

УДК 57.085.2

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИЧЕСКОЙ СХЕМЫ КОНТРОЛЯ ГАМЕТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ РЕГЕНЕРАНТОВ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ (*BRASSICA OLERACEA L.*) В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ *IN VITRO* ПУТЕМ ДНК-ГЕНОТИПИРОВАНИЯ

**Н.В. Епифанович, Ж.М. Мухина, Е.Г. Савенко, С.В. Королева, В.А. Глазырина,  
Л.А. Шундрин, Ю.В. Епифанович**

*Всероссийский НИИ риса, Краснодар, Россия, agroplazma@gmail.com*

В рамках данного исследования предпринимается попытка усовершенствовать схему получения удвоенных гаплоидов капусты белокочанной в культуре пыльников *in vitro*. Основной принцип такого улучшения – сравнение генотипов донорских растений и регенерантов с помощью микросателлитных маркеров.

**Ключевые слова:** культура пыльников *in vitro*; капуста белокочанная; дигаплоидная линия, микросателлитный профиль; гаметное происхождение регенерантов.

Безусловные конкурентные преимущества применения экспериментальной гаплоидии в практических селекционных программах важных сельскохозяйственных культур:

– сокращение времени создания высококачественного, конкурентноспособного селекционного продукта – сортов и гибридов F1;

– высокая морфологическая однородность – неотъемлемое требование качества.

Повышение выравненности отечественных гибридов капусты белокочанной (*Brassica oleracea L.*) значительно поднимет их статус и конкурентоспособность на внутреннем российском рынке семян. В настоящий момент это крайне актуально, так как иностранными компаниями занято доминирующее положение на рынке семян овощей (до 80% сегмента семян внутреннего рынка страны).

С высокой эффективностью этого можно достичь при помощи перевода оригинальных линий (родительские формы гибридов) на дигаплоидный уровень с жестким массовым контролем гаметного происхождения получаемых дигаплоидов.

Классический способ гомозиготизации оригинальных линий – принудительное самоопыление и отбор наиболее выровненных потомств в течение 6–8 поколений. Для выполнения этих мероприятий у двулетних овощных культур, к которым относится и капуста белокочанная, необходимо 12–16 лет. Таким образом, селекционный процесс этой важнейшей сельскохозяйственной культуры является длительным и трудоемким.

В этой связи роль технологии гарантированного получения дигаплоидных линий для последующего использования их в качестве родительских форм особенно велика, так как позволяет в разы ускорить процесс создания коммерческих гибридов F1.

В рамках данного исследования предпринимается попытка усовершенствовать схему получения удвоенных гаплоидов капусты белокочанной в культуре пыльников *in vitro*. Усовершенствованная схема позволит сократить продолжительность селекционной работы по созданию «чистых» (гомозиготных) линий для получения F1 гибридов до 1 года, что в 10 раз меньше по сравнению с генетической схемой селекции двухлинейных F1 гибридов данной овощной культуры на основе физиологической самонесовместимости.

Основной принцип усовершенствования – сравнительное генотипирование донорных форм (источник эксплантов) и полученных из них регенерантов молекулярными (микросателлитными) маркерами. В работе используются маркеры: Na10-D09, Na12-A02, Na12-F12, Ni2-B02, Ni3-G04B, O112-A04, Ra2-E12, BRMS-006. Экспериментальным путем оптимизированы условия ПЦР применительно к исследуемым генотипам капусты белокочанной.

Для массового анализа информативным и достаточным является сравнение микросателлитного профиля лишь по одному маркеру, если он демонстрирует состояние гетерозиготности у донорной формы, так как дигаплоидный (гаплоидный) регенерант всегда будет гомозиготным в любом исследуемом локусе ДНК.

Учитывая, что в подавляющем большинстве случаев в качестве доноров используются гибриды F1, подобрать такой маркер несложно. При соматическом происхождении всегда будет наблюдаться идентичность микросателлитных профилей регенерантов с таковыми у донорных растений, чего не будет в случае их гаметного происхождения. Такой способ ранжирования регенерантов со 100%-й точностью выявит растения, имеющие гаметное происхождение (микроспоры).

Данная методическая схема в настоящее время проходит апробацию грунт-контролем. Отобранные вышеуказанным способом андрогенные регенеранты высажены в

теплицу для проверки однородности по морфологическим признакам.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 70–71

## DEVELOPING OF METHODIC SCHEME OF GAMETE SOURCE CONTROL OF *BRASSICA OLERACEA* L. PLANT REGENERANTS IN ANther CULTURE BY DNA-GENOTYPING

N.V. Epifanovitch, Zh.M. Mukhina, E.G. Savenko, S.V. Koroleva, V.A. Glazyrina,  
L.A. Shundrina, Yu.V. Epifanovitch

*All-Russian Research Institute of Rice, agroplazma@gmail.com*

There is an attempt to improve the scheme of double haploid lines of *Brassica oleracea* L. developing in anther culture. The main principle of such improving is comparing genotyping of donor forms (the explants source) and plants regenerated from these donors by microsatellite markers. In the case of somatic origination of regenerated plants there will be an identity of their microsatellite profiles with those of donor plants. In the case of gamete originations of regenerated plants there will not be such identity. Such method of ranging will identify gamete origination of regenerated plants with 100% precision.