

УДК 57.085.2:633.1

## КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ЗЕРНОВЫХ НА СЕЛЕКТИВНЫХ СРЕДАХ В СЕЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЕ КРАСНИИСХ

*В.Ю. Ступко, С.Ю. Луговцова, Н.А. Нешумаева, С.А. Герасимов, А.В. Сидоров*  
*Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное*  
*подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Российская Федерация*

Методы культивирования каллусных тканей давно применяются в создании новых форм сельскохозяйственных культур как источники соматической изменчивости. Охарактеризованы результаты исследований по оптимизации методов работы с дедифференцированными тканями зерновых культур (ячмень, пшеница, овёс) для создания регенерантных линий с устойчивостью к эдафическим стрессовым факторам. Приведены другие направления использования данной технологии в работе КрасНИИСХ.

**Ключевые слова:** соматическая изменчивость, *in vitro*, ячмень, пшеница, овёс, эдафические стрессы

## APPLICATION OF CALLUS CULTURES OF CEREALS UNDER SELECTIVE MEDIA IN THE BREEDING WORK OF KRASNOYARSK RESEARCH INSTITUTE OF AGRICULTURE

*V.Yu. Stupko, S.Yu. Lugovtsova, N.A. Neshumaeva, S.A. Gerasimov, A.V. Sidorov*  
*“Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”,*  
*Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture, Russia*

Methods of callus cultivation have long been used in the creation of new forms of agricultural crops as sources of somaclonal variability. The results of the investigations of optimize methods of manipulation with dedifferentiated tissues of grain crops (barley, wheat, oats) to create regenerant lines with resistance to edaphic stress factors are characterized. Other directions for application of this technology in the work of the Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture are given.

**Keywords:** somaclonal variations, *in vitro*, barley, wheat, oats, edaphic stresses

**Введение.** Для расширения пула источников хозяйственно-полезных признаков при создании новых форм зерновых используются, помимо диких сородичей культурных растений [1], также и искусственно индуцированные изменения в имеющемся селекционном материале. Здесь можно упомянуть не только мутагенез [2], но и явление соматической изменчивости, имеющее место в дедифференцированных тканях растений *in vitro* при их массовой пролиферации [3]. Культивирование растительных тканей на питательных средах, имитирующих тот или иной стрессовый фактор, позволяет не только создавать новые формы, но и при определённых условиях проводить оценку уже имеющихся селекционных линий на устойчивость. Целью данной публикации является краткий обзор подходов, используемых в работе Красноярского НИИСХ в части внедрения биотехнологических методов в селекционный процесс.

**Материалы и методы.** В подготовке материала использованы данные библиографической базы Elibrary.

**Создание новых форм зерновых культур.** Внедрение методов работы с культурами изолированных тканей в процесс создания новых форм зерновых в Красноярском НИИСХ началось в конце 90-х гг. В качестве пилотной была выбрана культура ячменя ярового [4]. Затем работы были расширены за счёт яровой мягкой пшеницы [5] и ярового овса [6]. Основным направлением в данных исследованиях являлась оптимизация условий отбора соматоклональных вариантов на средах, имитирующих эдафический стресс (засуха, засоление, низкий pH), чуть позднее в исследованиях начали использовать и среды с фильтратом культуральной жидкости (ФКЖ) грибов рода *Fusarium*.

К настоящему времени выбраны наиболее отзывчивые типы эксплантов [7], оптимизированы составы сред, обеспечивающие высокую индукцию каллусогенеза и частоту регенерации растений, степень давления селективирующего фактора [8], в частности концентрации ФКЖ микромицетов р. *Fusarium* [9]. Особенностью подхода является использование в работе региональных штаммов фитопатогенов, коллекция которых насчитывает уже более 150 изолятов. В программах клеточной селекции зерновых используются наиболее агрессивные штаммы.

Результатом лабораторных исследований стала также технология создания форм зерновых культур на основе индуцированной в ходе процессов дедифференциации клеток соматоклональной изменчивости (рис. 1).



Рисунок 1. Схема получения регенерантных линий зерновых культур с устойчивостью к эдафическим стрессовым факторам.

Созданные в отделе оценки селекционного материала регенерантные линии ярового ячменя, яровой мягкой пшеницы и ярового овса были размножены в условиях светокультуры, а затем в полевых условиях. Оценка их урожайности в мелкоделяночных опытах продемонстрировала превосходство таких образцов по ряду параметров структуры урожая в годы с низким ГТК [10], а также на кислых почвах (Тюхтетский район) и засоленном фоне (Северо-Кулундинская СХОС) [11].

