

ПОЛУЧЕНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАНТНЫХ ЛИНИЙ ОГУРЦА



Варданян И.В. – кандидат биол.наук, зав. лабораторией биотехнологии растений

Тадевосян Л.М. – кандидат с.-х. наук, зав. отделом селекции, семеноводства и технологии возделывания нетрадиционных культур

Мелоян Вааг А. – научный сотрудник отдела селекции, семеноводства и технологии возделывания бахчевых культур

Арутюнян З.А. – кандидат с.-х. наук, научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений

Научный центр овоще-бахчевых и технических культур МСХ РА
0808, ул. Д.Ладояна 38, пос. Даракерт, Араратская область, Республика Армения
E-mail: irisha_01@inbox.ru, www.rcvc.agro.am

Применение методов биотехнологии, в частности каллусной культуры, позволило за короткий срок получить соматоклональные варианты огурца, из которых было отобрано 6 перспективных регенерантных линий. Новые генотипы отличались раннеспелостью, процентом партенокарпии, массой и качеством плодов, урожайностью. Линии можно использовать в качестве исходного материала в гетерозисной селекции огурца, а также для улучшения донорных сортов.

Ключевые слова: каллусная культура, регенерантные линии, огурец, селекция.

Введение

Культура огурца имеет важное экономическое значение, поэтому ей отводятся значительные площади как в открытом, так и в защищенном грунте. Повышение рентабельности производства невозможно без внедрения современных высокотехнологических сортов. Конкуренция за посевные площади с коммерческими гибридами иностранных фирм, характеризующимися прекрасным внешним видом плодов и комплексной устойчивостью, ужесточает требования к селекции. Помимо высокой урожайности, устойчивости к стрессовым условиям выращивания и заболеваниям, большое внимание уделяется качеству зеленца (Shetty,

Wehner, 2000; Прутенская, 2003; Шамшина, 2003).

В настоящее время при выведении новых сортов сельскохозяйственных культур применяют методы биотехнологии, в основе которых лежит культивирование изолированных органов и тканей растений на искусственных питательных средах с последующей регенерацией растений (Сидоров, 1990; Соболева, 2000). Основными задачами биотехнологии в области агрономии являются те же, что и при традиционной селекции растений – получение новых вариантов растений с повышенной устойчивостью и урожайностью и введение в них различных полезных признаков (Тарасенков, 2006).

Для селекции особый интерес представляет регенерация растений из недифференцированной каллусной ткани, в результате чего образуются растения-регенеранты, так называемые соматоклональные варианты, которые отличаются от исходных растений. Получение соматоклональных вариантов методом каллусной культуры *in vitro* и в дальнейшем их применение как исходного материала в гетерозисной селекции огурца, дает возможность за короткий срок получить новые линии, отвечающие требованиям рынка.

Целью нашей работы было изучение исходного материала (регенерантных линий) огурца, полученного методом каллусной культуры *in*

in vitro, для дальнейшего использования их в гетерозисной селекции.

Материалы и методы

Исследования проводили в лаборатории биотехнологии растений и в опытных теплицах Научного центра овоще-бахчевых и технических культур МСХ РА согласно тематическому плану научно-исследовательских работ. В качестве модельных растений использовали местный сорт Назрван-55 (контроль-1) и зарубежный гибрид F₁ Кукино (контроль-2).

Опыты в условиях *in vitro*. Для получения регенерирующей каллусной культуры использовали различные типы эксплантов: сегменты гипокотила, эпикотила, семядолей и настоящих листьев. Ткани культивировали при температуре 22...26°C в темноте, затем в камере искусственного климата при освещенности 5-8 тыс. люкс и продолжительностью светового периода 16 часов. Повторность опытов была трехкратной, в каждой по 6 колб с культурами.

Для регенерации каллусной ткани и микроразмножения регенерантов нами были использованы питательные среды, основой которых служила среда Мурасиге и Скуга (МС) (Murashige, Skoog, 1962). В зависимости от этапа культивирования среды были дополнены фитогормонами: БАП (6-бензиламинопурин), НУК (α -нафтилуксусная кислота), ИУК (индоллил-3-уксусная кислота). В опытах проводили подсчет суммарного числа побегов от каждого типа экспланта.

