

Факторы индукции эмбриогенеза в культуре изолированных семязачатков кабачка (*Cucurbita pepo* L.)

Ю. А. СОЛОВЬЕВА¹, Е. В. ОСМИНИНА¹, А. В. ВИШНЯКОВА¹, А. А. МИРОНОВ¹, Г. Ф. МОНАХОС²,
С. Г. МОНАХОС¹

¹Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49, Москва, 127550, Российская Федерация

²ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева», ул. Пасечная, 5, Москва, 127550, Российская Федерация

Резюме. Оптимизация технологии производства удвоенных гаплоидов способствует расширению возможностей фундаментальных исследований и повышению темпов селекции коммерческих конкурентоспособных F_1 -гибридов, обеспечивая сокращение сроков получения инбредных линий однолетних овощных культур до 6...8 раз. Цель исследования – изучение факторов, оказывающих влияние на индукцию эмбриогенеза кабачка (*Cucurbita pepo* L.), с последующей оптимизацией технологии создания удвоенных гаплоидов. На двух предварительно отобранных группах генотипов кабачка (высоко и низко отзывчивых) изучали эффективность воздействия на экспланты повышенных температур (33 °C), регуляторов роста (ауксин – 2 мг/л 2,4-D и цитокинин – 0,2 мг/л TDZ), источников углеводов (сахароза – 5 % и мальтоза – 5 %), а также желирующих агентов (агар – 7 г/л и фитогель – 3 г/л) в культуре неоплодотворенных семязачатков. Семязачатки кабачка изолировали с использованием стандартной технологии и инкубированием на индукционной питательной среде CBM (pH 5,8) при 16-часовом фотопериоде в течение 2 недель. Каждый из изученных факторов оказывал достоверное влияние на частоту эмбриогенеза высоко отзывчивых генотипов. При культивировании изолированных семязачатков на среде с сахарозой (5 %) она возрастает, в сравнении с мальтозой (5 %), не менее чем в 10 раз; при добавлении 2,4-D (2 мг/л), в сравнении с TDZ (0,2 мг/л), – в 1,9 раза; при температурной обработке семязачатков 33 °C, в сравнении с ее отсутствием, – в 1,7 раз. Низко отзывчивые образцы в основном не реагировали на изменение условий культивирования. При этом добавление в составы питательных сред 2,4-D и агара у большей части изученных растений сопровождалось увеличением частоты эмбриогенеза. На различные источники углеводов и воздействие повышенной температуры реакции были разнонаправленными. Изученные факторы могут быть использованы для оптимизации технологии производства удвоенных гаплоидов кабачка.

Ключевые слова: кабачок, гиногенез, удвоенный гаплоид, гаплоид, эмбриогенез, культура изолированных семязачатков, *Cucurbita pepo*

Сведения об авторах: Ю. А. Соловьева, аспирант; Е. В. Осминина, ассистент; А. В. Вишнякова, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент; А. А. Миронов, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент; Г. Ф. Монахос, кандидат сельскохозяйственных наук, генеральный директор; С. Г. Монахос, доктор сельскохозяйственных наук, зав. кафедрой (e-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru)

Для цитирования: Факторы индукции эмбриогенеза в культуре изолированных семязачатков кабачка (*Cucurbita pepo* L.) / Ю. А. Соловьева, Е. В. Осминина, А. В. Вишнякова и др. // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38. № 6. С. 16–21. doi: 10.53859/02352451_2024_38_6_16

Factors of embryogenesis induction in the isolated ovules culture of summer squash (*Cucurbita pepo* L.)

J. A. Solovyeva¹, E. V. Osminina¹, A. V. Vishnyakova¹, A. A. Mironov¹, G. F. Monakhos², S. G. Monakhos¹

¹Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, ul. Timiryazevskaya, 49, Moskva, 127550, Russian Federation

²Timofeev breeding station, ul. Pasechnaya, 5, Moskva, 127550, Russian Federation

Abstract. The optimization of the doubled haploid (DH) technologies is of great importance in expanding the possibilities of basic genetic research and increasing the intensity of breeding programs of commercial F_1 hybrids. It helps to reduce the time for obtaining homozygous lines of annual vegetable crops by up to 6...8 times. The aim of this research is to study the factors influencing the induction of summer squash (*Cucurbita pepo* L.) embryogenesis, followed by optimization of the doubled haploids production technology. This study was conducted on two pre-selected groups of highly responsive and low responsive accessions of summer squash. The effectiveness of elevated temperature (33 °C) exposure to explants was studied. Also there were conducted a comparative assessments of the effects of growth regulators auxin (2 mg/l 2,4-D) and cytokinin (0.2 mg/l TDZ), carbohydrate sources sucrose (5%) and maltose (5%) and gelling agents agar (7 g/l) and phytoigel (3 g/l) on the frequency of embryogenesis in the unfertilized ovules culture. The isolation of summer squash ovules was performed with the use of the standard technology. Subsequent two-week incubation was applied on an induction nutrient medium CBM (pH 5.8) at a 16-hour photoperiod. Each of the studied factors has the reliable influence on the frequency of embryogenesis of highly responsive genotypes. There was found an increase of embryogenesis frequency of highly responsive genotypes in the isolated ovules cultivation by at least 10 times on a medium supplemented with sucrose (5%) compared with maltose (5%); by 1.9 times on a medium with the addition of 2,4-D (2 mg/l) compared with TDZ (0.2 mg/l); by 1.7 times with a temperature treatment of ovules (33 °C) in comparison with no treatment. Low responsive accessions mostly showed no significant differences when the cultivation conditions changed. However, an increase in responsiveness was observed on the nutrient mediums supplemented with 2,4-D and agar in most of the studied plants. There was also a multidirectional reaction to various carbohydrate sources addition and elevated temperature exposure. The studied factors can be used to optimize the technology of summer squash doubled haploids production.

