

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ДЕПАРТАМЕНТ НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПОЛИТИКИ  
И ОБРАЗОВАНИЯ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННО БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«БРЯНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт дополнительного профессионального образования**

**Шпилев Н. С., Ториков В. Е, Белоус Н. М., Мельникова О. В.,  
Лебедько Л. В., Осипов А. А.**

**Методические рекомендации  
по ускоренной селекции  
высокопродуктивных гибридов  
кукурузы**

**Брянск, 2020**

УДК 633.14:631.527 (07)

ББК 42.112:41.3

М 54

Методические рекомендации по ускоренной селекции высокопродуктивных гибридов кукурузы / Н. С. Шпилев, В. Е. Ториков, Н. М. Белоус, О. В. Мельникова, Л. В. Лебедько, А. А. Осипов; под общ. ред. В. Е. Торикова. – Брянск: Брянский ГАУ, 2020. - 54 с.

В методических рекомендациях рассмотрены технологические приемы ускоренной селекции высокопродуктивных гибридов кукурузы с целью получения полностью гомозиготных растений. Приведены результаты исследований по использованию культуры клеток *in vitro* и метода андрогенеза. Доказано, что основным исходным материалом при создании гетерозисных гибридов кукурузы являются самоопыленные линии, которые получают путем принудительного самоопыления в течение 5-7 лет. Выращивание гаплоидных линий из пыльцевых зерен позволяет сократить этот процесс до двух лет, однако, полученные гаплоиды, полностью стерильны. Практическое их использование возможно только после удвоения числа хромосом, что восстанавливает их фертильность. На основании экспериментальных данных установлены наиболее эффективные способы удвоения числа хромосом гаплоидных растений кукурузы. Введение колхицина в растение через половину корневой системы при концентрации раствора колхицина 0,125-0,175% и продолжительности действия колхицина не менее 24 часов. Экспериментальные данные показывают, что использование данной методики позволяет достичь результативности колхицинирования от 66,6 до 88,8%. Селекционное исследование таких линий позволяет сократить сроки создания гибридов кукурузы на 5 лет и повысить эффективность селекционного процесса.

Внедрение в практику «Методических рекомендаций по ускоренной селекции высокопродуктивных гибридов кукурузы» позволят селекционерам ускорить выведение гибридов кукурузы отечественной селекции.

**Рецензенты:**

**Дронов А.В.** - доктор с.-х. наук, профессор кафедрой агрономии, селекции и семеноводства Брянского государственного аграрного университета.

**Романова И.Н.** - доктор с.-х. наук, профессор кафедры агрономии и экологии Смоленской государственной сельскохозяйственной академии.

Рекомендовано к изданию методической комиссией Института дополнительного профессионального образования Брянского ГАУ, протокол №3 от 28 сентября 2020 года.

## ВВЕДЕНИЕ

Посевные площади кукурузы в России составляют 2452,2 тысячи гектаров. Возделывание современных гибридов кукурузы и совершенствование технологий возделывания за последние десять лет позволили увеличить сбор зерна более чем на 70%, в 2019 г. он составил 13928,7 тыс. тонн. Потенциальная урожайность кукурузы на зерно превышает двести центнеров с одного гектара, лучшие хозяйства приближаются к ее реализации. Так, в 2019 г. в Краснодарском крае была получена максимальная урожайность зерна кукурузы, которая составила 178,3 ц/га.

Главным фактором повышения урожайности является успех в селекции гетерозисных гибридов кукурузы. Это позволяет создавать генотипы этой культуры, характеризующиеся высокой потенциальной урожайностью, пластичностью и высокой окупаемостью дополнительных затрат, т.е. интенсивностью.

В России, согласно Государственному реестру селекционных достижений, допущенных к производственному использованию (2018 г.), огромный выбор гибридов, по Российской Федерации 931, из них 98 - по Центральному региону.

К сожалению, около половины, из которых являются импортными, что усложняет разработку стратегии развития кукурузоводства в нашей стране. Среди гибридов, допущенных к производственному использованию, имеются простые межлинейные, двойные межлинейные и трехлинейные.

Благодаря сочетанию достаточно высокого гетерозиса и приемлемой цены семян наибольшее распространение получили простые межлинейные и трехлинейные гибриды. Независимо от типов гибридов основным исходным материалом для создания гетерозисных гибридов являются самоопыленные линии, которые в основном получают путем многократного принудительного опыления.

Для получения самоопыленных линий с высокой комбинационной способностью требуется в среднем семь лет, что существенным образом увеличивает сроки создания производственно-значимых гибридов.

Разработка и апробирование методов ускоренного создания гомозиготных линий кукурузы позволит сократить время создания гибридов и повысить эффективность селекционного процесса. Результаты исследований на эту тему представлены в данном отчете.

## 1. ЗНАЧЕНИЕ КУКУРУЗЫ

Кукуруза является древнейшим культурным растением американского континента. Здесь, по словам академика П.М. Жуковского, находится его первичная и вторичная родина.

В настоящее время кукуруза чрезвычайно широко распространилась по земному шару, зерно которой является традиционной пищей населения Латинской Америки, Мексики, а также ряда стран Европы, Азии и Африки.

Кукуруза – одна из самых распространенных и продуктивных культур в мировом земледелии. По валовым сборам зерна она стоит на первом месте в мире, по посевным площадям уступает только пшенице. Основные страны экспортеры зерна кукурузы: США, Китай, Франция, Аргентина (В.Е. Ториков, С.А. Бельченко, А.В. Дронов и др., 2018).

Это важнейшая зерновая и кормовая культура. Калорийность 100 г ее зерна - 325 Ккал. Содержание моно- и дисахаридов - 1,16 г, крахмала - 58,2 г., ненасыщенных жирных кислот - 3,46 г., Кроме того, зерно содержит значительное количество витаминов группы В. Из макроэлементов в зерне кукурузы преобладают калий (340 мг/100 г), фосфор (301 мг на 100 г) и магний (104 мг на 100 г). Из микроэлементов: алюминий (440 мкг/100 г); бор (270 мкг/100 г) и медь (280 мкг/10 г). Кормовая ценность 1 кг зерна - 1,34 к.е., 1 кг проса - 1,23 к.е., пшеницы - 1,19 (Г.М. Полетаев, 2008; А.Ф. Стулин, 2009).

Кукуруза является основным видом комбикорма в животноводстве, причем преимущественно используется при производстве мяса. Кукурузный силос - универсальный корм. 1 центнер кукурузного силоса - это свыше 21 к.е. При этом содержание протеина в комбикорме из кукурузы сравнительно низкое, по-

этому наиболее целесообразным считается ее использование как составной части (А.Б. Жерукова, 2006).

Кукурузный силос - прекрасный корм для крупного рогатого скота и свиней. На корм скоту используются зеленые листья и стебли, а в измельченном виде - стержни початков, сухие листья и стебли.

