1).



Рис.1. Рыхлый, глобулярный тип каллуса гороха

После переноса сформировавшихся каллусов гороха на регенерационные среды на поверхности рыхлых глобулярных каллусов формировались меристематические очаги. Они возникали как на периферии каллусных тканей, так и внутри них. В результате, образовывались морфогенные структуры и формировались побеговые почки, из которых в дальнейшем часть развивалась в побеги нормальной морфологии, а часть оставалась в состоянии неопределенных структур или листовых зачатков. Индуцировать морфогенез у плотных, компактных каллусов практически не удавалось.

Таблица 1

Состав питательных сред для индукции морфогенеза в каллусных тканях гороха

Компоненты среды, мг/л	Среда		
	MR ₄	MS ₁₂	MS ₁
Минеральная основа	MS	MS	MS
Витамины	B5	B5	B5
Сахароза	30000	30000	30000
Инозитол	100	100	100
Агар	6000	6000	6000
НУК	-	2	0,2
ИМК	0,25	-	-
БАП	1	5	5

Субкультивирование каллусных клонов на морфогенных питательных средах показало, что для успешной индукции побегов в каллусных тканях гороха более эффективным оказалось сочетание в питательной среде 5,0 мг/л БАП и 0,2 мг/л НУК (среда MS₁). В данном случае в каллусных тканях закладывалось неограниченно большое количество побеговых почек, и активно формировались регенерантные побеги (табл. 2).

Таблица 2

**Морфогенная активность каллусных тканей гороха,
(число побегов/ эксплант, пассаж.)**

Сорт, линия	среда MS ₁		среда MS ₁₂	
	2-3 пассаж	5-6 пассаж	2-3 пассаж	5-6 пассаж
Орлус	2,9±1,0	1,5±0,8	2,7±0,7	0,5±0,3
Батрак	3,0±1,0	1,7±0,4	1,6±1,2	0,4±0,3
Аз 26	3,1±0,4	1,4±0,2	3,0±0,4	0,5±0,3
Аз 93-1964	3,5±1,7	1,1±0,6	3,2±1,5	0,9±1,3

Существенных различий по эффективности морфогенеза между генотипами на данной среде выявлено не было. В среднем формировалось по 3 побега на один морфогенный каллус (рис. 2).



Рис. 2. Индукция побегообразования в каллусных тканях гороха

Однако, продолжительное культивирование (более 6 пассажей) каллусных тканей на среде MS_1 показало, что высокая морфогенная активность каллусных тканей на этой среде приводит к снижению интенсивности пролиферативных процессов. Способность к недифференцированному росту каллусных тканей разных сортов гороха снижалась до минимума, следовательно, снижались и темпы регенерации. В результате, в длительной культуре у большинства каллусных клонов способность к недифференцированному росту прекращалась совсем.

Поэтому приемлемым вариантом питательной среды для индукции морфогенеза в каллусных тканях гороха оказалось повышение концентрации НУК до 2,0 мг/л при неизменной концентрации БАП – 5,0 мг/л (среда обозначена MS_{12}). В этих условиях при продолжающемся формировании побеговых почек и побегов, в каллусных тканях возникали вторичные очаги активного недифференцированного роста, приводящего к формированию каллусов. Однако длительное культивирование каллусов на среде MS_{12} приводило к снижению интенсивности процессов морфогенеза и преобладанию процессов недифференцированного роста.

Поэтому для длительного поддержания активно пролиферирующей морфогенной культуры мы предложили чередование циклов культивирования каллусной ткани гороха на средах MS_1 и MS_{12} через 3-4 пассажа. С использованием этой схемы в длительно пассируемых каллусных тканях устанавливалась относительно сбалансированная система, обеспечивающая сохранение двух диаметрально направленных процессов: активный каллусогенез и регенерацию побегов.

Питательная среда MR_4 по индуктивности побегообразования оказалась не эффективной, так как морфогенные структуры закладывались, но побеги на ней не образовывались. С целью избежать токсического действия цитокининов, обусловленного их постоянным присутствием в питательной среде, каллусные клоны периодически культивировали на среде MR_4 .

Таким образом, нам удалось получить каллусные клоны, сохраняющие высокий морфогенетический потенциал в течение длительного времени.