С использованием пакетов программ «Metan» и «Agrostab» для R 4.0.4 в среде разработки RStudio 1.4.1103 (2009–2021 RStudio, PBC) для всех трёх культур проведена оценка стабильности массы 1000 зерен. Установлено, что большинство регенерантных линий, полученных из

отобранных в условиях каллусной культуры соматоклональных вариаций, превосходили свои донорные генотипы по стабильности [12, 13, 14]. В исследованиях были задействованы параметрические ( $\sigma^2_{CACi}$ ,  $b_i$ ,  $s^2_{di}$ ) и непараметрические ( $P_i$ ,  $S^{(1)}$ ,  $S^{(3)}$ ,  $NP^{(2)}$ ) индексы. При этом лишь отдельные регенерантные линии имели массу 1000 зерен ниже, чем их донорный генотип.

При анализе параметров стабильности урожайности в мелкоделяночных опытах была показана большая агрономическая стабильность линий пшеницы, полученных, например, от селекционной линии КС-1607 (рис. 2) – низкая  $s^2_d$ . В то время как линии, чьими донорными генотипами являлись сорта Минуса, Новосибирская 15 и Таежная, отнесены к образцам, хорошо переносящим неблагоприятные условия ( $b_i < 0,7$ ).

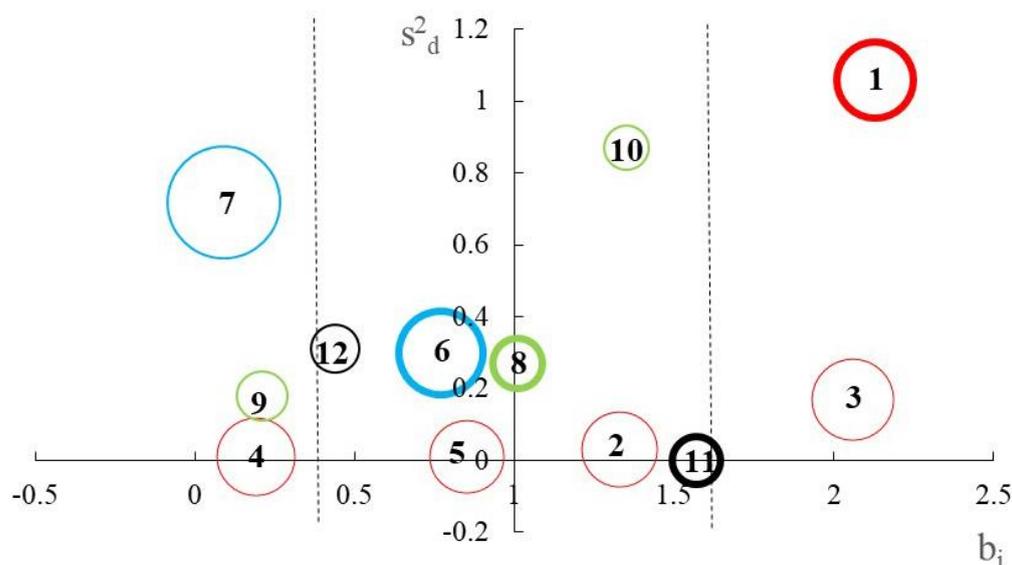


Рисунок 2. Характеристика стабильности донорных генотипов пшеницы (утолщенные линии) и их регенерантных линий (тонкие линии того же цвета) на основе данных линейной регрессии. Диаметр соответствует величине урожайности т/га. 1 – КС-1607, 2, 3, 4, 5 – линии от КС-1607, 6 – Минуса, 7 – линия от Минуса, 8 – Новосибирская 15, 9, 10 – линии от Новосибирская 15, 11 – Таежная, 12 – линия от Таежная.

Повышение фенотипической стабильности образцов в ходе отбора соматоклонов особо отмечено при изучении регенерантных линий голозерного овса [14].

Выделившиеся по результатам оценки на малых делянках (1 м<sup>2</sup>) регенерантные линии передаются в селекционные подразделения КрасНИИСХ. Они используются как источники устойчивости в гибридных комбинациях, так и в качестве самостоятельных селекционных образцов. Селекционный материал с участием регенерантных линий пшеницы, полученных на средах с имитацией засухи (например РЗ-79-2.7.16) и засоления (РС-Минуса-3.13), а также с нейтральной (РН-142-4.2.1) находится во всех селекционных питомниках. Созданная в условиях каллусной культуры на среде, имитирующей засуху, регенерантная линия овса от сорта Голец, превысила его по урожайности в среднем за 2022-2023 гг. на 0,38 т/га и оказалась скороспелее донорного генотипа на 4 дня. Также данный образец отличается от сорта Голец более коротким стеблем (рис. 3).

**Каллусные культуры в оценке стрессоустойчивости.** С использованием ПАМ-флуориметрии выявлены особенности фотосинтетической активности недифференцированных тканей зерновых культур *in vitro* в условиях индуцированного эдафического стресса [15]. На основе этих результатов разработан метод оценки засухоустойчивости пшеницы на основе данных флуоресценции хлорофилла каллусных культур, культивируемых на питательной среде,

имитирующей осмотический стресс [16]. Этот подход к скринингу генотипов показал свою состоятельность в работе селекционных подразделений [17].



Рисунок 3. Сорт Голец (слева) и регенерантная линия (справа) (ОПХ «Минино», КСИ, 2023 г.)