Кукурузное зерно используют для изготовления кондитерских изделий, поп-корна, круп, муки. Из этого ценного продукта в мире готовят множество национальных блюд. Вследствие высокого содержания крахмала зерно кукурузы нашло применение в крахмальной промышленности, достаточно высокое содержание Сахаров обеспечило его использование в паточном, спиртовом и пивоваренном производстве (А.И. Супрунов, О.В. Теркина, 2009).

В связи с тем, что содержание клейковины в зерне кукурузы невелико, кукурузная мука для хлебопечения непригодна. Она нашла применение в качестве добавки при производстве кондитерских изделий (В.С. Сотченко, 2009).

Кроме зерна в перерабатывающей промышленности нашли широкое применение стержни, стебли, листья и обертки початков (Е.В. Большакова, 2009).

Как пропашная культура она оставляет после себя поля, чистые от сорняков, в рыхлом состоянии, с большим запасом органического вещества в виде корней и стеблевых остатков. Поэтому она является хорошим предшественником для других культур. В южных районах России кукурузу высевают как пожнивную и поукосную культуру. Кукурузу используют и как кулисное растение для снегозадержания (В.Е. Торики и др., 2018).

## **2. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И АГРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

Кукуруза (*Zea mays* L) относится к семейству злаковые Gramineae Из трибы Мауае наиболее близки к роду *Zea* L. роды *Euchlaena* Schrad. и *Tripsacum* L.

В основу классификации кукурузы положена система, разработанная Стэртевантом в 1899 г., основанная на морфологических особенностях эндосперма в зерновке. Согласно этой классификации, вид *Zea mays* делится на следующие подвиды.

1. *Ssp. amilacea* - кукуруза крахмалистая. Зерновка сплошь выполнена мучнистым эндоспермом, состоящим из округлых крахмальных зерен. Тонкий слой роговидного эндосперма располагается по периферии зерновки и практически трудно различим невооруженным глазом.

2. *Ssp. indentata* - кукуруза зубовидная. Верхушка зерна лишена роговидного эндосперма, который располагается по бокам зерна. В процессе созревания и высыхания зерновки на вершине ее образуется характерная впадина различной степени выраженности. К этому подвиду относится большинство районированных сортов и гибридов кукурузы во всех странах.

3. *Ssp. indurata* - кукуруза кремнистая. Наружная периферическая часть зерновки состоит из роговидного эндосперма разной толщины, внутренняя часть - из мучнистого. Кремнистая кукуруза, как и зубовидная, очень широко распространена в культуре. По свидетельству академика П.М. Жуковского, она первой среди других подвидов была завезена в Европу.

4. *Ssp. everta* - кукуруза лопающаяся. Зерновка почти полностью состоит из роговидного эндосперма и только в зоне, непосредственно примыкающей к щитку, имеются следы мучнистого эндосперма.

По форме зерновки лопающаяся кукуруза подразделяется на две подгруппы: рисовую и перловую. При нагревании сухого зерна эндосперм под давлением паров воды, содержащихся в крахмальных сферокристаллах и между ними, лопается и как бы выворачивается наружу. Этот подвид отличается высокой питательностью. Зерна содержат от 62 до 72% крахмала и до 12-14% белка.

5. *Ssp. saccharata* - кукуруза сахарная. Зерно характеризуется высоким содержанием декстрина. При созревании эндосперм сильно сморщивается и становится прозрачным. Ценный подвид для производства консервированной кукурузы. Сахарная кукуруза введена в культуру в 1779 г.

6. *Ssp. amyleo-saccharata* - кукуруза крахмалисто-сахарная. Периферическая часть зерновки, преимущественно верхняя, состоит из эндосперма, сходного с эндоспермом сахарной кукурузы. Внутренняя часть зерновки содержит крахмалистый эндосперм.

7. *Ssp. tunicata* - кукуруза пленчатая. Редкая форма кукурузы с зерновками, заключенными в пленки. Производственного значения не имеет.

8. *Ssp. ceratina* - кукуруза восковидная. Эндосперм зерновки состоит преимущественно из амилопектинового крахмала (75%), который в растворе йода в йодистом калии дает красно-бурое окрашивание. Амилозного крахмала в эндосперме содержится 25%.

И хотя такая классификация условна и не отражает филогенетические отношения внутри вида, но, по мнению М.И. Хаджинова, эта система крайне важная и ценная.

**Ботаническое описание.** Семена кукурузы прорастают одним зародышевым корешком, который достигает значительной длины и функционирует весь период жизни растения. Затем появляются боковые зародышевые корни, а позднее - первые придаточные узловые. Более крупные корни, образовавшиеся из нижних узлов, служат для опоры растения, обуславливая его устойчивость к полеганию. Корни образуют мочковатую корневую систему, проникающую на глубину от 1,5 до 4 м и более.

Стебель у кукурузы прямой, гладкий, высота его колеблется в очень широком интервале: от 0,6 до 5 м и более. Узлы делят стебель на междоузлия, длина которых возрастает от нижних к верхним. Число надземных междоузлий сильно варьирует у разных сортов и форм и может достигать 30.

Лист кукурузы, как и у других злаковых растений, имеет линейно-ланцетную форму. Расположение листьев по стеблю очередное, хотя описаны редкие случаи получения гибридов с супротивным расположением.

Установлена определенная положительная корреляция между числом листьев на растении и вегетационным периодом.

Кукуруза отличается от других злаков тем, что является однодомным раздельнополым растением.

Мужское соцветие кукурузы называется метелкой. Она образуется на вершине стебля. Метелка состоит из центральной оси и боковых веточек, на которых располагаются колоски. На центральной оси они размещаются в несколько

рядов, а на боковых веточках чаще всего в два ряда. Отдельный колосок состоит из двух колосковых чешуи травянистого типа, заостренных кверху, и 1-3 (чаще двух) цветков. Колосковые чешуи опушены. Колоски располагаются попарно, причем один из них сидячий (нижний), а второй на короткой ножке (верхний).

Цветок состоит из двух тонких цветковых чешуи, трех тычинок, двух лодикул и рудиментарного пестика.

Женское соцветие - початок, образуется в пазухах стеблевых листьев. На стержне початка попарно продольными рядами располагаются колоски. В каждом колоске имеется два цветка, из которых развивается и плодоносит только верхний. Колосковые чешуи короткие, кожистые, а цветковые тоже короткие, но тонкие, пленчатые. Кроме цветковых чешуи, цветок имеет три рудиментарные тычинки, две нефункционирующие лодикулы и пестик, состоящий из круглой завязи, длинного столбика и двухлопастного рыльца. Быстрый рост столбика определяется меристематическим слоем клеток, расположенным у его основания.

Початок плотно закрыт листьями обертки, у которых сильно развито влагалище, а пластинка листа в той или иной степени редуцирована. Число початков на растении разнообразно и колеблется от 1 до 10. У большинства современных гибридов на стебле образуется 1-2 початка.

Плод - зерновка различной формы, величины и окраски.