Образовавшиеся регенерантные побеги декапитировали от каллусной ткани, доразвивали на среде MR_4 в течение месяца, а затем переносили на питательные среды для индукции ризогенеза. Ризогенная среда включала минеральные соли и витамины среды B_5 , с

уменьшенной в два раза концентрацией основных компонентов, 30000 мг/л сахарозы, 6000 мг/л агар и дополненную НУК в концентрации 1,0-1,5 мг/л.

Через 5-10 дней, участок стебля регенерантного побега, погруженный в ризогенную среду, незначительно утолщился, и наблюдалось образование зачатков корней. Весь процесс формирования корней у регенерантных побегов составлял 30-35 суток. Образование корней наблюдали только у хорошо сформированных, не переросших регенерантных побегов (длина 4-4,5 см). Период дорастивания декапитированных от каллуса побегов не должен превышать 4 недели.

У гороха, как у двудольного растения, при выращивании из семян формируется стержневая сильно разветвленная корневая система. В процессе индукции ризогенеза *in vitro* у регенерантных побегов наблюдалось образование нескольких типов мочковатой корневой системы. В первом случае интенсивно развивались один-два корня (максимальная длина составила 19 см.), остальные образовавшиеся корни существенно отставали в росте, достигая всего 1-2 см. В другом случае на утолщенном побеге, погруженном в питательную среду, формировался пучок, состоящий из 10-20 корней на побег (рис. 3).



Рис.3. Индукция ризогенеза у регенерантных побегов

Достаточно часто наблюдалось разрастание базальной части побега погруженного в питательную среду с образованием так называемой «пятки», что или препятствовало формированию корней или наблюдалось образование на ней тонких коротких корней. Укоренить в почве такие растения не удавалось.

Регенерантные растения со сформированной корневой системой извлекали из пробирок, отмывали от агаризованной среды и на 1-2 суток помещали в стаканчики с дистиллированной водой, затем высаживали в сосуды с почвой и выращивали в теплице. Результаты выживаемости в нестерильных условиях регенерантных растений гороха полученных из пассируемых каллусных клонов представлены в таблице 3.

Значительная часть регенерантных растений погибла в процессе адаптации к нестерильным условиям. Поэтому, выживаемость растений колебалась от 20 до 55,6 %. Анализ результатов показал, что на показатель выживаемости практически не влияет ни генотип, ни длительность культивирования каллусов, из которых были получены регенерантные побеги. В частности, у сорта Батрак и линии Аз 93-1964, выживаемость растений R_0 , полученных из каллусов, культивируемых *in vitro*, до 360 суток и более 1440 суток была одинаковой и составляла порядка 30 %. По генотипам более высокая выживаемость растений в почве отмечена у сорта Орлус (36,6 %), а наиболее низкая у генотипа Аз 26 (26,9 %).

Выжившие и тронувшиеся в рост регенерантные растения R_0 морфологически резко различались между собой. Это касалось таких признаков, как длина стебля, размер листьев, число междоузлий, число бобов, число семян с растения, масса семян с растения. У основной части растений-регенерантов R_0 длина стебля составляла всего 10-15 см. Растения быстро зацветали, образуя 1-2 продуктивных узла, на которых формировалось один-два боба, число семян в бобе колебалось от одного до двух (рис. 4). Очень часто семена были щуплыми, невыполненными. Некоторые регенеранты R_0 , тронувшись в рост, либо вообще не зацветали, либо были стерильными. Другие регенерантные растения R_0 имели нормальную морфологию, характеризовались мощным развитием, обильно цвели и завязывали семена. На растении формировалось 7-10 бобов, в которых были нормально выполненные семена. Так, например, среди регенерантных растений R_0 генотипа Аз 93-1964 было отмечено растение, отличающееся очень мощным габитусом. На этом растении сформировалось 17 бобов, и

было получено 45 крупных семян. Масса 1000 семян была равна 319 г. Фенотипически регенерант соответствовал исходному генотипу. Изученное в полевых условиях поколения R₁ – R₂ данного регенеранта уступило по всем хозяйственно ценным признакам исходному генотипу.