Определение пределов толерантности каллусных культур овса к ФКЖ грибов р. *Fusarium* позволило разработать методику оценки устойчивости селекционных образцов к данному патогену, основанную на комплексном учёте пролиферативной активности каллуса, частоты регенерации и некроза тканей. Технология внедрена и используется в мониторинге устойчивости перспективных линий в условиях КСИ.

**Заключение.** Итогом более чем 20-летних исследований в области культивирования изолированных тканей зерновых культур стал пул источников устойчивости, насчитывающий более 50 регенерантных линий, более половины из которых превосходят свои донорные генотипы по фенотипической стабильности, при сохранении массы 1000 зерен на уровне доноров. Применение методов оценки устойчивости селекционных линий к биотическим (корневые гнили) и абиотическим (засуха) факторам позволяет более комплексно подходить к процессу селекции.

**Благодарности.** Работы выполнены в рамках Государственного задания согласно тематическому плану по проектам №124012900555-6, №121052500127-8 и №АААА-А17-117110240003-2.

### Библиографический список

1. Крупин П.Ю., Дивашук М.Е., Карлов Г.И. Использование генетического потенциала многолетних дикорастущих злаков в селекционном улучшении пшеницы (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2019. № 3. С. 409-425.
2. Агробиологические признаки яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при обработке семян химическим мутагеном фосфемидом / Н.А. Боме [и др.] // Сельскохозяйственная биология. 2017. № 3. С. 570-579
3. Егорова Н.А., Ставцева И.В. Биотехнологические приемы получения форм шалфея, устойчивых к осмотическому стрессу *in vitro* // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2013. № 8. С. 93–100.

4. Коньшева Е.Н., Зобова Н.В. Результативность получения растений-регенерантов ярового ячменя в культуре *in vitro* на селективных средах // Вестник КрасГАУ. 2006. № 10. С. 137-141.
5. Ступко В.Ю., Зобова Н.В., Сурин Н.А. Подбор условий для создания в культуре *in vitro* стрессоустойчивых форм мягкой яровой пшеницы // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2008. № 6. С. 20-26.
6. Зобова Н.В., Луговцова С.Ю., Ступко В.Ю. Условия обеспечения эффективных процессов регенерации в культуре изолированных зародышей ячменя, пшеницы и овса // Вестник КрасГАУ. 2011. № 12. С. 110-116.
7. Ступко В.Ю., Зобова Н.В., Терлецкая Н.В. Зрелые и незрелые зародыши пшеницы в исследованиях на каллусных культурах // Оптимизация селекционного процесса – фактор стабилизации и роста продукции растениеводства Сибири ОСП - 2019: материалы международной научной конференции. Красноярск. 2019. С. 66-68.
8. Stupko V.J., Zobova N.V. Callus culture technology of spring soft wheat stress tolerant varieties selection // Biochemistry and Biotechnology: Research and Development. 2012. P. 51-61.
9. Луговцова С.Ю., Ступко В.Ю., Нешумаева Н.А. Влияние культуральных фильтратов грибов рода *Fusarium* на каллусные культуры овса // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2023. № 10. С. 15-22.
10. Ступко, В.Ю., Луговцова С.Ю., Зобова Н.В. Полевая оценка результативности создания *in vitro* стрессоустойчивых форм ячменя и пшеницы // Достижения науки и техники АПК. 2014. № 6. С. 11-14.
11. Заболоцкий Е.В. Характеристика адаптивных свойств линий-регенерантов ярового ячменя, полученных на селективных средах: автореф. на соиск. ученой степ. канд. с.-х. наук: 03.00.16 – экология. Красноярск, 2006. 18 с.
12. Луговцова С.Ю., Ступко В.Ю. Оценка стабильности линий регенерантов ячменя в рамках текущего селекционного процесса // Зерновое хозяйство России. 2022. № 5. С. 26-32.
13. Ступко В.Ю., Сидоров А.В. Фенотипическая стабильность регенерантных линий яровой мягкой пшеницы // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2023. № 1. С. 144-153.
14. Ступко В. Ю., Луговцова С.Ю. Оценка стабильности регенерантных линий овса, сформировавшихся в условиях каллусной культуры *in vitro* // Достижения науки и техники АПК. 2023. № 3. С. 28-33
15. Ступко В.Ю., Зобова Н.В., Гаевский Н.А. Биофизические подходы в оценке стрессоустойчивости яровой пшеницы // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2013. № 1. С. 18-23.
16. Способ оценки засухоустойчивости генотипов пшеницы: пат. 2560580 Рос. Федерация. № 2014105956/10 / заявл. 18.02.2014 ; опубли. 20.08.2015, Бюл. №23. 6 с.
17. Перспективные способы оценки яровой мягкой пшеницы на чувствительность к эдафическим стрессам / В. Ю. Ступко [и др.] // Достижения науки и техники АПК. 2019. № 10. С. 45-50.