### **Особенности роста и развития кукурузы**

Кукуруза – однолетняя культура. Жизненный цикл растения определяют рост и развитие. Рост это необратимое увеличение линейных размеров, поверхности, объема, массы растительного организма, новообразование структур цитоплазмы (хлоропластов, митохондрий и др.), происходящее в клетках. Рост представляет собой интегральный процесс и является результатом функциональной деятельности органов и растительного организма в целом.

Таблица 1 - Фазы роста и развития кукурузы. Этапы органогенеза  
(по Ф.М. Куперман)

Фаза роста и развития	Этап органогенеза	
	метелка	початок
Прорастание семян, всходы	I. Конус нарастания не дифференцирован	
Третий – пятый лист	II. Дифференциация конуса нарастания  III. Рост в длину конуса нарастания	I. Недифференцированный конус нарастания бокового побега (початок); II. Дифференциация бокового побега на узлы и междоузлия
Шестой – восьмой лист (начало стеблевания)	IV. Формирование колосовых лопастей	III. Дальнейшее вытягивание конуса нарастания, неглубокая сегментация его основания
Выход в трубку (11-13 лист)	V. Формирование цветков в колосках  VI. Образование пыльцы	IV. Образование колосковых лопастей. Формирование колосковых бугорков; V. Дифференциация колоскового бугорка
Выметывание метелки	VII. Рост в длину всех членников, завершение формирования половых клеток VIII. Выметывание метелки	VI. Формирование зародышевого мешка, рост столбиков пестика VII. Завершение формирования половых клеток
Цветение метелки. Выбрасывание нитей початка	IX. Цветение метелки	VIII. Выбрасывание нитей (пестичных столбиков с рыльцами)
Усыхание нитей початка		IX. Цветение, опыление, оплодотворение; X. Формирование зародыша и зерновки, начало молочной спелости
Молочная спелость		XI. Молочная спелость, накопление питательных веществ в зерновке
Восковая спелость		XII. Превращение питательных веществ в запасные
Полная спелость		

Жизненный цикл растения состоит из двух периодов – вегетативного и репродуктивного. В течение первого периода интенсивно образуется вегетативная масса, усиленно растет корневая система, происходит кущение и ветвление, закладываются органы цветка. Репродуктивный период включает цветение и плодоношение. После цветения в значительной мере изменяется характер физиологических и биохимических процессов, уменьшается влажность вегетативных органов, резко снижается содержание азота в листьях, происходит отток пластических веществ к их вместилищам, прекращается рост стеблей в высоту (табл. 1).

Развитие – это качественные физиологические, биохимические и морфологические изменения при новообразовании элементов структуры организма, которые обуславливают происхождение растением определенных этапов жизненного цикла – онтогенеза: молодости, половой зрелости, размножения, старения и отмирания.

Рост и развитие отражают наследственные особенности и всю совокупность процессов взаимодействия растительного организма с факторами внешней среды, они связаны между собой, обуславливают друг друга.

Растительный организм в процессе роста и развития закономерно проходит отдельные фазы, которые отличаются определенным обменом веществ. Сначала наблюдается фаза эмбрионального роста, потом фаза растяжения, и наконец, наступает фаза внутренней дифференциации. В таблице 1 приведены фазы роста и развития кукурузы, а также этапы органогенеза.

Прорастание семян начинается с поглощения воды, набухания, разрастания эмбриональной части и разрыва наружной семенной оболочки. При прорастании под влиянием ферментов происходит разложение сложных органических запасных веществ: белков – до аминокислот, полисахаридов – до моносахаридов, жиров – до жирных кислот, оксикислот, альдегидов, которые потребляются зародышем.

В практике управляемого растениеводства фазы роста и развития кукурузы разбивают на этапы органогенеза. Это позволяет знать особенности формирования репродуктивных (метелка, початок) и вегетативных (листья, стебель,

корень) органов растений. В формировании мужского соцветия у кукурузы различают девять, женского – 12 этапов.

Наблюдения за их развитием позволит осуществлять прогноз накопления биомассы и озерненность метелки. В практике фенологических наблюдений за начало каждой фазы принимают время, когда в нее вступают 25-30%, за полную фазу – 75% растений.

Для кукурузы и сорго характерен эпигеический тип прорастания семян, т.е. оно обеспечивается путем растяжения эпикотиля или надсемядольного колена.

**Биологические особенности.** Кукуруза - теплолюбивое растение, погибает при понижении температуры до  $-2, -4^{\circ}\text{C}$ . Оптимальная температура для роста и развития  $15-24^{\circ}\text{C}$ . Это ограничивает распространение кукурузы в районах с суммами температур за вегетационный период менее  $2500^{\circ}$ .

Кукуруза, хотя и не засухоустойчивая культура, очень эффективно использует воду: на образование 1 кг сухого вещества расходуется 256 кг воды (у овса - 468 кг).

Кукуруза очень требовательна к плодородию почвы и агрофону, хотя в ряде случаев может давать хорошие урожаи на торфяниках и при слабом засолении солями хлора (до 0,04%).

Кукуруза - растение короткого дня, что сказывается при продвижении ее в северные районы.

Цветение мужского соцветия начинается через 6-12 дней после того, как веточки метелки покажутся из влагалища листа. С середины центральной оси оно распространяется вверх и вниз и постепенно переходит на боковые веточки. Цветение различных цветков в колоске и в каждой паре их происходит неодновременно. Одновременно зацветают верхний цветок нижнего (сидячего) колоска и нижний цветок верхнего колоска. Сам процесс раскрытия цветка и выход пыльников, сопровождающийся высыпанием пыльцы, происходит быстро.

Начало цветения, как правило, приходится на 7-9 ч утра и продолжается оно до полудня. Но при дожде и последующей за ним солнечной погоде цветение метелок наблюдается и во второй половине дня.

Продолжительность цветения отдельной метелки зависит от погодных условий, размеров самой метелки и сортовых особенностей и колеблется от 3 до 15 дней.

Каждое растение кукурузы продуцирует огромное количество пыльцы: в каждом пыльнике, а их на метелке около 7000, в среднем содержится около 2000 пыльцевых зерен.

Жизнеспособность пыльцы кукурузы невелика и в нормальных условиях практически редко превышает 24 часа.

Цветение женского соцветия начинается с появления пестичных нитей из обертки початка. Первыми из нее выходят рыльца нижних цветков, а затем верхних. Разница во времени их появления может достигать 7 дней, хотя обычно колеблется от 2 до 3 дней. За 1-2 дня до выхода рылец из обертки они уже готовы к восприятию пыльцы, а яйцеклетка - к оплодотворению. Нить столбика по всей длине покрыта мелкими волосками, что благоприятствует задерживанию пыльцы и ее прорастанию, при этом пыльцевая трубка вырастает в ткани столбиканити, даже если пыльцевое зерно не попало на двухлопастное рыльце. Нити и завязи сохраняют жизнеспособность 10-12 дней. Вплоть до оплодотворения нити продолжают свой рост и могут достигать длины 20-35 см. После оплодотворения в течение 2-3 дней они буреют и засыхают.