Таблица 3

Выживаемость и продуктивность регенерантных растений R₀, полученных из каллусных клонов гороха

Сорт, линия	Время <i>in vitro</i> , сутки	Число регенерантных растений R ₀		Выживаемость, %	Число семян
		высажено в почву	адаптировалось		
Орлус	90-360	27	14	51,9	7
	361-720	23	11	47,8	2
	721-1080	18	6	33,3	12
	1081-1440	26	12	46,2	55
	1801-2160	16	5	31,2	15
	2520-2880	254	84	33,1	255
	Всего	364	132	36,6	347
Батрак	90-360	21	6	28,6	28
	361-720	13	4	30,8	44
	721-1080	9	5	55,6	24
	1081-1440	23	7	30,4	43
	Всего	66	22	33,3	139
Аз 26	90-360	25	7	28,0	5
	361-720	8	2	25,0	0
	721-1080	10	3	30,0	11
	1441-1800	24	6	25,0	30
	Всего	67	18	26,9	46
Аз 93-1964	90-360	13	4	30,8	5
	361-720	26	7	26,9	0
	721-1080	5	1	20,0	45
	1081-1440	16	5	31,3	14
	1441-1800	12	3	25,0	16
	2521-2880	15	5	33,3	15
	Всего	87	25	28,7	95



Рис. 4. Регенерантные растения R₀ в теплице

Можно предположить, что наблюдаемые морфологические отличия растений регенерантов R₀ являются морфозами, связанными с резким изменением условий выращивания. К аналогичным выводам пришли Т.А. Ежова с соавторами [11].

В результате проведенных исследований максимальное число регенерантных растений (132 шт.) было получено у белоцветкового, безлисточкового сорта Орлус. Несколько хуже процесс адаптации к нестерильным условиям протекал у генотипа Аз 93-1964. При достаточном количестве регенерантных побегов, было получено лишь небольшое количество регенерантных линий. При этом морфогенная активность каллусных клонов оставалась достаточно высокой. По нашему мнению, это может быть связано как с особенностями генотипа, так и с процессами морфогенеза в длительно пассируемых каллусных тканях.

Выводы

Разработаны условия получения пассируемых каллусных культур гороха, сохраняющих высокий морфогенный потенциал в течение длительного времени. Показана возможность получения корнесобственных регенерантных растений гороха из длительно культивируемых каллусов на питательных средах содержащих ауксины. Для успешной индукции морфогенных процессов в пассируемых каллусных тканях гороха наиболее эффективным оказалось сочетание в питательной среде 5,0 мг/л БАП и 0,2 мг/л НУК. Для получения длительно пассируемых каллусов с высоким уровнем пролиферативных и регенерационных процессов, рекомендуется чередование циклов культивирования на средах MS₁ (с низким содержанием 0,2 мг/л НУК) и MS₁₂ (с более высоким содержанием 2,0 мг/л НУК) через 3-4 пассажа (при неизменной концентрации БАП-5,0 мг/л). Для индукции процессов ризогенеза у регенерантных побегов предпочтительно использовать НУК в концентрации 1,0-1,5 мг/л. Максимальное количество регенерантных побегов и растений-регенерантов R₀ получено у белоцветкового, безлисточкового (усатого) сорта гороха Орлус.

Литература

1. Суворова Г.Н., Соболева Г.В., Бобков С.В., Иконников А.В. Разработка и использование биотехнологических методов для создания новых форм растений зернобобовых и крупяных культур // Зернобобовые и крупяные культуры, 2012. – № 2. – С.10-13.
2. Malmberg R.L. Regeneration of gene lines of *Pisum sativum* from callus cultures // The *Pisum* Newsletter, 1979. – V.11. – P.21-22.
3. Hussey G., Gunn H.V. Plant production in pea (*Pisum sativum* L. cvs. Puget and Upton) from long-term callus with superficial meristems // Plant Science Letters, 1984. – V.37. – P.143-148.
4. Кузнецова О.И., Аш О.А., Хартина Г.А., Гостимский С.А. Исследование растений-регенерантов гороха (*Pisum sativum* L.) с помощью молекулярных RAPD – и ISSR – маркеров // Генетика, 2005. – Т.41. – № 4. – С.71-77.
5. Лутова Л.А., Забелина Е.К. Каллусо- и побегообразование у различных форм гороха *Pisum sativum* L. в условиях *in vitro* // Генетика, 1988. – Т.24. – № 9. – С.1632-1640.
6. Natali L., Cavallini A. Regeneration of Pea (*Pisum sativum* L.). Plantlets by *in vitro* culture of immature embryos // Plant Breeding, 1987. – V.99 (2). – P.172-176.
7. Кузнецова О.И. Молекулярно-генетический анализ растений-регенерантов, полученных из длительно культивируемых каллусов гороха // Автореф. дис...канд. биол. наук. – М, 2005. – 22 с.
8. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений - Киев: Наукова Думка, 1980. – 487с.
9. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem., 1968. – V.46. – No.5. – P.417-421.
10. Murashige N., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant., 1962. –V.15. – No.13. – P.473-497.
11. Ежова Т.А., Багрова А.М., Хартина Г.А., Гостимский С.А. Цитогенетический анализ длительно культивируемых каллусов и полученных из них регенерантов гороха (*Pisum sativum* L.) // Цитология и генетика, 1988. – Т.22. – № 4. – С.22-26.

