

**СЕЛЕКЦИЯ, СЕМЕНОВОДСТВО
И БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ
(СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ)**

Естественные науки. 2024. № 4 (17). С. 32–37.

Yestestvennyye nauki = Natural Sciences. 2024; 1(14): 32–37 (In Russ.)

Научная статья

УДК 573.6:635.33:581.3

doi 10.54398/2500-2805.2024.17.4.005

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ
УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ
В СОВРЕМЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ КАПУСТНЫХ КУЛЬТУР**

Никитин Михаил Алексеевич

Российский государственный аграрный университет — Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева, г. Москва, Россия
ser-mixail-nikitin@yandex.ru

Аннотация. Статья посвящена применению технологии удвоенных гаплоидов в селекции капустных культур. Рассматриваются вопросы получения гаплоидных растений, методы их удвоения и перспективы использования для ускорения селекционного процесса. Актуализировано использование технологии удвоенных гаплоидов для данных культур в рамках ускорения селекционного процесса у них, которые являются одним из приоритетных направлений при обеспечении продовольственной безопасности.

Ключевые слова: удвоенные гаплоиды, селекция, *Brassica*, биотехнологии в растениеводстве, капустные культуры

Для цитирования: Никитин М. А. Использование технологии удвоенных гаплоидов в современной селекции капустных культур // Естественные науки. 2024. № 4 (17). С. 32–37. <https://doi.org/10.54398/2500-2805.2024.17.4.005>.

**USE OF DOUBLE HAPLOYD TECHNOLOGY
IN MODERN BREEDING OF CABBAGE CROPS**

Nikitin Mikhail A.

Russian State Agrarian University — Moscow Agricultural Academy named after K. A. Timiryazev, Moscow
ser-mixail-nikitin@yandex.ru

Abstract. The article is devoted to the application of doubled haploid technology in the selection of cabbage crops. The issues of obtaining haploid plants, methods of their doubling and prospects for using them to accelerate the selection process are considered. The use of doubled

haploid technology for cabbage crops is updated in the context of accelerating the selection process in cabbage crops, which are one of the priority areas in ensuring food security.

Keywords: doubled haploids, selection, brassica, biotechnology in plant growing, cabbage crops.

For citation: Nikitin M. A. Use of doubled haploid technology in modern selection of cabbage crops. *Yestestvennye nauki = Natural Sciences*. 2024; 4 (17): 32–37. <https://doi.org/10.54398/2500-2805.2024.17.4.005>.

Изучение удвоенных гаплоидов началось с обнаружения первого гаплоидного растения у дурмана в 1921 г. С тех пор научное сообщество начало поиски гаплоидов и у других видов, а также возможность искусственного создания удвоенных гаплоидов как ценного материала при селекции растений.

У культур рода *Brassica* впервые было получено гаплоидное растение в 1972 г. в культуре пыльников у рапса. Однако у такой технологии был один существенный недостаток, а именно — низкий выход эмбриоидов и удвоенных гаплоидов. Спустя десять лет Lichter разработал другой метод создания удвоенных гаплоидов — культивирование изолированных микроспор. Затем была опубликована базовая методика культуры изолированных микроспор (КИМ) для рапса [11].

Культура микроспор предполагает большее количество манипуляций, использование сложных и разнообразных питательных сред в сравнении с культурой пыльников, но имеет целый ряд преимуществ. Так, исключается получение диплоидных соматических регенерантов, поскольку микроспоры изолированы. Высокий выход эмбриоидов за две – три недели позволяет работать сразу с большим количеством родительских генотипов-доноров. Главным же недостатком технологии является небольшое количество видов, для которых разработана методика и оптимизированы процессы эмбриогенеза и адаптации растений-регенерантов.