Образовавшиеся растения-регенеранты (R₀) были размножены микрочеренкованием. Двухнедельные побеги стерильно разделяли на черенки (часть стебля с пазушной почкой) и проводили укоренение. Повторные операции по черенкованию проводили через 2 недели, из одного растения получали от 5 до 9 микрочеренков. Хорошо укоренившиеся в течение 9-10 суток растения переносили в грунт и выращивали в условиях теплицы.



Потомство выращивали и анализировали в условиях теплиц.

Опыты в условиях защищённого грунта. Опыты проводили в соответствии с Методическими рекомендациями и указаниями по селекции и семеноводству огурца (1999). Отбор и оценку соматоклональных вариантов осуществляли по ряду качественных и количественных признаков в потомстве R₀-R₁ в течение 2013-2014 годов. Проявление партенокарпии определяли в фазе технической зрелости зеленца подсчетом завязавшихся плодов и опавших завязей на 20 нижних узлах каждого растения. Величину партенокарпии определяли в процентном отношении по формуле Роговой Н.Т. (1976), за основу которой была взята формула О.М.В. De Ponti (Майка, 2006; Масловская, 2006). Определяли биохимический состав плодов: сухое вещество – рефрактометром, сахара – по Бертрану, витамин С – по Мурри (Петербургский, 1954). Математическую обработку данных урожая проводили методом дисперсионного анализа (Доспехов, 1985).

Растения-регенеранты вместе с контрольными растениями выращивали в период зимне-весенней вегетации. Опыты были заложены в 4-х повторностях, величина учётной делянки 9 м², площадь питания растений – 0,4 м² (70+70x50 см). Были проведены все необходимые агромероприятия по уходу за растениями. Из изученных 35 соматоклональных линий было выделено 6 вариантов с селекционно значимыми признаками.

Результаты и их обсуждение

***In vitro* исследования.** Опыты показали, что регенерационная активность каллусной культуры зависела от типа культивируемых эксплантов, сортовых особенностей и гормонального состава питательной среды. Сравнительно наибольшим морфогенетическим потенциалом обладали экспланты гипокотила, на средах МС с добавлением БАП+НУК (3,0+1,5 мг/л) и БАП+ИУК (3,0+0,5 мг/л). При этом число побегов на эксплант у Назрван-55 и Кукино составило 3,1-3,3 и 2,9-3,0 шт. соответственно.

Полученные регенеранты с целью размножения черенковали и помещали на питательную среду для укоренения. Опыты показали, что добавление в питательную среду гормональных соединений приводило к деформации и потере растений. Успешное укоренение черенков проходило на безгормональной питательной среде МС, содержащей набор солей в половинной концентрации. При этом процент укоренившихся побегов у сорта Назрван-55 составил 72,2%, а у Кукино F₁ – 87,2%.

Оценка регенерантных линий в защищенном грунте. Дальнейшие исследования регенерантных линий проводили в условиях защищенного грунта. По хозяйственно ценным признакам особый интерес представляли 6 перспективных линий: четыре по сорту Назрван-55 – NZV-R1, NZV-R5, NZV-R6, NZV-R45 и два по Кукино F₁ – K-R2, K-R4. В таблицах 1-3 приведены результаты исследований (средние

1. Биоморфологическая характеристика плодов регенерантных линий огурца

Генотип	Процент партенокарпических плодов	Плод зеленца			
		Форма, поверхность, цвет	Средняя длина, см	Средняя ширина, см	Средняя масса, г
Назрван-55 (контроль-1)	25,7	Цилиндрический, гладкий, светло-зеленый, с длинными светлыми полосами	16,8	4,0	210,5
NZV-R1	26,2	Цилиндрический, гладкий, светло-зеленый, с длинными светлыми полосами	17,7	4,5	215,2
NZV-R5	65,2	Удлиненно-цилиндрический, гладкий, зеленый, со светлыми полосами средней длины	17,6	3,8	185,7
NZV-R6	50,1	Удлиненно-цилиндрический, гладкий, зеленый, со светлыми полосами средней длины	18,8	4,0	177,1
NZV-R45	26,8	Цилиндрический, гладкий, светло-зеленый с длинными светлыми полосами	14,5	5,0	201,0
Кукино F1 (контроль-2)	60,4	Цилиндрический, гладкий, темно-зеленый	16,5	4,0	132,3
K-R2	65,3	Цилиндрический, гладкий, зеленый.	17,5	4,5	175,0
K-R4	71,1	Цилиндрический, гладкий, темно-зеленый.	17,1	4,3	144,2

данные, полученные в течение двух самоопыляющихся поколений R₀-R₁).

