

ГЕНОТИП РАСТЕНИЯ – ОДИН ИЗ ЛИМИТИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ГОРОХЕ

М.Н. САЩЕНКО, кандидат биологических наук
ФГБНУ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НИИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ им. А.Л. МАЗЛУМОВА»
E-mail: samani84@mail.ru

В статье представлены результаты исследований влияния генотипа растений гороха на способность к микроразмножению в условиях культуры тканей. Показано, что наиболее высокий выход хорошо развитых микроклонов с одного введенного растения обеспечивают низкорослые (короткостебельные) и усатые генотипы.

Ключевые слова: горох, морфотипы, влияние генотипа, культура тканей, микроклональное размножение.

Введение

Ростовые процессы растений в условиях *in vitro* в значительной мере определяются внутренними и внешними факторами. К внутренним факторам относятся: видовая принадлежность исходного материала, генотипические особенности растений, орган из которого взят эксплант, возраст экспланта. Внешние лимитирующие факторы – условия культивирования, и прежде всего – гормональная нагрузка питательной среды.

Исследования отечественных и зарубежных ученых выявили важную роль генотипа в управлении процессами роста и морфогенеза в условиях *in vitro* [1]. Установлено, что пасленовые, крестоцветные, зонтичные растения легче индуцируют каллусную ткань и органогенез, тогда как бобовые и злаковые намного труднее ввести в культуру тканей [2]. Особенно сложно в этом случае получить из каллуса растения – регенеранты.

Видовая принадлежность растения оказывает существенное влияние на процессы каллусообразования, потенциальные возможности каллуса к дальнейшему пассируемому росту и разным типам морфогенеза. Исследователями установлены различия в способности к образованию каллуса между различными видами люцерны, томатов, овса, хлопчатника, гречихи, кукурузы, гороха и ряда других видов. Однако внутри вида так же отмечены существенные отличия. Одинаковые по возрасту и тканевой принадлежности первичные экспланты отличались по частоте каллусообразования в зависимости от исходного генотипа.

При изучении разных по генотипу растений ячменя показали зависимость инициации и интенсивности роста каллусов от генотипа исходных растений.

Изучение каллусо- и органогенеза у сортов риса показало, что все сорта резко различаются по способности к органогенезу.

Исследования ученых в разные годы выявили внутривидовую изменчивость различных генетических форм гороха по способности к новообразованиям на эксплантах [3]. Был проведен анализ различных генотипов гороха по способности к регенерации. Показано, что характер регенерации зависит не только от тканевой принадлежности эксплантов, но и от генотипа. Изученные сорта и линии гороха различались по способности к органогенезу при одинаковых условиях культивирования *in vitro*. По всем показателям каллусообразования сорта в значительно меньшей степени различались по признакам регенерации, чем линии. Явные отличия были выявлены по типу каллуса. Это свидетельствует о генетической обусловленности морфогенетических особенностей культивируемой ткани и о возможности отбора генотипов, характеризующихся повышенным морфогенетическим потенциальными. Отмечено, что причиной внутривидовой изменчивости гороха по признакам регенерации на среде без гормонов являются различия в их гормональном статусе. Аналогичные результаты были получены на капустных [4].

Анализ регенерационной способности различных видов пшеницы, эгилопса и кукурузы так же показал существенные различия по интенсивности каллусогенеза и регенерации растений [5].

Роль генотипа в проявлении морфогенной способности культивируемыми тканями изучена на хлопчатнике, картофеле, люцерне, ячмене, луке и других культурах.

В экспериментах на сахарной свекле влияние генотипа выразилось в различной морфогенетической потенции исходных форм, т.е. различной способности верхушечных меристем к индукции заложения адвентивных почек, регенерации нормально развитых побегов, росту и развитию эксплантов в культуре тканей [6]. Таким образом, роль генотипа при культивировании свеклы *in vitro* очевидна и следует признать, что в настоящее время не всегда удастся создать для любого генотипа условия культивирования, индуцирующие процессы регенерации и пролифации побегов. Аналогичная тенденция наблюдается и при микроклональном размножении других культур.

Установлено, что генотип растений – доноров был одним из основных факторов, влияющих на эмбриоидогенез у всех исследованных видов рода *Brassica*, где применялась культура пыльников и микроспор [7].

В результате исследований, проведенных Е.Б. Котляровой, выявлена способность растений – доноров ярового рапса определять дальнейшее развитие неоплодотворенных семязачатков [8]. Развитие эксплантов шло по пути образования каллуса с последующей регенерацией ростовых почек. Аналогичные результаты были получены у других культур, например, у риса, герберы, картофеля, кориандра, лаванды и шалфея мускатного.