Key words: summer squash, gynogenesis, doubled haploid, haploid, embryogenesis, unfertilized ovule culture, *Cucurbita pepo*

Author Details: J. A. Solovyeva, post graduate student; E. V. Osminina, assist.; A. V. Vishnyakova, Cand. Sc. (Agr.), assoc. prof.; A. A. Mironov, Cand. Sc. (Agr.), assoc. prof.; G. F. Monakhos, Cand. Sc. (Agr.), general director; S. G. Monakhos, D. Sc. (Agr.), head of department (e-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru)

For citation: Solovyeva JA, Osminina EV, Vishnyakova AV, et al. [Factors of embryogenesis induction in the isolated ovules culture of summer squash (*Cucurbita pepo* L.)]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2024;38(6):16–21. Russian. doi: 10.53859/02352451_2024_38_6_16

По объемам выращивания и потребления растения рода Тыква (*Cucurbita* L.), в том числе кабачок, занимают 6 место среди овощей, после томата, лука, капусты, огурца и баклажана. Наиболее полно соответствуют потребностям современного сельскохозяйственного производства F_1 -гибриды,

отличающиеся высокой продуктивностью. Их преимущества перед сортами также заключаются в очень высокой степени выровненности растений и возможности защиты авторских прав. Создание гомозиготных родительских линий для селекции F_1 -гибридов кабачка сопряжено со значительными финансовыми,

трудовыми и временными затратами. Традиционные методы селекции предполагают выведение гомозиготных линий в течение 6...8 лет, что сильно снижает темпы селекционного процесса. Помимо этого, с их использованием невозможно создавать 100 %-ные гомозиготные чистые линии [1, 2].

Ускорение селекционного процесса путем применения биотехнологических методов относится к общемировым трендам. Одна из ключевых технологий, значительно сокращающих сроки создания чистых линий, – производство удвоенных гаплоидов *in vitro* [3]. С использованием такой технологии гомозиготная чистая линия кабачка может быть получена за 1...2 поколения [2]. Кроме того, ее применение упрощает отбор растений с желаемыми признаками, что обусловлено быстрой идентификацией рецессивных признаков благодаря гомозиготному состоянию всех генов. Таким образом, получение чистых линий с использованием ДН-технологий значительно сокращает время, затрачиваемое на создание новых гибридов кабачка, до 3...8 раз, по сравнению с методами традиционной селекции. Помимо этого, удвоенные гаплоиды используют в фундаментальных исследованиях в качестве картирующих популяций, мишеней для индукции мутаций, моделей для изучения клеточного цикла растений. Многие исследователи отмечают высокую степень полиморфизма вида *Cucurbita pepo* L., с которым связано наличие большого разнообразия фенотипических признаков растений. Создание удвоенных гаплоидов этого вида позволяет получать растения разнообразных форм, проявляющихся в результате гаметоклональной изменчивости [1, 3, 4].

Для производства удвоенных гаплоидов культур семейства Cucurbitaceae используют методики, направленные на образование растений-регенерантов из гаплоидных клеток донорных растений с последующим спонтанным или индуцированным удвоением числа хромосом. Среди таких технологий различают гаплоидный партеногенез, индуцируемый опылением инактивированной облучением пыльцой; андрогенез, реализуемый посредством культивирования микроспор или пыльников *in vitro*; и гиногенез, осуществляемый путем культивирования завязей или семязачатков *in vitro* [3, 4].

В основе гиногенеза лежит переход гаплоидных клеток зародышевого мешка с гаметофитного на спорофитный путь развития, сопровождающийся образованием эмбриоидов или каллуса с последующим образованием эмбриоида [2, 5]. Технологию производства гаплоидов на основе гиногенеза обычно реализуют культивированием изолированных неоплодотворенных семязачатков или сегментов завязи [4, 6]. Наиболее продуктивным способом получения ДН-растений методом гиногенеза считается культивирование *in vitro* изолированных семязачатков, так как его применение связано с меньшим выходом идентичных донорному растений-клонов из-за меньшего количества соматической ткани. Однако опубликованные протоколы производства удвоенных гаплоидов кабачка характеризуются низкой эффективностью и требуют оптимизации. Кроме того, необходимо отметить, что в современных условиях селекция растений рода *Cucurbita* L. направлена на создание растений с женским типом цветения, в связи с чем разработка протоколов индукции гиногенеза у представителей рода приобретает большую актуальность [2].