Цветение женского соцветия у большинства форм кукурузы начинается через 2-4 дня после зацветания метелки. Но встречаются формы, у которых этот период растягивается до 20 дней или же женские соцветия зацветают на 1-2 дня раньше мужских (некоторые образцы из Средней Азии).

Кукуруза - перекрестноопыляющееся растение, но, как показали наблюдения, в естественных условиях происходит и самоопыление, хотя количество таких цветков невелико - не превышает 5%.

**Ксенйность.** Пыльцевые зерна кукурузы прорастают через 2-4 часа после попадания на рыльце пестика. Рост самой пыльцевой трубки в тканях пестика проходит довольно интенсивно, т.е. через 20-24 часа пыльцевая трубка достигает зародышевого мешка и изливает в него свое содержимое. Происхо-

дит двойное оплодотворение, которое и обуславливает появление ксений. Ксенийность заключается в непосредственном проявлении признаков отцовского организма в гибридном семени. Выявление ксений у кукурузы облегчается благодаря ряду признаков структуры и окраске эндосперма и алейронового слоя.

Ксенийность у кукурузы может проявляться только в следующих случаях, когда материнские растения отличаются от отцовских тем, что являются рецессивными по определенным признакам эндосперма и алейронового слоя, а также в случае появления признаков эндосперма и алейронового слоя, обусловленных комплементарным действием доминантных генов, находящихся до оплодотворения у каждой родительской формы отдельно.

### **3. ЗАДАЧИ И МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ**

**Создание высокопродуктивных гибридов зернового и силосного направлений.** Современные гибриды кукурузы в производственных условиях различных районов возделывания дают высокие урожаи зерна (до 200 ц с 1 га) и силосной массы. Поэтому создание новых, еще более продуктивных гибридов - задача сложная, для решения которой необходимо преодолеть трудности в приспособленности кукурузы к условиям возделывания и повысить уровень гетерозиса. Особое значение приобретает тип гибридов для той или иной зоны, который зависит от агроэкологических условий зоны, особенностей использования урожая (зерно или силос), организации и экономики семеноводства и других факторов.

Повышение продуктивности (уровня гетерозиса) различных типов гибридов зернового направления зависит, прежде всего, от максимального улучшения признаков, определяющих структуру урожая: число початков на растении, размеры початков, число зерен на початке, вес одного зерна.

В последнее время повышение продуктивности гибридов кукурузы связывают с отбором линий по признаку двухпочатковости и передачи этого признака гибриду. Трудность заключается в небольшом количестве двухпочатко-

вых инцухт-линий, имеющих в распоряжении селекционера (2 %), что объясняется их происхождением из однопочатковых форм, сортов и гибридов; Поэтому сначала создают исходный гибридный материал, из которого в дальнейшем выделяют двухпочатковые самоопыленные линии. В Краснодарском научно-исследовательском институте сельского хозяйства в качестве донора для создания двухпочатковых форм используют многопочатковый сорт перловой кукурузы Леди Фигнер, который скрещивают с хорошими стандартными линиями. Двухпочатковые самоопыленные линии превосходят однопочатковые по числу зерен на одно растение на 52% и по среднему урожаю зерна на 25%. Установлен высокий уровень наследуемости признака двухпочатковости. При этом отбор на двухпочатковость, повышая урожай зерна у самоопыленных линий, не уменьшает их комбинационную способность.

**Селекция на продолжительность вегетационного периода.** Широкому распространению кукурузы препятствует продолжительный вегетационный период, сильно ограничивающий районы ее возделывания, как на зерно, так и на силос. Гибриды силосного направления к моменту уборки должны иметь зерно в молочно-восковой спелости, когда содержание сухого вещества в растении около 25%, а в початке без оберток -28-35%.

Продолжительность вегетационного периода - сильно варьирующий признак. Для получения скороспелых гибридов нужно использовать различные по скороспелости линии. Установлено, что при сочетании в гибриде пар с различным вегетационным периодом он будет приближаться по скороспелости к более раннеспелой родительской форме. Если же линии, используемые при создании гибрида, имеют одинаковый вегетационный период, то гибрид, как правило, созревает на несколько дней позже. Исследованиями Всесоюзного научно-исследовательского института кукурузы для самоопыленных линий, используемых селекционерами, установлено пять групп скороспелости: 1 - раннеспелая (вегетационный период 80-90 дней), 2 - среднераннеспелая (90-100 дней), 3 - среднеспелая (101 - 110 дней), 4- среднепозднеспелая (111-120 дней), 5 - позднеспелая (свыше 120 дней).

Для основных районов возделывания кукурузы на зерно ее вегетационный период не должен превышать 110-120 дней.

Проблема селекции на скороспелость важнейшая не только для нашей страны, но и почти для всех стран Европы, в которых возделывается кукуруза. Для сравнения гибридов различных стран мира по скороспелости ФАО разработана шкала из 9 классов скороспелости с определенным стандартом (гибрид) для каждого класса. Наиболее скороспелые формы относятся к классу 100-199. Они имеют вегетационный период 78-85 дней. Стандартом для данного класса служит гибрид W (Висконсин) 1600. Позднеспелые гибриды (продолжительность вегетационного периода от 145 и выше дней) отнесены к последнему классу 900-999. Стандартом в этой группе является гибрид YC 523W.

**Создание неполегающих форм.** Механизация возделывания кукурузы, особенно ее уборки, требует создания неполегающих форм. Устойчивость к полеганию - очень сложный признак, который определяется развитием корневой системы (подземных и воздушных корней), гибкостью стебля и сопротивляемостью его излому, устойчивостью к некоторым болезням (стеблевой гнили) и вредителям (кукурузному мотыльку).

Установлена положительная корреляция между устойчивостью к полеганию и одревеснением стебля. В то же время известно, что устойчивость кукурузы к полеганию не связана с высотой растений. Например, линия W187 при высоте растений 152 см имела 60 % полегших растений, а линии Ну и WF-9 при высоте растений 170 см не полегли совсем.

Использование в скрещиваниях самоопыленных линий, устойчивых к полеганию, позволяет получать устойчивые к полеганию гибриды. В то же время, если в создании гибрида участвует одна устойчивая к полеганию линия, а вторая неустойчивая, то гибрид, как правило, бывает малоустойчив или неустойчив к полеганию. В таком случае целесообразно использовать устойчивую к полеганию линию в качестве материнской формы.

**Создание форм для условий орошения.** Это направление связано с развитием орошения в южных районах Российской Федерации. Гибриды, создава-

емые для орошаемых земель, должны с максимальной полнотой использовать влагу и удобрения и эффективно окупать затраты. Однако необходимо помнить, что продуктивность гибридов в условиях полива во многом зависит от таких факторов, как воздушный режим, продолжительность светового дня, продолжительность вегетационного периода гибрида. Наибольший эффект при орошении дают гибриды с максимально допустимой для данной зоны продолжительностью вегетационного периода. Например, для Средней Азии наиболее перспективны позднеспелые гибриды, возделываемые и на зерно, и на силос, а для полузасушливого юга России - среднеспелые. Очень эффективны в условиях орошения и пожнивные посевы кукурузы. Поэтому создание скороспелых гибридов типа Днепровский 56Т, который показал хорошие результаты при пожнивных посевах, также имеет большое значение.