По мнению многих ученых генотип растения – один из наиболее эффективных факторов, оказывающих влияние на выход гаплоидных растений в культуре репродуктивных органов. Не только внутри рода, но и сорта одних и тех же видов обнаруживают при культивировании неоплодотворенных семязачатков различную способность растений к регенерации.

При этом возникающие различия на всех этапах получения растений в культуре *in vitro* и каждая ступень имеет свою генетическую основу. Зависимость формирования гаплоидов от генотипа исходной формы в культуре неоплодотворенных семяпочек показана для большинства изучаемых культур. Отмечая важную роль генотипа, некоторые исследователи склонны даже считать, что генотип является главным лимитирующим фактором при получении растений через культуру тканей [9].

Ученые отмечали в своих исследованиях, что формирование новых структур из неоплодотворенных семяпочек сахарной свеклы в условиях *in vitro* происходило почти на всех изучаемых генотипах, но направление морфогенетического развития семяпочек (эмбриоидогенез или каллусогенез), а частота возникновения регенерантов определялись генотипом [10].

Наряду с прочими важными факторами, влияющими на процесс микроклонального размножения, существенным остается генотип исходного растения, в наибольшей степени влияющий на морфогенетический потенциал экспланта в условиях *in vitro*.

Известно, что способность к размножению *in vitro*, как и любой признак растительного организма, обусловлен и в сильной степени варьирует у различных видов и сортов.

Цель наших исследований была направлена на изучение влияния генотипа растений гороха разных морфотипов на процесс микроклонирования в условиях *in vitro*.

Материалы и методы исследований

Исследования проводились на шести сортообразцах гороха, различающихся по морфобиологическим признакам (табл. 1).

В качестве эксплантов для введения в культуру тканей использовали зрелые семена. Стерилизацию эксплантов проводили раствором Ломаксхлора в течение 60 минут. Культивирование растений осуществлялось на питательной среде с минеральной основой по Мурасиге и Скугу (MS) и фитогормонами БАП 0,5 мг/л, ИМК 0,1 мг/л, витаминами по Уайту с добавлением сахарозы, приготовленной по общепринятым методикам, в оптимальных условиях.

Результаты

В экспериментах, проведенных нами на горохе, влияние генотипа в культуре тканей выразилось в различном морфологическом развитии микроклонов. Аналогичные данные были получены Л.А. Лутовой с другими соавторами в 1994 году.

В условиях культуры тканей при микроразмножении у генотипов № 1065 – 02, Амур, Зенит наблюдался активный рост и развитие растений, их высота варьировала от 2 до 6 см (таб. 2).

Морфологическое описание изучаемых генотипов

№ п/п	Показатель	Рамон- ский 77	377-02	Амур	Зенит	АМЗК 99	1065-02
1.	Разновидность	vulgare					
2.	Морфотип	обыкновенный	низкорослый, уз- колистный	коротко- стебельный	усатый коротко- стебельный	детерминантный	усатый низкорослый
3.	Высота растения, см.	60-80 и более	55-65	50-70	50-70	70-90	70-85
4.	Стебель	простой, светло- сизо-зеленый	прочный, темно-зеленый	прочный, темно-зеленый	обычный, зеленый	обычный, зеленый	прочный, темно-зеленый
5.	Лист	сложный				сложный	
		с 2-3-4 парами яй- цевидных, светло- зеленых листоч- ков, прилистники средние, полу- сердцевидные, об- лиственность средняя, усики на конце листа	с 2-3 парами темно-зеленых, листочков, яйцевидные, средние, узкие, с сизым налетом, прилистники сред- ние, полусердце- видные, облист- венность средняя, усики на конце листа	с 2-3-4 парами темно-зеленых, яйцевидных, средних, цель- нокрайних лис- точков, прилист- ники средние, полусерд- цевидные, полноразвитые, облиственность средняя	безлисточ- ковый тип, зеленые усики, прилистники средние, сердце- видные, зеле- ные, с восковым налетом на верхней стороне	с 2-3 парами темно-зеленых листочков, яйце- видные, средние, цельнокрайние, прилистники сред- ние, полусердце- видные, облист- венность средняя, усики на конце листа	безлисточ- ковый тип, зеленые усики, прилистники средние, сердце- видные, зеленые, с восковым нале- том на верхней стороне
6.	Число междоузлий, шт.	12-18	15-17	13-16	16-22	12-14	11-13