На индукцию гиногенеза влияет множество факторов, среди которых наиболее важны генотип и условия

выращивания донорного растения, тип экспланта, температурная обработка, компоненты питательной среды и условия культивирования, положение цветка на побеге [3, 4, 6]. Однако их действие сильно различается в исследованиях и требует более детального изучения.

Цель исследований – изучение влияния компонентов питательной среды и температурной обработки на частоту образования гиногенных эмбриоидов в культуре изолированных семязачатков кабачка (*Cucurbita pepo* L.).

Условия, материалы и методы. В качестве исходного материала использовали два высоко отзывчивых образца белоплодного кабачка (*Cucurbita pepo* L.) – коммерческий гибрид F₁ Ангелина и селекционную гибридную комбинацию AS, а также две низко отзывчивые селекционные линии – S и S7.

Растения выращивали в теплице в контейнерах объемом 5 л, наполненных торфяным субстратом (Агробалт, Россия), заправленным комплексными минеральными удобрениями N 120, P₂O₅ 80, K₂O 140, Mg 30, Ca 170 мг/л, Cu 9, Mn 40, Zn 9, Co 0,001 мг/кг, pH (H₂O) 5,5...6,6. Дневную и ночную температуры поддерживали на уровне 24 °C и 18 °C соответственно. Полив осуществляли по мере необходимости.

Сбор завязей кабачка проводили за 1 день до раскрытия цветков в стадии окрашенного венчика. С завязей удаляли околоцветник, промывали под проточной водопроводной водой, стерилизовали в 2 %-ном растворе гипохлорита натрия (NaOCl) с добавлением Tween 20 в течение 10 мин. с последующим трехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде в течение 1, 5, 10 мин. Семязачатки изолировали с использованием стереомикроскопа Stemi 2000-C (Carl Zeiss) при помощи пинцета и скальпеля и инокулировали на твердую индукционную питательную среду CBM [1] с добавлением 50 г/л сахарозы, 2 мг/л 2,4-D и 3 г/л фитогеля, pH 5,8 по 10 шт. на чашку Петри диаметром 90 мм.

Семязачатки инкубировали в световой комнате при температуре 22 °C и 16-часовом фотопериоде в течение 14 дней. Затем пересаживали на регенерационную питательную среду CBM без регуляторов роста, содержащую 3 % сахарозы, 0,3 % фитогеля (Sigma-Aldrich), и инкубировали при тех же условиях. Пересадку семязачатков на свежую регенерационную среду осуществляли каждые 4 недели до формирования эмбриоидов. Эмбриоиды пересаживали на питательную безгормональную среду MS [7], содержащую 3 % сахарозы и 0,3 % фитогеля, pH 5,8.

Изучали следующие факторы в индукционной среде CBM [1] (5 % сахарозы, 3 г/л фитогеля, при температурной обработке 33 °C в течение 7 суток):

регулятор роста – 0,2 мг/л тидиазурон (TDZ), 2,0 мг/л 2,4-D;

источник углеводов – 5 % мальтоза, 5 % сахароза; тип желирующего агента – 0,7 % агар, 0,3 % фитогель.

Влияние температурной обработки оценивали инкубированием изолированных семязачатков в течение 7 суток при температуре 33 °C на индукционной среде CBM, затем их переносили на регенерационную среду и культивировали при температуре 24 °C, 16-часовом фотопериоде. В контроле изолированные семязачатки инкубировали на индукционной питательной среде CBM при температуре 24 °C и 16-часовом фотопериоде.

Растения-регенеранты с нормально развитыми листьями и корневой системой отмывали от остатков