Зеленцы регенерантных линий NZV-R1, NZV-R45 по форме и цвету не отличались от исходного генотипа – контроля-1: цилиндрические, длинноплодные, гладкие, светло-зеленые, с длинными светлыми полосами, что отвечает предпочтениям армянского потребителя. Средняя масса плода при этом составила 215,2 и 201,0 г соответственно, при контроле-1 – 210,5 г. Зеленцы NZV-R5, NZV-R6 длинноплодные, темнее по сравнению с исходным генотипом (контроль-1), массой 185,7 и 177,1 г. Плоды новых генотипов K-R2 и K-R4 были крупнее контрольного варианта-2, масса которых составила 175,0 и 144,2 г (табл.1).

По показателю партенокарпии регенерантные линии отличались как от исходных генотипов, так и друг от друга. Следует отметить линии NZV-R5, NZV-R6 и K-R2, K-R4 у которых этот показатель составил 65,2, 50,1 и 65,3, 71,1% соответственно. По данным других исследователей высокая степень партенокарпии тесно связана с длинноплодностью и отсутствием бугорков (Пыженков, 1994; Майка, 2003). Подобная корреляционная связь наблюдается и в наших исследованиях (табл. 1).

Продолжительность прохождения отдельных фенологических фаз регенерантных линий изменилась незначительно по сравнению с исход-

ными генотипами. Выделились линии NZV-R5, NZV-R6, у которых созревание плодов наступало на 4-6 суток раньше.

Растения регенерантных линий отличались по продуктивности от исходных генотипов. Наиболее урожайными оказались: NZV-R5 (23,9 кг/м²), NZV-R6 (24,8 кг/м²), у которых прибавка к контролю-1 составила 3,1 и 6,9% соответственно; K-R2 (21,5 кг/м²), K-R4 (23,5 кг/м²) – прибавка к контролю-2 – 9,7 и 19,9% соответственно (табл. 2).

Результаты биохимического анализа плодов показали, что NZV-R5, NZV-R6 и K-R4 линии от исходных генотипов отличались повышенным содержанием сухого вещества

2. Продолжительность фенофаз и продуктивность регенерантных линий огурца

Генотип	Посев – массовые всходы, сутки	Массовые всходы – массовое цветение женских цветков, сутки	Массовые всходы – I-ый сбор, сутки	Период поступления урожая (от I-ого до последнего сбора), сутки	Урожайность*, **, кг/м ²
Назрван-55 (контроль-1)	8	35	55	86	23,2
NZV-R1	8	35	55	88	16,1
NZV-R5	7	33	51	90	23,9
NZV-R6	7	31	49	92	24,8
NZV-R45	7	36	55	86	19,5
* НСР ₀₅ = 0,27 кг/м ² , S _x = 0,42%					
Кукино F1 (контроль-2)	6	31	51	105	19,6
K-R2	6	31	51	105	21,5
K-R4	6	31	50	106	23,5
** НСР ₀₅ = 0,31 кг/м ² , S _x = 0,46%					

3. Биохимический анализ плодов изучаемых генотипов

Генотип	Сухое вещество, %	Сахара, %	Витамин С, мг/%
Назрван-55 (контроль-1)	4,27	0,56	3,23
NZV-R1	4,25	0,55	3,21
NZV-R5	4,28	0,75	3,33
NZV-R6	4,30	0,87	3,39
NZV-R45	4,26	0,56	3,22
Кукино F ₁ (контроль-2)	3,40	1,40	3,32
K-R2	3,70	1,36	3,22
K-R4	3,61	1,52	3,56
HCP05	0,04	0,04	0,05

(3,61-4,30%), сахаров (0,87-1,52%) и аскорбиновой кислоты (3,33-3,56 мг/%). Регенерантная линия K-R2 уступала контролю-2 по содержанию сахаров и аскорбиновой кислоты, и наоборот превышала по сухому веществу на 0,3%. Качественные показатели плодов NZV-R1 и NZV-R45 почти не отличались от исходного генотипа (табл. 3).