При поливе хорошо проявляется такой ценный хозяйственный признак, как двухпочатковость.

Исследованиями показана значительная разница в проявлении гетерозиса у простых межлинейных гибридов на поливе и без него.

**Улучшение качества зерна и зеленой массы.** Зерно и зеленая масса кукурузы содержат мало протеина (в среднем 10%). К тому же качество его низкое, так как в нем преобладает зеиновая фракция. Попытки улучшить протеиновый комплекс методом отдаленной гибридизации практических результатов не дали.

Кардинальное решение этой проблемы стало возможным лишь в самое последнее время после открытия в США мутантных генов опейк-2 и флаури-2. Использование этих мутантов позволило резко повысить содержание незаменимых аминокислот в зерне, и зеленой массе. В частности, ген  $O_2$  в хромосоме VII повышает содержание лизина на 1/3. При скармливании такой кукурузы животным их ежесуточные привесы увеличиваются в два и более раза, чем у животных, в рацион которых входит обычная кукуруза.

**Самоопыленные линии кукурузы.** Современная селекция кукурузы немыслима без использования самоопыленных линий (инцухт-линий). Их полу-

чают путем контролируемого самоопыления растений. Как правило, самоопыление растений проводят в течение 5-6 и более лет.

Наблюдения и расчеты показали, что при самоопылении растения кукурузы очень быстро достигается гомозиготность по большинству локусов

Через семь поколений инбридинга меньше чем одно растение из 100 сохраняет гетерозиготность по какому-либо одному локусу.

Во время работ по самоопылению отбраковывают уродливые и нежизнеспособные формы, а также формы, поражаемые болезнями и склонные к полеганию. В дальнейшем потомство одного инцухтированного растения будет вполне однородным по всем признакам и может размножаться на изолированных участках. Это и будет инцухт-линия. Инцухтированные растения, составляющие инцухт-линии, низкорослы, имеют мелкие початки. Урожайность таких линий составляет в среднем около 10-20% урожайности исходного сорта или гибрида.

Практическое использование инцухт-линий началось после блестящих исследований Шелла (1908-1909 гг.), показавшего пути их использования. В настоящее время самоопыленные линии широко применяют в различных скрещиваниях для получения гибридов с высоким уровнем гетерозиса.

Установлено, что не все инцухт-линий при вовлечении их в гибридизацию способны давать высокопродуктивные гибриды. Из десятков тысяч самоопыленных линий кукурузы для производства гибридов используется в настоящее время менее 0,1%. Для получения гибридов приходится отбирать линии с высокой комбинационной способностью. Это очень сложно, так как отсутствует связь (корреляция) между внешними признаками линий и их комбинационной ценностью. В начале работ по гибридной кукурузе, когда инцухт-линий было немного, их просто скрещивали друг с другом во всевозможных комбинациях, стремясь отобрать формы, лучшие по комбинационной способности.

Селекционеры вначале стремятся оценить общую комбинационную способность всех имеющихся в их распоряжении линий и выбраковать линии с низкой комбинационной способностью, а оставшиеся линии в дальнейшем испытывают на специфическую комбинационную способность.

Общая комбинационная способность определяется в специальных скрещиваниях, получивших название топкросса (top-crossing). В этом случае все линии скрещиваются с одним тестером (сорт, двойной гибрид, гибридная популяция). Основой для применения метода топкросса служит высокая положительная корреляция между поведением чистой линии в простых гибридах и в топкроссе с сортом. При этом число скрещиваний соответствует числу инцухт-линий, имеющихся в распоряжении селекционера.

Немаловажное значение при проведении топкроссов имеет выбор тестера. Оказалось, что если в качестве тестера брать самоопыленную линию, то результаты будут высоко специфичны именно для данного тестера и не могут быть использованы для предсказания результатов при скрещивании с другим, неродственным тестером. Поэтому предпочтительнее в качестве тестера использовать свободноопыляющийся сорт (можно двойной гибрид), обладающий широкой наследственной основой.

Для более точной оценки селекционеры часто используют 2-3 тестера.

Линии, отобранные по признаку высокой общей комбинационной способности, в дальнейшем скрещиваются между собой во всех возможных комбинациях для изучения специфической комбинационной способности и выявления наиболее продуктивных комбинаций.

Очень важен в селекции самоопыленных линий вопрос о том, на каком этапе инцухта проводить оценку линий на общую комбинационную способность. С одной стороны, раннее освобождение от бесперспективных линий значительно облегчает работу селекционера и экономически очень выгодно. С другой, нельзя не учитывать расщепление по признаку комбинационной способности в процессе инцухта и возможность выщепления высокоценных по этому признаку линий. По этим вопросам не существует единого мнения.

Чрезвычайно важно в селекции инцухт-линий найти признаки, связанные с комбинационной способностью линий, что значительно облегчило бы труд селекционера. Имеются некоторые данные, свидетельствующие о положительной корреляции между продуктивностью инцухт-линий и их комбинационной

способностью. Поэтому общепризнано, что для испытания на комбинационную способность следует отбирать лучшие по продуктивности инцухт-линии.

В настоящее время самоопыленные линии используют для следующих целей.

1. Получение простых межлинейных гибридов, т.е. гибридов между двумя самоопыленными линиями. Примером могут быть гибриды Слава и Светоч. Слава получена в результате скрещивания двух инцухт-линий - ВИР 44 x ВИР 38, а Светоч от скрещивания линий ВИР 40 x ВИР 43.

Простые гибриды наиболее высокопродуктивны из всех возможных гибридных форм с участием самоопыленных линий. Но их распространение в производстве сдерживалось, с одной стороны, высокой стоимостью семян, так как материнские формы низкопродуктивны, а с другой - слабой экологической пластичностью этих гибридов. В настоящее время в связи с отбором высокопродуктивных инцухт-линий и интенсификацией земледелия (полив, удобрения) роль простых гибридов все больше возрастает. В СССР первый простой гибрид Краснодарский 303ТВ районирован в 1973 г. По урожаю зерна он значительно превышает районированный двойной межлинейный гибрид ВИР 42.

Во Всесоюзном селекционно-генетическом институте создан перспективный простой гибрид сахарной кукурузы ДН 756-12-4 x 252, который по урожаю зерна превышает стандарт (сорт Одесская сахарная) на 7 ц с 1 га. Здесь же выведен перспективный простой гибрид лопающейся кукурузы Старт (Ар 1 x Sg 30 D), превысивший по урожаю зерна стандарт Днепровский 921 на 20,1 ц с 1 га.

2. Получение сортолинейных гибридов двух типов, т. е. гибридов между сортом и линией или между простым межлинейным гибридом и сортом. К первому типу относится уже упоминавшийся гибрид Буковинский 3, ко второму - гибрид Буковинский 11 [Местная кремнистая X (линия Черновицкая 21 X линия Черновицкая 5)].