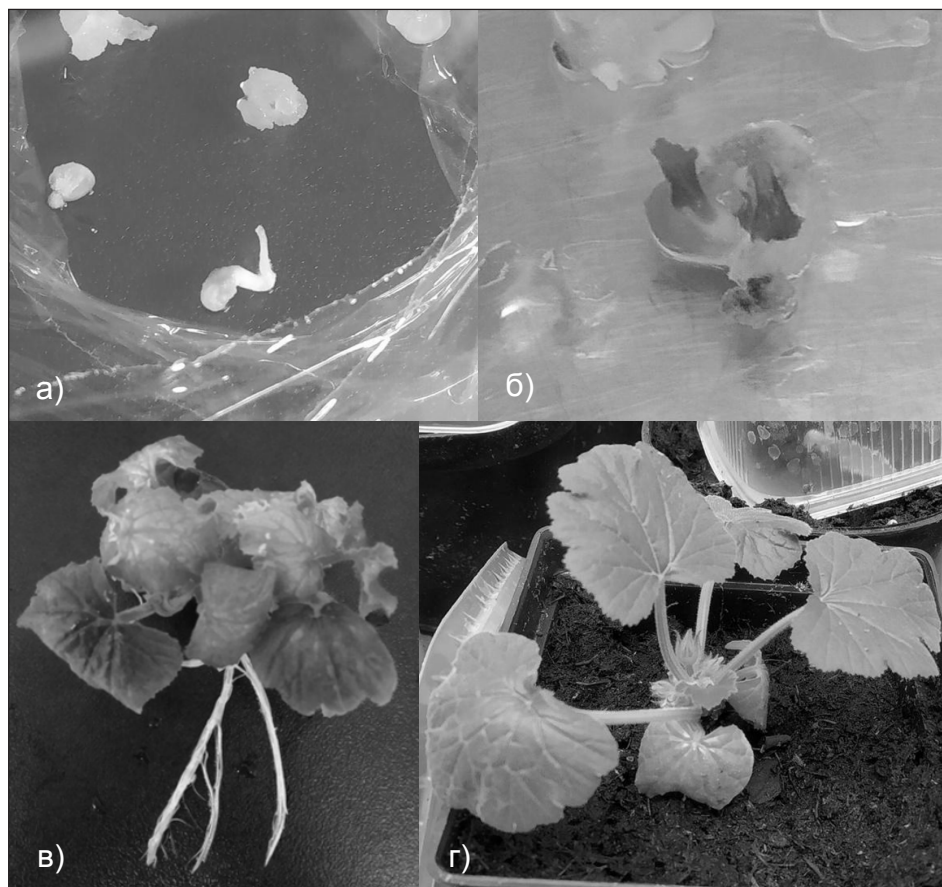


Рисунок. Гиногенное развитие удвоенных гаплоидов кабачка (*C. pepo* L.) в культуре изолированных семязачатков *in vitro*: а) прямое развитие эмбриоида из семязачатка; б) развитие эмбриоида из каллуса; в) хорошо развитый проросток; г) акклиматизированное и укорененное растение-регенерант.

питательной среды, высаживали в контейнеры с верховым торфом и накрывали пластиковыми контейнерами для адаптации к условиям *in vivo*. Выращивали при температуре 24 °С, 16-часовом фотопериоде.

Число сформированных эмбриоидов подсчитывали через 60 суток культивирования. Частоту эмбриогенеза рассчитывали, как среднее число эмбриоидов, сформировавшихся из 10 культивируемых в чашке Петри семязачатков. Схемы экспериментов были построены по модели полной рандомизации. Для каждого изучаемого фактора (регулятор роста, желирующий агент, сахар, температурная обработка) использовали не менее 10 повторностей (10 семязачатков/повторность). Статистический анализ данных проводили с применением теста Манна-Уитни на 5 %-ом уровне значимости ($p < 0,05$) с использованием программного пакета IBM SPSS Statistics 26.

Результаты и обсуждение. Формирование эмбриоидов происходило в среднем в течение 75 суток инкубации семязачатков отобранных генотипов кабачка на индукционной среде. Этот процесс протекал по двум путям: прямую из семязачатков без образования видимого каллуса (см. рисунок, а) или из каллуса (см. рисунок, б). Пересадка эмбриоидов на безгормональную регенерационную среду стимулировала их к прорастанию и образованию проростков. Проростки с хорошо развитой корневой и листовыми частями были успешно укоренены в торфяном субстрате (см. рисунок).

Регуляторы роста. Культивирование изолированных семязачатков кабачка высоко отзывчивых генотипов, гибридов AS и F₁ Ангелина на индукционной питательной среде, содержащей 2 мг/л 2,4-D, привело к фор-

мированию соответственно 9,8 и 7,3 шт. эмбриоидов на 1 чашку Петри, что статистически достоверно превзошло среднюю величину этого показателя при культивировании на среде, содержащей 0,2 мг/л TDZ (табл. 1) – 6,5 и 3,3 шт. Частота образования эмбриоидов при культивировании изолированных семязачатков низко отзывчивых генотипов, линий S7 и S, на средах с добавлением 2 мг/л 2,4-D и 0,2 мг/л TDZ была ожидаемо низкой и достоверно не различалась между вариантами на 5 % уровне значимости.

Тип желирующего агента. Тип и концентрация желирующего агента оказывали существенное влияние на частоту гиногенного развития эмбриоидов в культуре изолированных семязачатков кабачка высоко отзывчивых генотипов AS и F₁ Ангелина (табл. 2). У образца AS наибольшее их число (9,9 шт./чашку Петри) отмечали на среде, содержащей 3 г/л фитогеля. Однако эффект жели-

рования питательной среды фитогелем не был однонаправленным. Гибрид F₁ Ангелина сформировал

Таблица 1. Влияние регуляторов роста 2,4-D и TDZ на частоту образования эмбриоидов в культуре изолированных семязачатков кабачка, шт./чашку Петри*

Генотип	Регулятор роста	
	2,4-D, 2,0 мг/л	TDZ, 0,2 мг/л
AS	9,8 a	6,5 b
F ₁ Ангелина	7,3 a	3,3 b
S7	4,0 a	1,7 a
S	0,0 a	0,7 a

*в чашке Петри 10 семязачатков; между значениями, отмеченными разными буквами, есть достоверные различия на 5 %-ном уровне значимости.