7.	Соцветие	двухцветковая кисть					
8.	Боб	прямой, слабоизогнутый, с тупой верхушкой, средний (4 см), 3-7 семянной	прямой, средний (5-6 см), с тупой верхушкой, 3-4-5 семянной	прямой, реже изогнутый, средний (5-6 см), с тупой верхушкой, 4-5-7 семянной	прямой, средний (5-6 см), с тупой верхушкой, 3-4-5 семянной	прямой, слабоизог- нутый, с тупой верхушкой, средний (4-6 см), 3-4 семянной	прямой, средний (5-6 см), с тупой верхушкой, 3-4-5 семянной
9.	Число бобов, шт.	5 - 9	4 - 8	8 - 13	11 - 17	5 - 8	7 - 12
10.	Семена	от светло- желтых до желто- розовых, округлые, гладкие	розовые, округлые, реже овальные, гладкие, матовые	желто- розовые, округло- овальные, гладкие, матовые	желтые, округло- овальные, гладкие, матовые	розовые, округлые, реже овальные, гладкие, матовые	розовые, круглые, гладкие, матовые
11.	Вегетационный пери- од, дни	86	82	84	84	80	82
	посев - всходы	13	12	13	12	12	12
	Всходы - цветение	39	38	38	40	38	38
	Цветение - спелость	37	32	36	34	33	34
	Начало цветения- конец цветения	14	9	11	12	6	12
12.	Устойчивость (5 баллов) -к засухе	3	4	4	4	4	4
	-к заморозкам	2	2	2	2	2	2
	-к болезням	3	3	3	3	3	3
	-к полеганию	1	2	2	5	2	5
	-к опаданию/ растрес- киванию бобов	3/3	4/4	5/4	5/4	5/4	5/4

Таблица 2

Влияние генотипа на рост и развитие микроклонов

Генотип	Высота, см	Количество побегов на 1 растение, шт.	Коэффициент размножения
Рамонский 77	3 – 7	1 – 2	2
377 – 02	2 – 5	2 – 6	5
Амур	2 – 6	2 – 5	4
Зенит	2 – 5	2 – 6	4
АМЗК 99	3 – 7	1 – 3	2
1065 – 02	2 – 5	2 – 3	3

Количество побегов на 1 растение находилось в пределах 2 – 6 шт. Растения характеризовались более высокой степенью развития, побеги были утолщенные, кустистые. Коэффициент размножения достигал 5.

В полевых условиях растения этих генотипов не превышают в высоту 70 см и относятся к короткостебельному (Амур, Зенит) и низкорослому (№ 377 – 02, № 1065 – 02) морфотипу. Зенит и № 1065 – 02 характеризуются безлисточковым, усатым типом. Селекционный номер 377 – 02 является узколиственным. В условиях *in vitro* микроклоны данных генотипов соответствовали морфологическим характеристикам растений, выращенных в полевых условиях (рис. 1).



А



Б



В



Г

Рис. 1. Внешний вид микроклонов изучаемых генотипов:

А – Амур, Б – Зенит, В – № 377 – 02, Г – № 1065 – 02

Сорта гороха Рамонский 77 и АМЗК 99 - высокорослые (до 90 см), имеют среднюю облиственность, относятся к обыкновенному и детерминантному морфотипу, соответственно. В условиях

культуры тканей растения данных сортотипов активно росли в высоту. Их средняя высота находилась в пределах от 3 до 7 см. Количество побегов на одно растение не превышало 1 – 3 шт., коэффициент размножения составлял 2 (рис. 2).



А



Б

Рис. 2. Внешний вид микроклонов сортов:

А – Рамонский 77, Б – АМЗК 99

Таким образом, при микроразмножении гороха четко прослеживается роль генотипа.

Следует отметить, что развитие растений и скорость размножения так же определялась генотипическими особенностями материала (табл.3).

Таблица 3

Результаты микроразмножения разных генотипов гороха

Селекционный материал	Получено микроклонов, шт.		
	1 пассаж	2 пассаж	3 пассаж
Рамонский 77	40	75	130
377 – 02	34	120	315
Амур	35	112	273
Зенит	38	118	280
АМЗК 99	41	74	144
1065 - 02	35	105	287

Рост и развитие микроклонов линий 377 – 02, 1065 – 02 и сортов Зенит, Амур происходило активно, что позволило после 3 пассажа получить 315, 287, 280 и 273 растения, соответственно. Выскорослые (Рамонский 77) и детерминантные (АМЗК 99) генотипы имели достаточную активность размножения в условиях *in vitro*. Так, после третьего пассажа все сорта имели достаточное количество размноженного материала.

Выводы

В результате исследований отмечено влияние генотипа растений гороха на способность к микроразмножению в условиях культуры тканей. Показано, что наиболее высокий выход хорошо развитых микроклонов с одного введенного растения обеспечивают низкорослые (короткостебельные) и усатые генотипы Рамонской селекции.