В этом скрещивании участвуют сорт Местная кремнистая и простой межлинейный гибрид, полученный от скрещивания двух инцухт-линий: Черновицкая 24 и Черновицкая 5.

3. Получение трехлинейных гибридов, т. е. гибридов от скрещивания трех инцухт-линий. Например, гибрид Днепровский 927 Т получен от скрещивания (Р 18Т X Р 40зТ) X Са 56.

4. Получение двойных межлинейных гибридов, т. е. гибридов от скрещивания двух простых межлинейных гибридов:

Слава (линия ВИР 44 X линия ВИР 38) X Светоч (линия ВИР 40 X линия ВИР 43)- ВИР 42.

В нашей стране в настоящее время гибридами такого типа заняты основные посевные площади кукурузы, возделываемой на зерно. Число двойных гибридов, которые могут быть получены при наличии  $n$  самоопыленных линий, можно вычислить по формуле:

$$\frac{3n(n-1)(n-2)(n-3)}{24}$$

При создании двойных межлинейных гибридов неизвестным остается порядок соединения самоопыленных линий в пары. Предварительно предсказать правильные сочетания линий в ряде случаев можно, основываясь на исследованиях Экхардта и Бриана. Эти исследователи, изучая закономерность соединения самоопыленных линий в пары, обозначили символами А и В линии, происходящие от одного сорта, а Y и Z, от другого. Испытание гибридов типа (А X В) X (Y X Z) и (А X Y) X (В X Z) показало, что наиболее урожайны гибриды типа (А X В) X (Y X Z). При этом линии можно менять местами: А X В или В X А, чтобы использовать положительные цитоплазматические эффекты.

5. Получение сложных гибридных популяций в результате смешения и переопыления линий, простых межлинейных или двойных гибридов. Примером может служить гибридная популяция Краснодарская 1/49, полученная от переопыления четырех межлинейных гибридов: ВИР 37, ВИР 57, ВИР 114 и Краснодарский 3.

Сложные гибридные популяции иногда называют «множественными ги-

бридами» и «синтетическими сортами» или «синтетиками». Основная идея создания «синтетиков» заключается в получении более дешевых семян, так как не надо ежегодно производить  $F_1$ , а также в получении более пластичного материала для посева в районах, неблагоприятных для кукурузы по погодным условиям.

Селекция кукурузы прошла длительный период развития, на отдельных этапах которого использовали различный материал и применяли разные методы. Это связано и с эволюцией самой селекции как науки, которая ежегодно обогащается новыми данными и методами.

**Метод массового отбора.** Это наиболее древний из всех применявшихся методов для улучшения форм кукурузы. Он был основан на отборе лучших початков, которые использовались для воспроизведения последующих поколений. При этом происходило переопыление между растениями и, таким образом, улучшались средние показатели, но не фиксировался лучший тип растения.

Все-таки этим методом были выведены хорошие сорта кукурузы - Воронежская 76, Зубовидная 3135, Абашская желтая, а из американских - знаменитый сорт Рид еллоу дент, который был самым распространенным сортом кукурузного пояса США более 100 лет. В настоящее время из него получена самоопыленная линия WF 9, входящая в родословную наиболее урожайных простых гибридов WF 9 X 38-11 и WF 9 X Ну.

**Межсортовая гибридизация.** Межсортовую гибридизацию применяли как метод создания новых сортов, а также для использования гетерозиса в  $F_1$ . К межсортовым гибридам относился Первенец (Броун-Конти X Грушевская), который был районирован в 1939 г., но затем снят с производства, так как межлинейные и сортолинейные гибриды оказались значительно более продуктивными.

**Початкорядный отбор.** Этот метод впервые применен американским ученым Гопкинсом в 1896 г. на Иллинойской опытной станции.

В основу его был положен отбор лучших початков, изучение и выделение впоследствии лучших потомств. Этот метод не оправдал возлагавшихся на него надежд и в настоящее время не применяется.

**Селекция самоопыленных линий.** Как указывает М.И. Хаджинов, применение метода самоопыленных линий не только не исключает тщательный отбор линий в процессе самоопыления, но, наоборот, резко подчеркивает его значение и делает такой отбор важнейшим методом в селекции.

В настоящее время разработаны схемы селекции самоопыленных линий, которые не только позволяют получить, отобрать и улучшить соответствующие инцухт-линии, но и определить в процессе селекции их общую и специфическую комбинационную способность.

**Стандартный метод.** Это наиболее распространенный метод создания самоопыленных линий. В посеве популяции или гибрида отбирают наилучшие растения, которые подвергают самоопылению. На следующий год семенами каждого початка, полученного от самоопыления, засевают одну одворядковую делянку (30-40 растений). Для дальнейшего самоопыления выбирают потомства без признаков депрессии, а внутри этих потомств - лучшие растения и проводят самоопыление. На третий год - то же самое. На четвертый год семена высевают тем же способом, а отобранные потомства наряду с самоопылением скрещивают с тестером. На пятый год проводят отбор среди потомств от самоопыления и продолжают самоопыление, испытывают полученные гибриды, а также применяют скрещивание с тестером. На шестой год проводят отборы среди потомств от самоопыления на основе испытания гибридов, отбирают растения внутри потомств и подвергают их самоопылению, а также испытывают гибриды. На седьмой год проводят отбор и самоопыление внутри потомств и диаллельные скрещивания. На восьмой год применяют отбор и самоопыление внутри линий, давших наилучшие результаты при диаллельных скрещиваниях. На 9-10-й год размножают лучшие самоопыленные линии.

**Гнездовой метод.** Этот метод, предложенный Джонсом и Синглтоном в 1934 г., более прост, чем стандартный метод. В первый год среди исходных популяций отбирают растения и проводят самоопыление. На второй год от каждого початка, полученного от самоопыления, высевают в гнезда по три зерна. Из этих трех растений выбирают лучшее, подвергают его самоопылению и скре-

щивают с тестером. На третий год эти операции повторяют, а также проводят испытание  $F_1$  от скрещивания с тестером. Худшие потомства выбраковывают. На четвертый, пятый и шестой год повторяют все названные выше приемы. На седьмой год высевают на делянках полученные линии и проводят диаллельные скрещивания. Этот метод дает возможность вести испытание большого числа потомств, усилить отбор среди них, но возможность отбора в пределах каждого потомства уменьшается.

**Кумулятивный отбор.** Создают линии одним из описанных выше методов и лучшие из них скрещивают для получения популяции (7-й год работы). С этого момента начинают теми же методами создавать линии, но основываются на уже полученной популяции. Это второй цикл работы.

**Метод отбора гамет.** Этот метод был предложен Стадлером и основан на том, что частота встречаемости гамет с нужным (желательным) уровнем комбинационной ценности выше в популяции, чем частота зигот. Поэтому уловить в популяции необходимые гаметы легче, чем путем инбридинга выделить линию с такой же комбинационной способностью. Практически работа ведется в такой последовательности.