большее число эмбриоидов (8,6 шт./чашку Петри) при культивировании семязачатков на среде с агаром. Различий в частоте образования эмбриоидов низко отзывчивых генотипов S7 и S в зависимости от желирующего агента не выявлено.

Таблица 2. Влияние типа желирующего агента на частоту образования эмбриоидов в культуре изолированных семязачатков кабачка, шт./чашку Петри*

Генотип	Тип желирующего агента	
	агар, 7 г/л	фитогель, 3 г/л
AS	7,7 a	9,9 b
F ₁ Ангелина	8,6 a	4,3 b
S7	0,7 a	0,4 a
S	6,0 a	2,7 a

*в чашке Петри 10 семязачатков; между значениями, отмеченными разными буквами, есть достоверные различия на 5 %-ном уровне значимости.

Сахар. Частота образования гиногенных эмбриоидов при культивировании изолированных семязачатков кабачка на питательной среде с мальтозой и сахарозой чаще всего достоверно различается (табл. 3). Последняя предопределяет формирование большего числа эмбриоидов, как у высоко отзывчивых генотипов F₁ Ангелина и AS (соответственно 8,6 и 7,7 шт./чашку Петри), так и у одного из низко отзывчивых – S (6,0 шт./чашку Петри).

Таблица 3. Влияние сахарозы и мальтозы на частоту образования эмбриоидов в культуре изолированных семязачатков кабачка, шт./чашку Петри*

Генотип	Сахар	
	сахароза, 5 %	мальтоза, 5 %
AS	7,7 a	0,7 b
F ₁ Ангелина	8,6 a	0,7 b
S7	0,7 a	6,0 a
S	6,0 a	0,3 b

*в чашке Петри 10 семязачатков; между значениями, отмеченными разными буквами, есть достоверные различия на 5 %-ном уровне значимости.

Температурная обработка. Температурная обработка изолированных семязачатков кабачка (7 суток при температуре 33 °C) – существенный фактор гиногенного образования эмбриоидов *in vitro*. Его действие было положительным и стимулировало эмбриогенез как для высоко отзывчивых, так и для низко отзывчивых генотипов. Частота образования эмбриоидов генотипа AS при температурной обработке увеличилась на 4,2 шт./чашку Петри, F₁ Ангелина – на 3,6 шт./чашку Петри (табл. 4), у низко отзывчивого генотипа S7 она возросла на 3,7 шт./чашку Петри, а для генотипа S достоверных различий между вариантами не наблюдали.

Таблица 4. Влияние температурной обработки изолированных семязачатков на частоту образования эмбриоидов, шт./чашку Петри*

Генотип	Температурная обработка	
	33 °C, 7 суток	24 °C
AS	9,8 a	5,6 b
F ₁ Ангелина	7,3 a	4,7 b
S7	4,0 a	0,3 b
S	0,0 a	2,9 a

*в чашке Петри 10 семязачатков; между значениями, отмеченными разными буквами, есть достоверные различия на 5 %-ном уровне значимости.

Генотип – один из главных ограничивающих факторов эмбриогенеза в культуре неопыленных семязачатков [4, 6]. Большинство исследователей определяют его как решающий фактор, от которого зависит успешная индукция гиногенеза и развитие эмбриоподобных структур из эксплантов. Высокая степень генотипспецифичности тыквенных культур влечет за собой сложность оптимизации этапов и создания универсальной технологии получения удвоенных гаплоидов. Zou T. (2020) отмечает, что доля индуцированных семязачатков кабачка варьировала в зависимости от генотипа от 1 до 39,67 %. В результате исследования Zou T. et al. (2020) положительный ответ на индукцию гиногенеза продемонстрировали только 8 из 13 линий тыквы [6]. В нашем исследовании целенаправленного изучения влияния генотипа на эмбриогенез в культуре изолированных семязачатков кабачка не проводили, но для экспериментов на основе предварительной оценки отобрали высоко (AS и F₁ Ангелина) и низко (S7 и S) отзывчивые генотипы.

В результате нашего исследования показано, что регуляторы роста служат существенным фактором эмбриогенеза в культуре изолированных семязачатков

кабачка, при этом 2,4-D оказывает достоверно больший положительный эффект на частоту эмбриогенеза, по сравнению с TDZ. У высоко отзывчивых генотипов AS и F₁ Ангелина при культивировании семязачатков на среде с 2 мг/л 2,4-D она была в 1,9 раза выше, чем на среде с 0,2 мг/л TDZ. При этом достоверных различий у низко отзывчивых генотипов S7 и S не наблюдали. Эти результаты согласуются с данными Ермолаева А.С. и соавт. (2022), которые указывают на высокую отзывчивость генотипов и образование большего количества эмбриоидов на питательной среде с добавлением 2,4-D, по сравнению с TDZ [2].