Многие исследователи работали над проблемой оптимизации методики получения линий удвоенных гаплоидов (ЛУГ) у рода *Brassica*, однако единой технологии так и не было разработано [7; 13]. На процесс получения ЛУГ влияет множество факторов: генотип донорного растения, его условия выращивания, условия культивирования микроспор, кислотность и состав питательных сред. Каждый из перечисленных факторов является неотъемлемым компонентом для успешного получения эмбриоидов, что было неоднократно описано и подтверждено в исследованиях [9].

Одним из ключевых факторов, влияющих на успешность эмбриогенеза, является генотип, который считается основным. Этот фактор был описан во многих исследованиях, посвящённых развитию гаплоидных растений в культуре пыльников или микроспор у представителей рода *Brassica*. Наиболее успешный эмбриогенез был зарегистрирован у брокколи, брюссельской и цветной капусты. Однако у белокочанной капусты результаты были менее удовлетворительными. Исследования показывают низкий выход эмбриоидов у большинства её генотипов, хотя у некоторых он может быть

высоким, что было показано в работе Сенициной, где сравнивался выход удвоенных гаплоидов белокочанной капусты и рапса [8]. В целом белокочанная капуста не склонна к образованию эмбриоидов или же частота их появления остаётся низкой. Важно отметить, что даже внутри одного генотипа могут наблюдаться различия в способности к эмбриогенезу, особенно у самонесовместимых линий.

Способность растения образовывать эмбриоиды контролируется генетически, однако нет единого мнения о том, сколько генов задействовано в этом процессе. При скрещивании генотипов с разной эмбриогенной отзывчивостью у потомства наблюдаются либо промежуточные значения, либо превышение отзывчивости по сравнению с родителями. Также существует гипотеза о возможном влиянии цитоплазмы на эмбриогенную отзывчивость. Исследования показали, что наследование этого признака может быть обусловлено как аддитивными, так и доминантными генами [5].

У культур рода *Brassica* для изоляции обычно используют микроспоры, образующиеся на одноядерной поздней и двуядерной ранней стадиях развития. Было установлено, что имеется прямая связь между размером бутона растения-донора и стадией развития микроспор в нём [6]. Также установлена разница в размерах микроспор в поздней одноядерной стадии у разных представителей рода *Brassica*: наиболее крупные у капусты белокочанной *B. oleracea*, средние — у рапса *B. napus* и маленькие — у горчицы чёрной *B. nigra* [12].

Для получения жизнеспособных эмбриоидов из выделенных микроспор капустных культур наиболее распространён метод температурного шока, который был впервые применён к рапсу в условиях *in vitro* [8]. Используемые при этом температуры близки к летальным для самих микроспор и зависят от культуры, с которой ведется работа. Так, для белокочанной капусты тепловой шок составляет 30–33 °С в течение одного – трёх дней с момента изоляции микроспор [9]. В культуре микроспор *B. juncea* индукция эмбриогенеза начинается при более длительной тепловой обработке — 10–11 дней при температуре 32,5 °С. У капусты декоративной *B. oleracea* var. *acephala* максимальный выход эмбриоидов наблюдали при предобработке тепловым шоком 35 °С в течение 24 ч. В культуре пыльников наилучший результат эмбриогенеза был достигнут у брюссельской капусты при 35 °С в течение 16 ч [4].

Несмотря на высокие трудозатраты и ограничения технологии производства удвоенных гаплоидов капустных культур, она широко востребована в селекционных программах. Её основным преимуществом является скорость получения гомозиготного материала в сравнении с классическими методами ведения селекции, сокращение площадей необходимых для селекционных посевов и существенное снижение стоимости создаваемых сортов и гибридов [3; 6].

В заключение хочется сказать, что технология получения удвоенных гаплоидов у рода *Brassica* за последние 30 лет претерпела множество изменений с целью оптимизировать и упростить процесс. Однако до сих пор для ряда хозяйственно-ценных капустных культур протоколы получения ЛУГ

не разработаны или показывают низкий процент выхода ценного гомозиготного селекционного материала. Это позволяет говорить об актуальности исследований в области получения удвоенных гаплоидов и необходимости комплексного подхода к этому вопросу в связи с множеством факторов, влияющих на успешность применения технологии.