Выводы

Применение методов биотехнологии, в частности каллусной культуры,

позволило за короткий срок получить соматональные варианты огурца, из которых было отобрано 6 перспективных регенерантных линий: по сорту Назрван-55 – NZV-R1, NZV-R5, NZV-R6, NZV-R45 и гибриду Кукино F₁ – K-R2, K-R4. Линии от исходных генотипов отличались раннеспелостью, процентом партенокарпии, массой и качеством плодов, урожайностью.

Новые генотипы можно использовать в качестве исходного материала в гетерозисной селекции огурца, а также для улучшения донорных сортов.

**DEVELOPMENT
AND COMPARATIVE
ASSESSMENT
OF REGENERATED LINES
OF CUCUMBER**

*Vardanyan I.V., Tadevosyan L.M.,
Meloyan V.A., Arutyunyan Z.E.*

*MA RA Scientific Centre of Vegetable
Melon and Industrial Crops
0808, com. Darakert, Ararat Marz,
Republic of Armenia
E-mail: irisha_01@inbox.ru,
www.rcvc.agro.am*

Abstract

Application of such biotechnological method as a callus culture, allowed developing the somaclonal variants of cucumber, six of which were selected as a regenerated lines for the breeding program. New forms are characterized by early-ripeness, percent of parthenocarp, good quality, yield and fruit weight. These lines can be used as an initial material for heterosis breeding and for improvement of donor cultivars of cucumber.

Keywords: *callus culture, regenerated lines, cucumber, breeding*

Литература

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1985. – 416 с.
2. Майка Л.Г. Селекция и семеноводство короткоплодных гибридов огурца партенокарпического типа: Дисс. канд. с/х. наук. – Тирасполь, 2003.
3. Майка Л.Г., Гусева Л.И., Яновчик О.Е. Технологическая оценка новых партенокарпических гибридов огурца. // Селекция и семеноводство: Сб. тр. по овощеводству и бахчеводству. – М.: ВНИИО, 2006. – Т. 1. – С. 226-230.
4. Масловская Е.М. Статистическая оценка факторов, обуславливающих проявление признака партенокарпии огурца. // Селекция и семеноводство: Сб. тр. по овощеводству и бахчеводству. – М.: ВНИИО, 2006. – Т. 1. – С. 236-241.
5. Петербургский А.В. Практикум по агрохимической химии. 6-е изд., доп. и перераб. – М.: Колос, 1968. – 496 с.
6. Прутенская Н.А. Перспективный метод селекции огурца на устойчивость к мучнистой росе // Состояние и проблемы научного обеспечения овощеводства защищенного грунта: Матер. междунауч. конф. – М., 2003. – С. 76-78.
7. Пыженков В.И. Партенокарпия у огурца. В кн.: Культурная флора. Тыквенные (огурец, дыня). – М., «Колос», 1994. – С. 121-123.
8. Рекомендации и методические указания по селекции и семеноводству огурца/ ВНИИССОК. М., 1999. – 293 с.
9. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. – Киев: Наукова думка, 1990. – 280 с.
10. Соболева Г.В. Возможности использования культуры тканей *in vitro* в селекции гороха посевного *Pisum sativum* L. // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии: Тез. докл. II междунауч. конф. – М., 2000. – С. 40-41.
11. Тарасенков И.И. Селекция овощных и бахчевых культур во ВНИИО // Селекция и семеноводство: Сб. тр. по овощеводству и бахчеводству – М.: ВНИИО, 2006. – Т.1. – С. 24-29.
12. Шамшина А.В. Роль гермафродитноцветковых форм в проявлении букетного типа расположения завязей у огурца // Состояние и проблемы научного обеспечения овощеводства защищенного грунта: Матер. междунауч. конф. – М., 2003. – С. 100-102.
13. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – V. 15, № 13. – P. 473-479.
14. Shetty N.V., Wehner T.C. Breeding for high fruit yield in cucumber // VII Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding – Ma'ale Ha Hamisha, 2000. – online: http://www.actahort.org/books/510/510_3.htm