Самый распространенный желирующий агент в составе различных питательных сред для разных культур – агар. При этом в ряде исследований рассматривается возможность его замены на альтернативный гелеобразователь – фитогель [8]. В нашем исследовании отмечено выраженное разнонаправленное действие этих компонентов среды на частоту эмбриогенеза у высоко отзывчивых генотипов AS и F₁ Ангелина. Полученные данные согласуются с результатами исследования Синицыной А.А. и соавт. (2021) по изучению влияния желирующих агентов на индукцию эмбриогенеза капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L.). Их результаты свидетельствуют о том, что агар способствует инициированию прямого эмбриогенеза. Агаргель и фитогель оказывали влияние на скорость образования эмбриоидов, однако на питательных средах, содержащих заменители агара, наблюдали снижение корне- и побегообразующей способности, а также витрификацию регенерантов и поражение некрозами. Главный недостаток заменителей агара заключался в образовании эмбриоидов из каллуса, тогда как на питательных средах с его добавлением эмбриониды образовывались непосредственно из культивируемых микроспор [8]. Полученные Григолова Т.Р. и соавт. (2021) результаты изучения влияния различных желирующих агентов на выход растений-регенерантов свеклы столовой (*Beta vulgaris* L.) также свидетельствуют о более низкой эффективности использования фитогеля в составе питательных сред, по сравнению с агаром [5].

Наиболее распространенный источник углеводов в питательных средах – сахароза, однако есть данные и о преимуществах ее замены на мальтозу. Использование которой в составе питательной среды в качестве источника углеводов способствовало увеличению клеточной массы каллусной культуры риса (*Oryza sativa* L.) [9]. По результатам нашего исследования, сахароза увеличивала образование эмбриоидов высоко отзывчивых генотипов кабачка более чем в 10 раз, а одного из низко отзывчивых генотипов (S) частота эмбриогенеза была выше в 20 раз, по сравнению с использованием мальтозы. В работе Сомовой Е.Н. и соавт. (2021) по изучению факторов, оказывающих влияние на эффективность микрклонального размножения картофеля (*Solanum tuberosum* L.), также отмечается преимущество использования в качестве источника углеводов сахарозы, по сравнению с глюкозой и фруктозой. Авторы приходят к выводу, что увеличение концентрации сахарозы не влияет на корнеобразующую способность и сохранность микрочеренков, однако способствует формированию микроклубней картофеля [10]. В исследовании по изучению влияния факторов среды на развитие семязачатков свеклы столовой (*Beta vulgaris* L.) Grigolava T.R. и соавт. (2021) указывают на наиболее высокую эффективность использования сахарозы в составе питательных сред, по сравнению с другими источниками углеводов [11].

Как правило, в качестве стрессового фактора, стимулирующего образование эмбриоподобных структур, применяют температурный шок. Повышенные и пониженные температуры при индукции гиногенеза способствуют переходу клеток зародышевого мешка с гаметофитного на спорофитный путь развития с дальнейшим образованием эмбриоидов или морфогенного каллуса. Многие исследователи подтверждают эффективность тепловой и холодной обработок эксплантов у различных культур [4, 12]. В ранних работах показано, что повышение частоты эмбриогенеза у кабачка возможно при обработке семязачатков низкими (4 °C), либо высокими (32 °C) положительными температурами [3, 12]. Golabadi M. с соавторами (2017) также отмечали повышение частоты регенерации эмбриоподобных структур при предварительной термической обработке [4]. Однако большинство исследователей из всего разнообразия вариантов термических обработок эксплантов представителей тыквенных культур выделяют эффективность повышенных температур в индукции гиногенеза. В нашем эксперименте увеличение температуры до 33 °C в течение 7 суток привело к существенному росту частоты эмбриогенеза в культуре изолированных семязачатков, по сравнению со стандартным инкубированием при 24 °C. Частота эмбриогенеза у высоко отзывчивых генотипов повышалась в 1,7 раз, а у одного из низко отзывчивых (S7) – в 13 раз. Результаты исследований Gemes-Juhász A. и соавт. (2002) и Golabadi M. и соавт. (2017), проведенных с целью изучения факторов индукции гиногенеза огурца, подтверждают эффективность применения теплового шока (35 °C) в культуре неопыленных семязачатков [1, 4].

Выводы. Изученные факторы (регулятор роста, сахар, желирующий агент, температурная обработка) воздействуют на индукцию эмбриогенеза и формирование проростков в культуре неопыленных семязачатков кабачка (*Cucurbita pepo* L.). На эмбриогенез высоко отзывчивых генотипов оказывают влияние все из-

ученные факторы, а на эмбриогенез низко отзывчивых генотипов только отдельные из них. При этом сахароза и температурная обработка способны привести к повышению частоты эмбриогенеза последних в 20 и 13 раз соответственно. Необходимо принимать во внимание разнонаправленное влияние на частоту эмбриогенеза агара и фитогеля, что требует дальнейшего изучения в комбинации с другими факторами.