С точки зрения применения в селекционном процессе, удвоенные гаплоиды активно используются при создании новых F_1 гибридов в качестве отцовского компонента скрещивания как чистая линия, выровненная в гомозиготное состояние по всем аллелям. Это позволяет селекционеру не прибегать к последовательному бекроссированию линии и ускоряет селекционный процесс.

Список литературы

1. Байдина, А. В. Селекция капусты на базе удвоенных гаплоидов / А. В. Байдина, С. Г. Монахос // Картофель и овощи. — 2015. — № 11. — С. 39–40.
2. Байдина, А. В. Оптимизация культуры изолированных микроспор и оценка комбинационной способности линий удвоенных гаплоидов капусты белокочанной / А. В. Байдина. — Москва, 2018. — 178 с. — EDN JRDSDV.
3. Вишнякова, А. В. Факторы прямого прорастания микроспорогенных эмбриоидов *Brassica napus* L. / А. В. Вишнякова, А. А. Александрова, С. Г. Монахос // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. — 2022. — № 6. — С. 43–53.
4. Давыдова, Н. Н. Усовершенствование метода культуры пыльников для использования в селекционном процессе капусты (*Brassica oleracea* L.) / Н. Н. Давыдова. — Москва, 2008. — 25 с. — EDN NKPMBN.
5. Коротцева, К. С. Совершенствование технологии получения удвоенных гаплоидов капусты белокочанной в культуре изолированных микроспор *in vitro* / К. С. Коротцева, Е. А. Домблидес, А. С. Домблидес // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. — Москва : Всеросю науч.-исслед. ин-т сельскохозяйственной биотехнологии, 2019. — С. 17–19. — EDN OCGETM.
6. Методические подходы создания удвоенных гаплоидов сахарной и столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.) / Т. Р. Григолова, А. В. Вишнякова, А. А. Сеницына и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2021. — Т. 25, № 3. — С. 276–283.
7. Монахос, С. Г. Интеграция современных биотехнологических и классических методов в селекции овощных культур / С. Г. Монахос. — Москва, 2015. — 335 с.
8. Сеницына, А. А. Сравнительная оценка выхода удвоенных гаплоидов *Brassica oleracea* var. *capitata* L. и *Brassica napus* L. в культуре изолированных микроспор / А. А. Сеницына, А. В. Вишнякова, С. Г. Монахос // Картофель и овощи. — 2022. — № 4. — С. 37–40. — doi 10.25630/PAV.2022.29.31.008.
9. Шмыкова, Н. А. Получение удвоенных гаплоидов у видов рода *Brassica* L. / Н. А. Шмыкова, Д. В. Шумилина, Т. П. Супрунова // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2015. — № 19 (1). — С. 111–120.
10. Custers, J. B. M. Temperature controls both gametophytic and sporophytic development in microspore cultures of *Brassica napus* / J. B. M. Custers, J. H. G. Gordewener, Y. Nollen, J. J. M. Dons, M. M. Van Lookeren-Campagne // Plant Cell Reports. — 1994. — Vol. 13. — P. 267–271.
11. Huang, B. Microspore culture technology / B. Huang, W. A. Keller // Journal of Tissue Culture Methods. — 1989. — Vol. 12. — P. 171.
12. Lichter, R. Efficient yield of embryoids by culture of isolated microspores of different Brassicacea species / R. Lichter // Plant Breeding. — 1989. — Vol. 103. — P. 119–123.

13. Zhang, W. The culture of isolated microspores of ornamental kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) and the importance of genotype to embryo regeneration / W. Zhang [et al.] // *Scientia Horticulturae*. — 2008. — Vol. 117. — P. 69–72. — doi 10.1016/j.scienta.2008.03.023.

