

# Ускоренное получение растений- регенерантов брокколи

**Л.В. Старцева, С.В. Старцев, В.И. Старцев**

В статье описаны особенности селекционной и биотехнологической работы с капустой брокколи, не только охарактеризован процесс лабораторной работы, но и проведен анализ текущей ситуации в России и мире по востребованности селекционных достижений капусты брокколи. Обоснована актуальность исследований не только для науки, но и товарного производства. В заключении даны рекомендации по дальнейшей работе с культурой, полезные как научному сообществу, так и сельскохозяйственным товаропроизводителям.

**Ключевые слова:** капуста брокколи, гаплоиды, растения-регенеранты, неоплодотворенные семечки.

**В** Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию в России, в 2013 году насчитывалось всего 26 наименований сортов и гибридов  $F_1$  капусты брокколи. Среди них было только 10 отечественных селекционных достижений (7 сортов и 3 гетерозисных гибрида). Все из представленных сортов были отечественными, а большинство других гибридов – результат зарубежной селекции, причем многие из них принадлежали транснациональным компаниям Syngenta, Bejo Zaden, Monsanto и др. [1].

Сегодня в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию на территории Российской Федерации в 2018 году, включено 50 сортов и гибридов капусты брокколи. Причем, только 8 из них – сорта, а все остальные –  $F_1$ -гибриды. Таким образом, за последние 5 лет, количество селекционных достижений в Госреестре практически удвоилось. Как правило, авторы и правообладатели сортов – отечественные коммерческие и бюджетные организации, в то время как авторами и правообладателями гибридов  $F_1$  остаются иностранные организации (Sakata, Bejo, Enza Zaden, Syngenta и др. [1].

Причин этого несколько. Как правило, семеноводство капустных культур ведут как зарубежные, так и оте-

чественные производители именно в средиземноморских странах (Франция, Италия и др.).

Благодаря высоким питательным и гастрономическим качествам место брокколи в рационе питания населения постепенно расширяется, о чем свидетельствует расширяющийся сортимент сортов и гибридов данной культуры в России. И главное, брокколи – однолетняя культура, в отличие, например, от капусты белокочанной, что позволяет получать от нее в течение одного года вегетации не только товарную продукцию, но и семенной материал. Таким образом, в условиях повышения средней температуры климатической системы Земли – глобального потепления, у брокколи есть большие перспективы выращивания в умеренном климатическом поясе России в полном цикле – «от семени – до семени».

Одну из ведущих ролей в этом будет играть качественный районированный селекционный материал, который позволит раскрыть на территории нашей страны весь потенциал этой перспективной культуры.

Гибридные растения за счет явления гетерозиса (гибридной силы в первом поколении – аллели генов находятся в гетерозиготном состоянии «AaBbCc...» и т.д.) часто превосходят сорта по количественным и качественным хозяйственно ценным признакам, что делает их выгодными в коммер-



Рис. 1. Растения-регенеранты капусты брокколи на агаризованной питательной среде Мурасиге и Скуга

ческом использовании. Однако процесс создания чистых линий с набором полезных признаков, обладающих высокой гомозиготностью и гибридов на их основе традиционным способом довольно трудоемкий и затратный, может занимать до 12 лет, поэтому все чаще как за рубежом, так и в России прибегают к использованию методов биотехнологии.

Цель исследований – разработать и предложить линейку элементов технологии, ускоряющих получение растений-регенерантов капусты брокколи из генеративных клеток зародышевого мешка (семяпочки) на искусственной питательной среде MS [2].

Широкое распространение в селекции растений имеет метод культивирования *in vitro* микроспор, пыльников, неоплодотворенных завязей и семяпочек. Это требуется для индукции морфогенеза гаплоидных клеток у микроспор или зародыше-

вого мешка. Однако, чтобы вызвать переход этих клеток с гаметофитного на спорофитный путь развития, необходимо подобрать оптимальное сочетание следующих факторов: состав питательной среды, регуляторы роста и их концентрации, возраст, срок и условия культивирования донорных растений и эксплантов.

Материалом исследований служили растения капусты брокколи сорта Тонус.

Исследования проводили на базе Всероссийского НИИ овощеводства, биохимическую оценку полученному материалу давали на базе лабораторно-аналитического центра ГНУ ВНИИССОК в 2010–2013 годах.

Лабораторные исследования проводили согласно методическим рекомендациям по размножению кочанной капусты в культуре тканей [3]; методическим рекомендациям по получению трансгенных растений капусты белокочанной [4]; методическим указаниям по репродуктивной биологии в селекции овощных культур рода *Brassica* L. [5]; методическим указаниям по культуре ткани и органов в селекции растений [6, 7].