Полученные данные о факторах, повышающих частоту эмбриогенеза, свидетельствуют о том, что добавление 2 мг/л 2,4-D, 50 г/л сахарозы, 3 г/л фитогеля в индукционные питательные среды, а также температурная (33 °C) обработка эксплантов в течение 7 суток могут быть применены для оптимизации технологии производства гаплоидных растений и линий удвоенных гаплоидов кабачка в культуре изолированных семязачатков. Результаты исследования, а также дальнейшая оптимизация и унификация технологии создания удвоенных гаплоидов кабачка в культуре изолированных семязачатков позволяют использовать ее в рутинном производстве гомозиготных линий в селекционных программах F1-гибридов и фундаментальных исследованиях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа финансировалась за счет бюджета Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением 075-15-2023-220 на поддержку программы развития университета «Приоритет-2030».

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Литература.

1. Effect of optimal stage of female gametophyte and heat treatment on in vitro gynogenesis induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.) / A. Gemes-Juhász, P. Balogh, A. Ferenczy, et al. // *Plant Cell Reports*. 2002. Vol. 21. No. 2. P. 105–111. doi: 10.1007/s00299-002-0482-8.
2. Ермолаев А. С., Домблдес Е. А. Оптимизация этапов технологии получения удвоенных гаплоидов кабачка (*Cucurbita pepo* L.) в культуре неопыленных семяпочек in vitro // *Овощи России*. 2022. № 5. С. 5–14. doi: 10.18619/2072-9146-2022-5-5-14.
3. Kurtar E. S., Balkaya A., Ozbakir Ozer M. Production of callus mediated gynogenic haploids in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) // *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2018. Vol. 54. No. 1. P. 9–16. doi: 10.17221/30/2017-CJGPB.
4. Embryo and callus induction by different factors in ovary culture of cucumber / M. Golabadi, Y. Ghanbari, K. Keighobadi, et al. // *Journal of applied botany and food quality*. 2017. Vol. 90. P. 68–75. doi: 10.5073/JABFQ.2017.090.010.
5. Влияние гелеобразователя питательной среды на эмбрио- и каллусогенез в культуре изолированных семязачатков свеклы столовой (*Beta vulgaris* L.) / Т. Р. Григолава, А. В. Вишнякова, О. Н. Зубко и др. // *Известия ТСХА*. 2021. № 6. С. 32–38. doi: 10.26897/0021-342X-2021-6-32-41.
6. Efficient induction of gynogenesis through unfertilized ovary culture with winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) / T. Zou, H. Song, X. Chu, et al. // *Scientia Horticulturae*. 2020. Vol. 264. Article 109152. doi: 10.1016/j.scienta.2019.109152.
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. No. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
8. Влияние условий культивирования на частоту прорастания/регенерации микроспорогенных эмбриоидов *Brassica oleracea* L. / А. А. Сеницына, А. В. Вишнякова, А. А. Александрова и др. // *Известия ТСХА*. 2021. № 5. С. 39–54. doi: 10.26897/0021-342X-2021-5-39-54.
9. Impact of carbon source and growth regulators for the synthesis of α -amylase in rice callus culture / S. Yrgynbayeva, N. Mamytova, A. Serbayeva, et al. // *BIO Web of Conferences*. 2024. Vol. 100. Article 03018. URL: https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/abs/2024/19/bioconf_ifbioscfu2024_03018/bioconf_ifbioscfu2024_03018.html (дата обращения: 29.04.2024). doi: 10.1051/bioconf/202410003018.
10. Сомова Е. Н., Маркова М. Г., Власевская Е. А. Получение микроклубней картофеля на основе оптимизации условий культивирования in vitro // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2021. Т. 22. № 5. С. 682–688. doi: 10.30766/2072-9081.2021.22.5.682-688.
11. The effects of sugars and growth regulators on embryo- and callusogenesis in isolated ovules culture of beetroot, *Beta vulgaris* L. / T. R. Grigolava, A. V. Vishnyakova, A. V. Voronina, et al. // *Caspian Journal of Environmental Sciences*. 2021.

Vol. 19. No. 5. P. 1011–1015. doi: 10.22124/CJES.2021.5351.

12. Вишнякова А. В., Александрова А. А., Моначос С. Г. Факторы прямого прорастания микроспорогенных эмбриоидов *Brassica napus* L. // Известия ТСХА. 2022. № 6. С. 43–53. doi: 10.26897/0021-342X-2022-6-43-53.

