

ВЫДЕЛЕНИЕ ГИБРИДНЫХ КОМБИНАЦИЙ С ВЫСОКОЙ ОТЗЫВЧИВОСТЬЮ НА КУЛЬТУРУ ПЫЛЬНИКОВ

Верещагина С.А.; Бушман Н.Ю.; Малюченко Е.А.; Бруяко В.Н.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт риса»,
г. Краснодар

Сокращение времени, необходимого для создания сортов - основное назначение получения дигаплоидов в культуре пыльников [1-3, 6-7].

Об эффективности использования метода можно судить на примере Китая, в котором через культуру пыльников первые сорта риса получены в 1975 году [8]. В основном для их создания использовали гибриды первого поколения. Уже к 1983 году было районировано 28 новых сортов, полученных при помощи данного метода. Среди них Xin-xiu, Wan- keng, выращиваемые на площади 300 000 и 530 000 га, соответственно [4].

Культивирование пыльников гетерозисных гибридов риса позволяет создать на их основе сорта риса с такой же продуктивностью, как исходные гибриды, и даже выше сорта Nan-hua 5, Nan-hua 11, Nan-hua 22, полученные из пыльцы гибридов Nan-you; Shan-hua 7701, Shan-hua 78-1791, Shan-hua 7706, Shan-hua 792, Shan-hua 793 из пыльцы Shan- you; Yin -hia из пыльцы Yin-you являются примерами таких сортов [11-15].

Культивирование пыльников является частью методик закрепления гетерозисного эффекта по методу В.А. Струнникова [9-10] и методу, разработанному во ВНИИ риса [1, 5]. Связи с этим особую актуальность приобретают исследования, связанные с совершенствованием методов получения дигаплоидных линий и выделением комбинаций, отзывчивых на культуру пыльников, что и являлось предметом наших исследований.

Для высадки на среду использовали пыльники 67 гибридных комбинаций: гибриды между дигаплоидными линиями одной гибридной комбинации, между российскими сортами, между российскими и зарубежными образцами, межподвидовые гибриды. Отбирали побеги с расстоянием между флаговым и предпоследним листом – 5-10 см. Холодовая обработка метелок проходила в течение 5-12 дней при температуре 7⁰С. Стерилизацию проводили в течение 20 минут 20 % раствором промышленной «Белизны». Обмывали метелки троекратно дистиллированной водой. Высадка пыльников на среду проводилась с 5 по 10 день после отбора метелок. Подсчет каллуса проводили через каждые 5 дней с 30 по 80 день после высадки пыльников на среду. На чашку Петри с питательной средой высаживали 50-70 пыльников и оставляли в темном месте.

Максимальное количество каллуса получено при высадке на 9-10 день. Получение каллуса в большинстве комбинаций отмечено на 35-78 день после высадки пыльников на среду. Из рассматриваемых 6 вариантов сред, две (RZ и C) повышают каллусогенез в 7 раз по сравнению со средой N 6, рекомендуемой Международным институтом риса (табл. 1).

На среде N 6 (а) ни одна гибридная комбинация не показала более высокий выход каллуса, чем на других питательных средах. Для других сред характерно было наличие гибридных комбинаций, обеспечивающих максимальный выход дигаплоидов, что подтверждает необходимость поиска оптимальной среды для каждой гибридной комбинации. Количество чашек Петри с высаженными пыльниками составляло по 100 штук на каждой питательной среде.

Таблица 1

Содержание гормонов в изучаемых средах, мл

Среда	2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота	Нафтилукусная кислота	Кинетин
N6 (а)	2	-	-
N6 (б)	0	2	0,5
N6 (в)	0,5	2,5	0,5
N6 (г)	1	2,5	0,5
RZ	0,5	2	0,5
С	2	-	0,5