Изолированные завязи и семяпочки культивировали на жидкой и агаризованной среде MS с добавлением сахарозы и фитогормонов в различных концентрациях. В зависимости от варианта опыта в состав среды вносили необходимые изменения.

Для получения гиногенетических гаплоидных и удвоенных гаплоидных растений-регенерантов в наших исследованиях использовали неоплодотворенные завязи и семяпочки, выделенные из нераспустившихся бутонов капусты брокколи длиной от 4,5 до 9,0 мм.

Как показали наши исследования, клетки женского гаметофита способны продолжать развиваться и в семяпочках, пересаженных на искусственную питательную среду *in vitro* на маточном растворе MS.



Рис. 2. Цветущее растение капусты брокколи на опытном участке

На основании результатов исследований был предложен ряд новых элементов технологии получения растений-регенерантов в культуре завязей и семяпочек капусты брокколи:

- для наиболее эффективного морфогенеза следует выделять экспланты из бутонов длиной от 8,1 до 9,0 мм;
- для введения в культуру целесообразно использовать наименее травмированный тип экспланта, состоящий из завязи, пестика и цветоложа;
- для индукции морфогенеза изолированных завязей и роста в них морфогенных семяпочек рекомендуется использовать жидкую среду MS, обогащенную N-фенил-N'-(1,2,3-тиадиазол-5-ил) мочевиной (далее – ТДА) в концентрации 1,0 мг/л, 3-индолилуксусной кислотой (далее – ИУК) – 0,5 мг/л с концентрацией са-

Таблица 1. Характеристика растений R1 по основным хозяйственно ценным признакам у наиболее перспективных семей, 2010–2013 годы

Семья, №	Общая продуктивность, г	Средняя масса центральной головки, г	Количество боковых головок (среднее по семье), шт.	Средняя масса боковой головки, г	От всходов до технической зрелости головки, сут.	Появления головок 2-го порядка, после срезки центральной, сут.	Масса 1000 семян, г
1	306,00	182,00	7,10	17,13	66,90	6,80	3,54
5	327,30	193,60	7,50	18,09	62,40	5,50	3,84
8	249,20	155,00	4,80	14,50	70,90	7,00	2,97
Контроль, сорт Тонус	275,70	163,40	6,30	16,33	77,10	7,10	3,45
НСР <sub>05</sub>	10,72	18,92	1,00	1,61	4,91	0,98	0,27

**Таблица 2. Данные биохимического анализа растений-регенерантов R1 капусты брокколи, 2010-2013 годы**

Анализируемое вещество, в принятых единицах измерения	Образец (семья R1)				
	1	5	8	контроль, сорт Тонус	
Сухое вещество, %	13,94	13,06	12,76	10,50	
Аскорбиновая кислота, мг/%	100,32	88,00	123,20	84,48	
Фотопигменты, мг/г (сырого вещества)	Хлорофилл а	0,64	0,97	0,74	0,88
	Хлорофилл b	0,43	0,51	0,42	0,50
	Каротин	0,26	0,32	0,25	0,11
Моносахара, %	1,70	1,65	1,55	1,09	
Содержание ионов калия (K+), мг/%	236,90	242,10	235,40	202,60	
Суммарное содержание антиоксидантов, мг/г	в единицах аскорбиновой кислоты				
	71,76	76,97	80,01	69,86	
	в единицах галловой кислоты				
	8,75	9,39	9,76	8,38	
Содержание белка (на сырое вещество), %	1,95	2,35	2,15	2,05	

харозы 30 г/л;

- культивировать разросшиеся завязи для эффективного выделения семян следует в течение 28 суток;
- растущие изолированные семяпочки необходимо пересаживать на агаризованную среду MS, содержащую регуляторы роста: ТДА, в концентрации 1,0 мг/л и ИУК – 0,5 мг/л и сахарозу – 30 г/л;
- при культивировании жизнеспособных тканей разросшихся семяпочек, а также для стимулирования образования высокого числа почек и побегов следует использовать агаризованную питательную среду MS, содержащую ТДА, в концентрации 0,5 мг/л, ИУК – 0,1 мг/л, сахарозу 30 г/л;
- укоренение побегов необходимо производить на среде MS, содержащей ИУК в концентрации 0,1 мг/л, сахарозу – 30 г/л.