Одна хорошая линия (А) из двойного межлинейного гибрида  $X (A \times B)$  опыляется пыльцой произвольно отобранных растений сорта или гибрида, из которого хотят выделить гаметы с высокой комбинационной ценностью и тем самым улучшить линию А.  $F_1$  дифференцировано только благодаря пыльце растений отцовского сорта.

Лучшие растения  $F_1$  самоопыляются и скрещиваются с тестером (простой гибрид  $C \times D$ ). С этим же тестером-анализатором скрещивают и линию А.

На следующий год потомства от самоопыления высевают на отдельных делянках, испытывают гибриды  $F_1 \times (C \times D)$ , сопоставляя их с  $A \times (C \times D)$ . Отбирают для посева в следующем году растения с делянок, давших гибриды с  $(C \times D)$ , лучшие, чем  $A \times (C \times D)$ , проводят самоопыление этих растений  $S_1$ , а также скрещивают  $S_1 \times (C \times D)$  и  $A \times (C \times D)$ .

На четвертый год испытывают  $S_1 \times (C \times D)$ . Применяют самоопыление  $S_2$  на тех делянках, которые дали гибриды с  $(C \times D)$ , превысившие  $A \times (C \times D)$ .

На пятый год проводят отбор среди и внутри потомства и самоопыление растений  $S_3$ . На шестой год размножают улучшенную линию  $A^1$ .

**Метод параллельной селекции.** Улучшают при помощи беккроссов четыре линии, входящие в состав двойного межлинейного гибрида. По мнению автора данного метода Брандолини, эта схема позволяет улучшить линии без дополнительного их испытания.

**Периодический отбор.** Этот метод основан на положениях, что быстрое возрастание гомозиготности самоопыляющихся потомств при селекции инцухт-линий лимитирует использование многих генов, которые представляют практический интерес, особенно генов, определяющих непрерывную изменчивость (количественные признаки). Разработано несколько схем для работы этим методом.

1. Повторяющийся отбор по морфологическим признакам. По этой схеме в первый год на посевах сорта отбирают растения и проводят их самоопыление. На второй год применяют переопыление между потомствами от самоопыления, отобранными по желаемому признаку. На третий год высевают семена созданной популяции и начинают новый цикл отбора и самоопыления и т.д. Этот метод оказался очень эффективным при создании линий с повышенным содержанием масла, лизина, триптофана, устойчивых к болезням.

2. Отбор линий по признаку общей и специфической комбинационной способности на ранних этапах самоопыления. Эта схема также состоит из отдельных циклов, каждый из которых длится три года. Первый год - отбор растений, их самоопыление и скрещивание с тестером; второй год - испытание гибридов; третий год - посев потомств, давших хорошие результаты от скрещивания с тестером и скрещивания их между собой. Полученные семена смешивают. На четвертый год высевается популяция и начинается новый цикл.

3. Повторяющийся отбор на фоне реципрокных скрещиваний был предложен в 1949 г. Комстоком, Робинсоном и Харвей. Этот метод предполагает реципрокные скрещивания между растениями из популяций **A** и **B**, их самоопыление и проведение отбора на комбинационную способность. Работа делится на ряд этапов (циклов), каждый из которых длится 3 года. В первый год ра-

боты лучшие растения из популяции **A** подвергают самоопылению и скрещивают с растениями из популяции **B**. То же проделывают с растениями из популяции **B**. На второй год работы испытывают две группы гибридов. На третий год высевают потомства от самоопыления в первый год тех растений, которые в скрещиваниях дали наилучшие результаты. В этом же году производят скрещивания в различных комбинациях между линиями из популяции **A** и между линиями из популяции **B**. Семена, полученные от этих скрещиваний, смешивают (раздельно в пределах групп линий **A** и **B**) и на следующий год высевают, создавая популяции **A<sup>1</sup>** и **B<sup>1</sup>**, на основе которых и начинается в этом же году новый цикл отбора.

При использовании методов периодического отбора в каждом поколении следует отобрать такое число растений, чтобы свести к минимуму инбридинг (2,8%).

**Метод конвергентной селекции.** Это метод улучшения уже существующих линий за счет взаимного добавления к каждой из двух линий доминантных генов, отсутствующих у одной родительской формы и имеющих у другой. Он включает следующие этапы.

1. Скрещивание двух линий  $A \times B$ .
2. Взаимный беккросс  $(A \times B) \times A$  и  $(A \times B) \times B$  и в последующих трех поколениях отбор форм, имеющих признаки второй родительской формы.
3. Самоопыление и отбор для получения гомозиготных форм  $A^b$  и  $B^a$ , т. е. линии **A** с признаками линии **B** и линии **B** с признаками линии **A**.

**Использование цитоплазматической мужской стерильности.** Благодаря цитоплазматической мужской стерильности гибриды широко распространились в производстве. Был получен огромный экономический эффект, так как значительно снизились затраты ручного труда на производство семян гибридов. ЦМС была открыта Родсом в 1931 г. и М.И. Хаджиповым в 1932 г. Первая попытка практического использования ее в селекции кукурузы принадлежит Ричи и Уоллесу, но она окончилась неудачей, так как источник стерильности, открытый Родсом, не проявил стабильности по этому признаку. И только после открытия

Мангельсдорфом и Дженкинсом новых источников стерильности работа в этом направлении была возобновлена. Первые простые гибриды на стерильной основе в США были получены Джонсом и Мангельсдорфом в 1947 - 1948 гг.

Практическое использование ЦМС-системы у кукурузы предполагает следующие факторы.

1. Создание гибридов, соответствующих по урожайности и другим показателям.

2. Перевод на стерильную основу материнских форм гибрида (линия, простой гибрид, сорт) - создание стерильных аналогов.

3. Передача восстанавливающей способности линиям или другим формам, используемым в качестве отцовских, - создание аналогов - восстановителей фертильности.

Методы получения гибридов были описаны выше, здесь же излагаются способы создания стерильных аналогов и аналогов – восстановителей фертильности.

Генетическое исследование ЦМС-системы показало, что стерильность пыльцы проявляется только при сочетании «стерильной» цитоплазмы с генами **rf** в рецессивном состоянии. В доминантном же состоянии гены RF тормозят действие «стерильной» цитоплазмы, не изменяя ее структуры.

Согласно гипотезе Джонса, ЦМС контролируется плазмемно-ядерной системой, включающей плазмогены (специфические элементы цитоплазмы, способные к саморепродукции и передающиеся через цитоплазму материнской половой клетки), и генами, локализованными в хромосомах.

В настоящее время описано несколько типов стерильности кукурузы, по в нашей стране используются три: тexasский и бразильский и молдавский.

Молдавский и тexasский типы стерильности различаются между собой по специфической реакции на гены - восстановители фертильности. Например, установлено, что линия ВИР 44 является закрепителем стерильности для форм с молдавским типом стерильности и восстановителем фертильности для ЦМС тexasского типа.