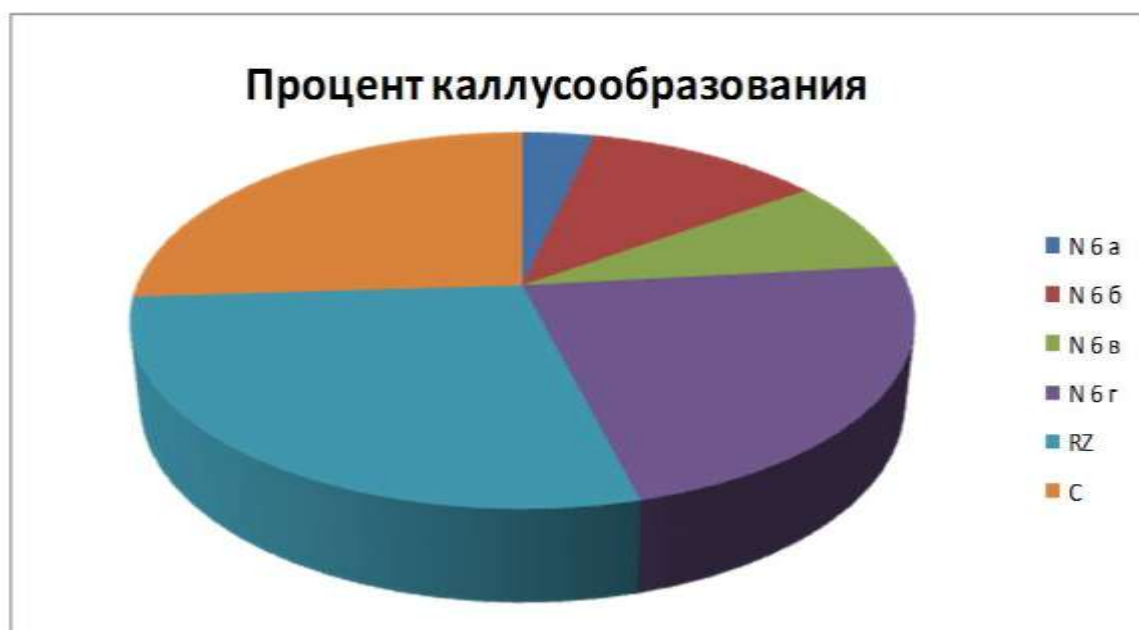


Рис. 1. Процент каллусообразования на питательных средах, %

В среднем процент каллусообразования для питательных сред был различен: для среды N 6 (а) он составил $0,81 \pm 0,08$; N 6 (б) – $2,65 \pm 0,34$; N 6 (в) – $1,85 \pm 0,19$; N 6 (г) – $5,18 \pm 0,25$; RZ – $6,4 \pm 0,31$; С – $5,93 \pm 0,28$.

Таким образом, среды RZ и С достоверно не различались по выходу каллуса, остальные среды значительно уступали им по данному признаку. Однако гормональный состав их различен. Если среда RZ содержит нафтилукусную и дихлорфеноксиуксусную кислоты, то среда С – только 2,4-D.

Среды с повышенным содержанием солей KNO_3 , KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, H_3BO_3 , $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, а также более высоким содержанием витаминов и регуляторов роста (Rz, C), обеспечивают более высокий выход каллуса.

Выделены генотипы, наиболее отзывчивые на культуру пыльников (табл. 2).