References

1. Gemes-Juhász A, Balogh P, Ferenczy A, et al. Effect of optimal stage of female gametophyte and heat treatment on in vitro gynogenesis induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Cell Reports*. 2002;21(2):105-11. doi: 10.1007/s00299-002-0482-8.
2. Ermolaev AS, Domblides EA. [Optimization of technology stages for obtaining doubled haploids of courgette (*Cucurbita pepo* L.) in the culture of unpollinated ovules in vitro]. *Ovoshchi Rossii*. 2022;(5):5-14. Russian. doi: 10.18619/2072-9146-2022-5-5-14.
3. Kurtar ES, Balkaya A, Ozbakir Ozer M. Production of callus mediated gynogenic haploids in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2018;54(1):9-16. doi: 10.17221/30/2017-CJGPB.
4. Golabadi M, Ghanbari Y, Keighobadi K, et al. Embryo and callus induction by different factors in ovary culture of cucumber. *Journal of applied botany and food quality*. 2017;90:68-75. doi: 10.5073/JABFQ.2017.090.010.
5. Grigolava TR, Vishnyakova AV, Zubko ON, et al. [Influence of a nutrient medium gelling agent on embryogenesis and callusogenesis in the culture of isolated ovules of table beet (*Beta vulgaris* L.)]. *Izvestiya TSKhA*. 2021;(6):32-8. Russian. doi: 10.26897/0021-342X-2021-6-32-41.
6. Zou T, Song H, Chu X, et al. Efficient induction of gynogenesis through unfertilized ovary culture with winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.). *Scientia Horticulturae*. 2020;264: Article 109152. doi: 10.1016/j.scienta.2019.109152.
7. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-97. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
8. Sinitsyna AA, Vishnyakova AV, Aleksandrova AA, et al. [Effect of culture conditions on the germination/regeneration rate of microsporogenous embryoids of *Brassica oleracea* L.]. *Izvestiya TSKhA*. 2021;(5):39-54. Russian. doi: 10.26897/0021-342X-2021-5-39-54.
9. Yrgynbayeva S, Mamytova N, Serbayeva A, et al. Impact of carbon source and growth regulators for the synthesis of α -amylase in rice callus culture. *BIO Web of Conferences* [Internet]. 2024 [cited 2024 Apr 29];100: Article 03018. Available from: https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/abs/2024/19/bioconf_ifbioscfu2024_03018/bioconf_ifbioscfu2024_03018.html. doi: 10.1051/bioconf/202410003018.
10. Somova EN, Markova MG, Vlasevskaya EA. [Production of potato microtubers based on optimization of in vitro cultivation conditions]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2021;22(5):682-8. Russian. doi: 10.30766/2072-9081.2021.22.5.682-688.
11. Grigolava TR, Vishnyakova AV, Voronina AV, et al. The effects of sugars and growth regulators on embryo- and callusogenesis in isolated ovules culture of beetroot, *Beta vulgaris* L. *Caspian Journal of Environmental Sciences*. 2021;19(5):1011-5. doi: 10.22124/CJES.2021.5351.
12. Vishnyakova AV, Aleksandrova AA, Monakhos SG. [Factors of direct germination of microsporogenous embryoids of *Brassica napus* L.]. *Izvestiya TSKhA*. 2022;(6):43-53. Russian. doi: 10.26897/0021-342X-2022-6-43-53.

Поступила в редакцию 15.04.2024 После доработки 05.05.2024 Принята к публикации 23.05.2024

Требования к оформлению статей в журнале «Достижения науки и техники АПК»

В статье должно быть кратко изложено состояние дел по изучаемой проблеме со ссылками на публикации (желательно не менее трех ссылок). Затем указаны цели, задачи, условия и методы исследований. Подробно представлены результаты экспериментов и их анализ. Сделаны выводы и даны предложения производству. В статье следует по возможности выделять следующие блоки: введение; цель и задачи исследований; условия, материалы и методы исследований; результаты исследований; выводы.

Вместе со статьей должны быть представлены перевод названия на английский язык; аннотация (200-250 слов) на русском и английском языках; ключевые слова на русском и английском языках; полные почтовые адреса всех учреждений, в которых работают авторы, на русском и английском языке; ученые степени и должности авторов на русском и английском языке код УДК; библиографический список.

В тексте ссылка на источник отмечается соответствующей цифрой в квадратных скобках в порядке цитирования. В списке литературы приводятся только те источники, на которые есть ссылка в тексте. Использование цитат без указания источника информации запрещается.

Материал для подачи в журнал набирается в текстовом редакторе Word версия не ниже 97 файл с расширением *.rtf.

Объем публикации не менее 12 стр. машинописного текста (без учета резюме и списка литературы), набранного шрифтом Times New Roman, размер кегля 14 с полупропорциональным интервалом. На 2,5 страницы текста допускается не более 1 рисунка или таблицы.

Статьи необходимо направлять с сопроводительным письмом с указанием сведений об авторах (фамилия, имя, отчество – полностью, ученая степень, место работы и занимаемая должность) на русском и английском языке, контактных телефонов и адреса электронной почты для обратной связи.

На публикацию представляемых материалов необходимо письменное разрешение и рекомендация руководства организации, на средства которой проводились исследования. Его вместе с одним экземпляром рукописи, подписанным авторами, и статей в электронном виде нужно отправлять по адресу: 101000, г. Москва, Моспочтамт, а/я 166, ООО «Редакция журнала «Достижения науки и техники АПК». Для ускорения выхода в свет материалы в электронном виде можно направлять по адресу: agroark@mail.ru.

Плата с аспирантов за публикацию рукописей не взимается.

Несоответствие статьи по одному из перечисленных пунктов может служить основанием для отказа в публикации.

Все рукописи, содержащие сведения о результатах научных исследований, рецензируются, по итогам рецензирования принимается решение о целесообразности опубликования материалов.