References

1. Baydina, A. V., Monakhos, S. G. Breeding of cabbage based on doubled haploids. *Kartofel i ovoshchi = Potatoes and vegetables*. 2015; 11: 39–40.
2. Baydina, A. V. *Optimizatsiya kultury izolirovannykh mikrospor i otsenka kombinatsionnoy sposobnosti liniy udvoennykh gaploidov kapusty belokochannoy = Optimization of the culture of isolated microspores and assessment of the combining ability of doubled haploid lines of white cabbage*. Moscow; 2018: 178 p. EDN JRDSDV.
3. Vishnyakova, A. V., Aleksandrova, A. A., Monakhos, S. G. Factors of direct germination of microsporogenous embryoids of *Brassica napus* L. *Izvestiya Timiryazevskoy selskokhozyaystvennoy akademii = News of the Timiryazev Agricultural Academy*. 2022; 6: 43–53.
4. Davydova, N. N. *Uovershenstvovanie metoda kultury pylnikov dlya ispolzovaniya v selektsionnom protsesse kapusty (Brassica oleracea L.) = Improvement of the anther culture method for use in the cabbage breeding process (Brassica oleracea L.)*. Moscow; 2008: 25 p., EDN NKPMBN.
5. Korottseva, K. S. Improvement of the technology for obtaining doubled haploids of white cabbage in the culture of isolated microspores in vitro. *Biotekhnologiya v rasteniyevodstve, zhivotnovodstve i selskokhozyaystvennoy mikrobiologii = Biotechnology in plant growing, animal husbandry and agricultural microbiology*. Moscow: All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology; 2019: 17–19, EDN OCGETM..
6. Grigolava T. R., Vishnyakova, A. V., Sinitsyna A. A. et al. Methodological approaches to creating doubled haploids of sugar and table beet (*Beta vulgaris* L.). *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021; 25 (3): 276–283.
7. Monakhos, S. G. *Integratsiya sovremennykh biotekhnologicheskikh i klassicheskikh metodov v selektsii ovoshchnykh kultur = Integration of modern biotechnological and classical methods in breeding vegetable crops*. Moscow; 2015: 335 p.
8. Sinitsyna, A. A., Vishnyakova, A. V., Monakhos, S. G. Comparative assessment of the yield of doubled haploids of *Brassica oleracea* var. *capitata* L. and *Brassica napus* L. in the culture of isolated microspores. *Kartofel i ovoshchi = Potatoes and vegetables*. 2022; 4: 37–40. doi 10.25630/PAV.2022.29.31.008.
9. Shmykova, N. A., Shumilina D. V., Suprunova, T. P. Obtaining doubled haploids in species of the genus *Brassica* L. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015; 19 (1): 111–120.
10. Custers, J. B. M., Gordewener, J. H. G., Nollen, Y., Dons J. J. M., Van Lookeren-Campagne, M. M. Temperature controls both gametophytic and sporophytic development in microspore cultures of *Brassica napus*. *Plant Cell Reports*. 1994; 13: 267–271.
11. Huang, B., Keller, W. A. Microspore culture technology. *Journal of Tissue Culture Methods*. 1989; 12: 171.
12. Lichter, R. Efficient yield of embryoids by culture of isolated microspores of different Brassicaceae species. *Plant Breeding*. 1989; 103: 119–123.
13. Zhang, W. [et al.]. The culture of isolated microspores of ornamental kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) and the importance of genotype to embryo regeneration. *Scientia Horticulturae*. 2008; 117: 69–72. doi 10.1016/j.scienta.2008.03.023.

Информация об авторе

Никитин М. А. — ассистент.

Information about the author

Nikitin M. A. — Assistant.

Статья поступила в редакцию 12.11.2024; одобрена после рецензирования 16.11.2024; принята к публикации 21.11.2024.

The article was submitted 12.11.2024; approved after reviewing 16.11.2024; accepted for publication 21.11.2024.