Таблица 2

Гибридные комбинации, обеспечивающие максимальный выход каллуса

Гибридная комбинация	Дата сбора метелок	Дата высадки каллуса	Кол-во дней предварительной обработки	Среды	Процент каллусообразования, %
Флагман/N22	03.08.12	14.08.12	11	RZ	41,2
Флагман/Dular	03.08.12	14.08.12	11	C	39,3
R3/Анаит	14.08.12	21.08.12	7	N 6 б	38,3
ИРТ13/Виола	23.07.12	30.07.12	7	RZ	36,3
Китайский 12	03.08.12	14.08.12	11	RZ	36
Baldo/Рапан	23.07.12	30.07.12	7	RZ	35,1
Нарцисс/N22	03.08.12	14.08.12	11	C	33,2
Дружный/КС1	23.07.12	01.08.12	9	N 6 в	32,4
Шарм/Dular	08.08.12	16.08.12	8	RZ	30,2
Серпантин/IR72	23.07.12	30.07.12	7	N 6 г	29,3
Флагман/N22	14.08.12	20.08.12	6	N 6 г	25,4
JR/Long	17.08.12	24.08.12	7	RZ	25,3
Дружный/КС1	23.07.12	01.08.12.	9	RZ	21,5
Флагман/N22	14.08.12	20.08.12	7	N 6 б	17,3
R3/Анаит	14.08.12	21.08.12	7	N 6 в	15,6
Китайский 12	23.07.12	31.07.12	8	N 6 г	15,3
Хазар/Изумруд	23.07.12	01.08.12.	9	N 6 г	15,3
JR 158/Рапан	03.08.12	14.08.12	11	C	13,7
Анаит/Janimbao	25.07.12	07.08.12	13	C	12,3
68В/Шарм	14.08.12	20.08.12	6	C	11,9
Изумруд/Зи Дао	23.07.12	30.07.12	7	N 6 г	10,9
Анаит/Janimbao	25.07.12	7.08.12.	13	N 6 а	8,9
Baldo/Изумруд	23.07.12	01.08.12	9	N 6 в	8,3

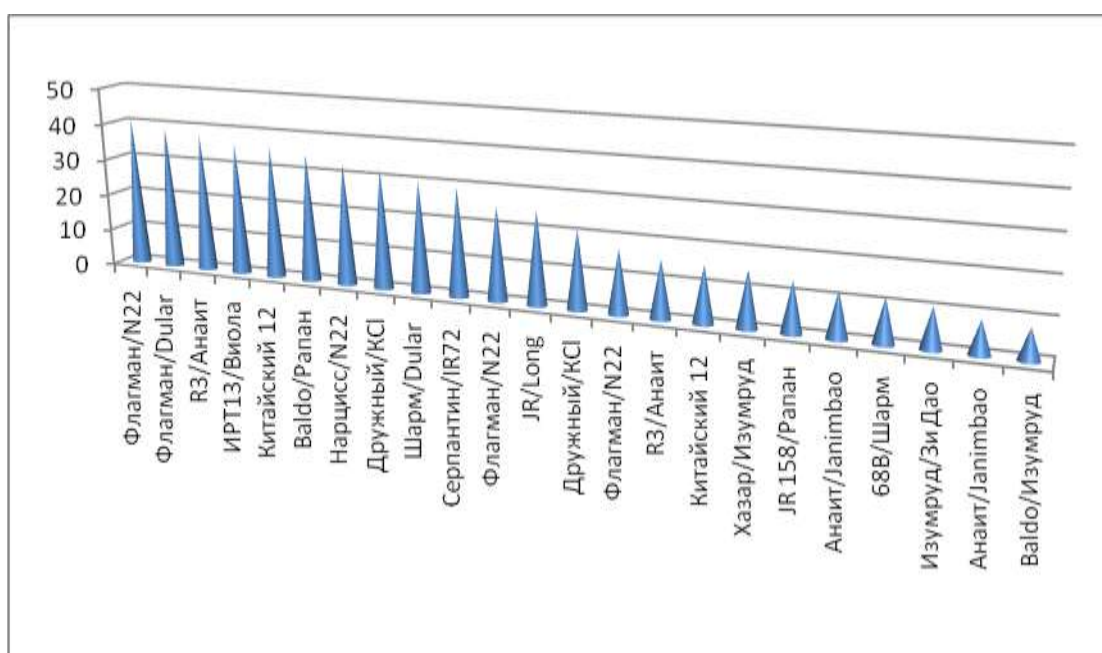


Рис. 2. Процент каллусообразования в каждой гибридной комбинации, %

Наибольший выход каллуса получен в гибридных комбинациях: Флагман/N22, Флагман/Dular, R3/Анаит, ИРТ13/Виола, Китайский 12, Baldo/Папан, Нарцисс/N22, Дружный/KCl, Шарм/Dular, Серпантин/IR72, JR/Long.