REGENERATION OF PEAS PLANTS (*PISUM SATIVUM* L.) IN CALLUS TISSUE CULTURE

G.V. Soboleva

FGBNU «THE ALL-RUSSIA RESEARCH INSTITUTE OF LEGUMES AND GROAT CROPS»

Abstract: *In the article results of obtaining passaging callus tissues of four genotypes of peas are presented (varieties Orlus, Batrak and selection lines Az 26, Az 93-1964), keeping a high morphogenetic potential and ability to regeneration of shoots for a long time. It is established that for an effective set of morphogenic structures with the subsequent formation of plants the combination of 5,0 mg/l BAP and 0,2 mg/l of NAA in a nutrient medium is optimum. Conditions providing obtaining of equilibrium system at which growth of not differentiated tissue and formation of regenerant shoots in long-term passaging calluses occurs simultaneously are developed. In this case it is more preferable to use alternating of cycles of cultivation on nutrient mediums with the low content of auxins (NAA-0,2 mg/l) and higher (NA-2,0 mg/l) at constant concentration of cytokinins (BAP-5,0 mg/l). Conditions of obtaining of scion-rooted regenerant plants of peas on rhizogenous mediums in the presence of auxins are developed. Regenerated plants R₀ of all the studied peas genotypes are obtained. The maximum ability to the induction of morphogenesis and formation of regenerant shoots in culture of long-term passaging calluses was shown by a white-flowered, leafless variety Orlus.*

Keywords: Common peas, callus, morphogenesis, rhizogenesis, regeneration of plants.

УДК 633.358:581.16

ИДЕНТИФИКАЦИЯ УНИКАЛЬНЫХ БЕЛКОВЫХ КОМПОНЕНТОВ В ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ СПЕКТРАХ ОБРАЗЦОВ ДИКИХ ПОДВИДОВ ГОРОХА

С.В. БОБКОВ, кандидат сельскохозяйственных наук

И.А. БЫЧКОВ, младший научный сотрудник

ФГБНУ «ВНИИ ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР»

E-mail: svbobkov@gmail.com

Проведено сравнительное изучение электрофоретических спектров белков семян у 9 сортов и линий культурного и 15 образцов диких подвидов гороха. Проведен дискриминантный анализ статистически значимой принадлежности белков полиморфных компонентов к диким или культурным образцам гороха. В результате анализа дискриминировано 9 полиморфных компонентов. Пять компонентов преимущественно содержали белки культурных сортов и линий гороха. Четыре белковых компонента представляли белки образцов диких родичей гороха. Различия в белковом комплексе дикого и культурного гороха затрагивали компоненты запасных белков конвицилина, вицилина, легумина, а также липоксигеназы, которая выполняет функцию запасного белка в прорастающих семенах. Полученные результаты можно интерпретировать как присутствием специфических «культурных» или «диких» изоформ запасных белков, так и различной степенью их накопления, что является предметом дополнительного исследования.

Ключевые слова: горох, электрофорез, дискриминантный анализ, компонент, запасной белок, конвицилин, вицилин, легумин.

Горох является важной сельскохозяйственной культурой умеренного климата. По данным FAOSTAT в 2014 году в России горох выращивали на площади 893 тыс. га и получили 1,5 млн. тонн зерна. Средняя урожайность зерна составила 1,7 т/га.

Содержание питательных веществ в семенах гороха подвержено исключительно сильному варьированию. Семена гороха в зависимости от генотипа содержат 18,6-54,1 % крахмала, 5,9-12,7 % клетчатки, 1,3-2,1 % сахарозы, 0,6-5,5 % жира и 15,5-34,4 % белка [1, 2]. Семена гороха содержат минералы, полифенольные соединения, сапонины, α-галактозиды и фитиновую кислоту. Белки семян диких подвидов гороха характеризуются высоким