Предложенные элементы получения растений-регенерантов в культуре завязей и семяпочек капусты брокколи существенно оптимизируют процесс получения линий с хозяйственно ценными признаками на основных этапах технологического процесса и морфогенеза: подбор условий содержания донорных растений; определения стадии развития экспланта; индукции гаплоидных регенерантов; перевод гаплоидных растений на диплоидный уровень; микрочлонуальное размножение; укоренение; адаптация.

Элементы этой технологии могут быть использованы на других разновидностях капустных культур, а в случае эффективности и целесообразности – на культурах других видов.

Полученные растения-регенеранты семей № 8, № 5 и № 1 первого поколения (R1) существенно превысили исходный сорт Тонус по продуктивности, массе центральной головки, количеству боковых головок, их массе, скороспелости, «ремонтантности», массе 1000 семян, а также по содержанию сухого вещества, аскорбиновой кислоты, хлорофилла а и b, каротина, моносахаров и антиоксидантов и, в дальнейшем, могут быть использованы в селекционной практике, это отражено в **таблицах 1 и 2**.

Исходя из вышеизложенного, а также по мнению других исследователей, селекционная работа с капустой брокколи, в свою очередь, должна быть направлена на создание в максимально короткие сроки высокопродуктивных, скороспелых сортов и гибридов, устойчивых к фитопатогенам, пригодных к современным механизированным технологиям возделывания [8].

Исследования и оценка экспериментальных результатов показали, что капуста брокколи весьма перспективная культура, как для научных исследований, так и для товарного производства. Результаты исследований, отраженные в статье, могут быть одинаково полезны представителям как АПК, так и с. – х. науки.

**Библиографический список**

1. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т 1. Сорты растений. М: Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, 2018. С. 138–139.
2. Murashige T., Skoog F. A. Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. Pp. 473–497.
3. Марьяхина И.Я. Методические указания по размно-

жению кочанной капусты в культуре тканей для использования в селекции / под ред. А.В. Пухальского. М.: ВАСХНИЛ, 1985. 21 с.

4. Поляков А.В., Шарафова О.Ф., Зонтикова С.А. Методические рекомендации по получению трансгенных растений капусты белокочанной, устойчивых к фитопатогенам: методические рекомендации. М.: ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии, 2009. 35 с.

5. Методы репродуктивной биологии в селекции овощных культур рода *Brassica L.* / М.С. Бунин, Н.А. Шмыкова, В.А. Степанов, В.И. Старцев, Л.Л. Бондарева. М.: Минсельхоз, 2003. С. 37–39.

6. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей как метод изучения процессов роста и морфогенеза растений. М.: Наука, 1964. 256 с.

7. Бутенко Р.Г., Хромова Л.М., Седина Г.В. Методические указания по получению вариантов клеточных линий и растений у разных сортов картофеля. М.: ВАСХНИЛ, 1984. 28 с.

8. Борисов В.А., Литвинов С.С., Романов А.В. Качество и лежкость овощей. М.: ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии, 2003. С. 148–149.

**Об авторах**

**Старцева Лариса Всеволодовна**, канд. с. – х. наук, с.н.с. лабораторно-аналитического центра, ФГБНУ ФНЦО. E-mail: larisa.v.st@mail.ru

**Старцев Сергей Викторович**, канд. с. – х. наук, начальник отдела селекции и семеноводства Национального союза селекционеров и семеноводов. E-mail: sergey\_170787@mail.ru

**Старцев Виктор Иванович**, доктор с. – х. наук, профессор, эксперт РАН, руководитель Центра исследований и инноваций в рамках ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии» (ФГБНУ ВНИИФ). E-mail: vssort@mail.ru

**Accelerated production of broccoli regenerated plants**

**L.V. Startseva, PhD, senior research fellow, FSBSI Federal Scientific Vegetable Center.** E-mail: larisa.v.st@mail.ru

**S.V. Startsev, PhD, head of the breeding and seed Division, National Union of Breeders and Seed Growers.** E-mail: sergey\_170787@mail.ru

**V.I. Startsev, DSc, head of the Centre for Research and Innovation within the framework of the FSBSI All-Russian Scientific Research Institute of Phytopathology.** E-mail: vssort@mail.ru

**Summary.** The article describes the features of breeding and biotechnological work with broccoli, not only describes the process of laboratory work, but also analyzes the current situation in Russia and the world on the relevance of the selection achievements of broccoli. The relevance of research is justified not only for science, but also for commodity production. In conclusion, recommendations are given on further work with the crop, useful both to the scientific community and agricultural producers.

**Keywords:** broccoli, haploids, regenerant plants, unfertilized ovules.