Таким образом, среды с повышенным содержанием солей KNO_3 , KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, H_3BO_3 , $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, а также более высоким содержанием витаминов и регуляторов роста (Rz, C), обеспечивают более высокий выход каллуса в комбинациях с сортами российской селекции по сравнению с общепринятой для подвида japonica средой N6.

Из таблицы 2 видно, что гибридная комбинация Флагман/N22 была высажена на 3 среды (Rz, N6 г, N6 б) и показала следующие показатели каллусообразования: 41,2; 25,4; 17,3 % соответственно. Комбинация R3/Анаит показала следующие результаты на средах: N6 б – 38,3 %; а на N6 в – 15,6 % каллусообразования. Образец Китайский 12 находился на средах Rz и N6 г и имел следующие значения показателей каллусообразования: 36 и 15,3 % каллусообразования соответственно. Гибридная комбинация Дружный/KCl была высажена на питательную среду N6 в, где ее процент каллусообразования составил 32,4 %, а на среде Rz – 21,5 %. Комбинация Анаит/Janimbao показала следующие результаты на средах: C – 12,3 %, N6 а – 8,9 % каллусообразования.

Литература

1. Гончарова Ю.К. Селективная элиминация аллелей при получении диплоидных линий в культуре пыльников риса. Генетика. – 2013. – Т. 49. – № 2. – С. 196.

2. Гончарова Ю.К., Савенко Е.Г., Глазырина В.А. Причины низкого выхода регенерантов в культуре пыльников // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы, научное обеспечение и перспективы развития рисоводства в 21 веке», – 2003. – С. 34-37.

3. Гончарова Ю.К., Савенко Е.Г., Глазырина В.А. Способность к каллусообразованию и регенерации зеленых растений у гибридов с различной величиной гетерозисного эффекта // Материалы международного симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». – Пушкино, Россия, – 2005. – С. 245-246.

4. Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М., Литвинова Е.В. Природа гетерозисного эффекта // Доклады РАСХН. – 2010. – №4. – С. 10-12.

5. Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М. Способ закрепления гетерозиса гибридов в последующих поколениях патент на изобретение RUS 2465771 13.07.2011

6. Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М., Бушман Н.Ю., Верещагина С.А. Сравнительный анализ эффективности питательных сред для индукции каллусообразования у гибридов риса. Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2013. – № 6. – С. 6-9.

7. Гончарова Ю.К. Наследование признака "отзывчивость на культуру пыльников" у риса/ Ю.К. Гончарова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2008. – № 2. – С. 40-42.

8. Гончарова Ю.К. Использование культуры пыльников в селекции риса» /Ю.К. Гончарова // Краснодар. – 2013. – 91 с.
9. Струнников В.А., Струнникова Л.В. Закрепление гетерозиса в ряду последовательных поколений без гибридизации // ДАН -2000. –т. 374. – №2.
10. Струнников В.А., Струнникова Л.В. Природа гетерозиса, методы его повышения и закрепления в последующих поколениях без гибридизации. // Известия АН. Серия биологическая, – 2000г. – №6. – С. 679-687.
11. Shi C.H., J. Zhu, R.C. Zang and G.L. Chen. Genotype x environment interaction effects and heterosis analysis for cooking quality traits of indica rice // Rice Genetics Newsletters – 2004. – Vol. 13 – P. 1-3.
12. Chen Chen, Y., Q. Zuo, S. Li, D. Lu and S. Zheng Green plants regenerated from isolated rice pollen grains *in vitro* and the induction factors. Acta Genetica Sinica 8. – 1981. – P. 158-168.
13. Chen L. J., P. C. Lai, C. H. Liao and H. S. Tsay Medium evaluation for rice anther culture // Plant Tissue Culture, Tokyo – 1982. – P. 551-552.
14. Chen Y. The inheritance of rice pollen plant and its application in crop improvement // Haploids of higher plants *in vitro*, Berlin – 1986. – Vol.1. – P. 18-133.
15. Chen Y. Anther and pollen culture of rice // Haploids of higher plants *in vitro*, China Academic Publishers, Beijing. – 1986. – P. 3-25.