Литература

1. Кучеренко Л.А. Подходы к разработке технологии массовой регенерации растений *in vitro* // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. – М.: Наука, 1991. – С. 232 – 243.
2. Ежова Т.А., Багрова А.М., Гостимский С.А. Побегообразование в каллусах из верхушек стеблей, междоузлий и листьев различных генотипов гороха // Физиология растений. - 1985. - Т. 32, вып. 3. – С. 513 – 520.
3. Лутова Л.А., Бондаренко Л.В., Бузовкина И.С., Левашина Е.А. и др. Влияние генотипа растения на регенерационные процессы // Генетика. – 1994. – Т. 30, № 8. – С. 1065 – 1074.

4. Ockendon D.J., Sutherland R.A. Genetic and non-genetic factors affecting anther culture of Brussels sprouts (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*) // Theor. and Appl. Genet. – 1987. – Vol. 74. – P. 566 – 570.
5. Карабаев М.К., Джардемалиев Ж.К. Культивируемые клетки пшеницы и кукурузы. Морфогенез и толерантность // Физиология растений. – 1994. – Т. 41, № 6. – С. 807 – 814.
6. Знаменская В.В. Принципы и методы создания и поддержания исходного материала на современном этапе селекции сахарной свеклы // Диссертация доктора с. – х. наук. – Рамонь, 1999. – 317 с.
7. Burnett L., Yarrow S., Huang B. Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of *Brassica rapa* L. ssp. *oleifera* // Plant Cell Rep. – 1992. – Vol. 11. – P. 215 – 218.
8. Котлярова Е.Б. Аспекты применения методов биотехнологии в селекции ярового рапса (*Brassica napus* L.) // Диссертация кандидата биол. наук. – Липецк, 2007. – 128 с.
9. Sitbon M. Production of haploid *Gerbera Jameesonii* plants by *in vitro* culture unfertilized ovules // Agronomie. – 1981. – 1, № 9. – P. 807 – 812.
10. Подвигина О.А. Теоретическое обоснование и приемы использования методов биотехнологии в селекции сахарной свеклы // Диссертация доктора с. – х. наук. – Воронеж, 2003. – 277 с.

PLANT GENOTYPE AS ONE OF LIMITING FACTORS OF BIOTECHNOLOGICAL RESEARCHES ON PEAS

M.N. Saschenko

FGBNU «THE ALL-RUSSIA SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF SUGAR BEET OF NAMED AFTER A.L. MAZLUMOV»

Abstract: In the article results of researches of influence of genotype of peas plants on ability for microreproduction in the conditions of tissue culture are presented. It is shown that the highest output of well developed microclones from one entered plant is provided by undersized (short stem) and semileafless genotypes.

Keywords: Peas, morphotypes, genotype influence, tissue culture, microclonal reproduction.

УДК 635.656:575.1.633.18

УРОВЕНЬ ПРОЯВЛЕНИЯ И НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ ПРОДУКТИВНОСТИ У ГИБРИДОВ ГОРОХА F₁

Е.А. ФАДЕЕВ, кандидат сельскохозяйственных наук,
М.Л. ПОНОМАРЕВА, доктор биологических наук,
А.Н. ФАДЕЕВА, кандидат биологических наук,
ФГБНУ «ТАТАРСКИЙ НИИ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА»

Изучено наследование массы и числа семян на растении, числа семян в бобе, массы 1000 семян у растений гибридов F₁, полученных при скрещивании родителей с различными листьями и бобами. Выявлено наследование доминантными системами генов признаков «число и масса семян с растения». В наследовании признаков «число семян в бобе, масса 1000 семян» участвуют гены аддитивного и эпистатического действия.

Ключевые слова: горох, наследование, гибриды.

Изучение генетических систем контроля хозяйственно значимых признаков существенно продвинуло наши знания и возможности селекционного улучшения сортов гороха. В литературных источниках приводятся сведения о различном уровне проявления показателя наследования важнейших количественных признаков гороха. В генетической системе контроля хозяйственно ценных признаков наряду с генами, проявляющими преимущественно аддитивный эффект, в наследование этих признаков значительный вклад вносят гены со сверхдоминантным действием [1]. Признак «масса семян с растения» – интегральный показатель уровня продуктивности – по средним значениям у гибридов F₁ чаще превосходит родительские формы. По данным Л.В. Омелянюк и Калашник Н.А. [2] проявление гетерозисного эффекта в различных группах сортов определяется разными генетическими системами: аддитивным действием доминантных генов и неаллельным взаимодей-