У растений с тexasским типом стерильности пыльники полностью стерильные, а растения молдавского типа стерильности могут иметь в пыльниках небольшой процент фертильных пыльцевых зерен, но пыльники не вскрываются. Чаще встречается молдавский тип стерильности.

Перевод самоопыленных линий на стерильную основу (создание стерильных аналогов) осуществляется методами беккроссов.

При этом селекционер должен учитывать, что в ряде случаев «стерильная» цитоплазма оказывает угнетающее действие на развитие таких признаков, как высота прикрепления верхнего початка, длина метелки, общее число листьев и некоторых других. Например, стерильный аналог самоопыленной линии Иллинойс 90 уменьшает высоту растений на 12% по сравнению с фертильной формой. Установлено, что ЦМС молдавского типа вызывает меньшую депрессию, чем ЦМС тexasского типа.

Создание стерильных аналогов облегчается тем, что большинство созданных самоопыленных линий (94-96%) относится к закрепителям стерильности.

Сравнение продуктивности стерильных и фертильных аналогов простых, двойных и сортолинейных гибридов показало, что перевод гибридов на стерильную основу не сказывается на их продуктивности.

Селекционер должен знать, что сравнительная ценность тexasского и молдавского типов ЦМС в гибридах одинакова. Поэтому он может выбирать наиболее удобный для него источник ЦМС при переводе создаваемых гибридов на стерильную основу.

В программе селекции кукурузы с использованием ЦМС создание аналогов – восстановителей фертильности занимает центральное место. Это объясняется тем, что среди самоопыленных линий, используемых селекционерами, линии, восстанавливающие фертильность, встречаются крайне редко (4-6%).

Аналоги - восстановители фертильности создаются, как правило, методом беккроссов или выделяются из различных популяций. При насыщающих скрещиваниях доминантные гены - восстановители фертильности (**Rf**) переносятся в генотип линий, которым стремятся придать восстановительную способность.

Существует несколько схем создания аналогов - восстановителей фертильности. Наиболее распространены из них: создание таких аналогов на фертильной основе, на стерильной основе (метод Э. Экхарда и М.И. Хаджинова) и комбинированная схема, предложенная М.И. Хаджиновым и Э.И. Вахрушевой.

#### 4. ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ

В качестве исходного материала использовались гибриды кукурузы, получившие наибольшее распространение в Центральном регионе, имеющие разное происхождение: Машук 185 МВ - простой межлинейный гибрид, Докучаевский 190 СВ – трехлинейный гибрид и Воронежский 160 СВ - двойные межлинейный гибрид.

**Докучаевский 190 СВ.** Включён в Госреестр по Центральному (3), Волго-Вятскому (4) и Центрально-Чернозёмному (5) регионам на зерно в 2018 г. Учреждение оригинатор- ФГБНУ НИИСХ Центрально-Черноземной полосы имени В.В. Докучаева.

Раннеспелый трёхлинейный гибрид. Антоциановая окраска влагалища первого листа средняя, верхушка округлая. Лист слегка изогнутый, угол между пластинкой листа и стеблем средний. Антоциановая окраска корней у стебля слабая. Время цветения метёлки раннее. Антоциановая окраска колосковой чешуи слабая, её основания - отсутствует или очень слабая, пыльников - средняя, колоски средней плотности. Главная ось метёлки выше верхней боковой ветви длинная, образует с боковыми веточками средний угол. Первичные боковые веточки метёлки слегка изогнутые-изогнутые, средней длины, веточек средних - много. Антоциановая окраска шёлка очень слабая, влагалища листа - отсутствует или очень слабая. Растение высокое, лист узкий-средний. Початок средний - длинный, среднего диаметра - тонкий, слабokonический, ножка средней длины, рядов зёрен много, антоциановая окраска стержня средней интенсивности. Тип зерна промежуточный, ближе к кремнистому, окраска верхней части зерна оранжевая, нижней - жёлто-оранжевая.

Средняя урожайность зерна в Центральном (3) регионе составила 108,1 ц/га (+17,6% к уровню стандарта), Волго-Вятском (4) - 48,8 ц/га (+18,2% к уровню стандарта) и в Центрально-Чернозёмном (5) - 70,3 ц/га (+18,4% к стандарту). Максимальная урожайность зерна - 153,3 ц/га получена на Обоянском зерновом ГСУ Курской области в 2015 году. Влажность зерна при уборке в среднем по регионам составила: в Центральном - 31,4% (+3,3% к уровню стандарта), в Волго-Вятском - 33,2% (-0,3% от уровня стандарта) и в Центрально-Чернозёмном - 23,1% (+0,6% к уровню стандарта). Вегетационный период в различных условиях уборки в среднем по регионам составил от 114 дней до 154 дней. Высокая устойчивость к стеблевому кукурузному мотыльку.

Направление использования - зерновой. Срок созревания - раннеспелый.

**Машук 185 МВ.** Простой, линейный гибрид.

Включён в Госреестр по Волго-Вятскому (4) Центральному (3) регионам на силос и Центрально-Чернозёмному (5), Восточно-Сибирскому (11) регионам на зерно в 2009 г. Учреждение оригинатор – ФГБНУ Всероссийский НИИ кукурузы.

Раннеспелый. Лист изогнутый, угол между пластинкой листа и стеблем средний. Антоциановая окраска корней у стебля слабая. Время цветения метелки раннее. Антоциановая окраска колосковой чешуи, основания чешуи и пыльников - слабая, колоски средней плотности. Главная ось метелки выше верхней боковой ветви средней длины, образует с боковыми веточками средний угол. Первичные боковые веточки метелки слегка изогнутые, средней длины, веточек мало - среднее количество. Антоциановая окраска шелка слабая, влагалища листа - отсутствует или очень слабая. Растение средней высоты - высокое, лист узкий - средней ширины. Початок средней длины и толщины, слабokonический, ножка короткая, рядов зерен среднее количество - много, стержень окрашен средне. Зерно зубовидное, в верхней части жёлтое.

Средняя урожайность нормализованного сухого вещества в Волго-Вятском регионе - 75,7 ц/га, выше стандарта на 4,7 ц/га. Средняя урожайность зерна в Центрально-Черноземном регионе - 66,8 ц/га, на уровне стандарта.

Устойчив к южному гельминтоспориозу, слабо поражался пузырчатой головней, сильно - фузариозом початков. Восприимчив к бактериозу. Сильно повреждался стеблевым кукурузным мотыльком.

Регион допуска к производственному использованию: Центральный, Волго-Вятский, Центрально-черноземный, Восточно-Сибирский, Дальневосточный.

Направление использования - универсальный. Срок созревания - ранний (раннеспелый).

**Воронежский 160 Св.** Допущен к производственному использованию в 2016 г. Учреждение оригинатор – ФГБНУ Всероссийский НИИ кукурузы.

Раннеспелый двойной межлинейный гибрид.

Антоциановая окраска влагалища первого листа средняя, верхушка острая - округлая. Лист слегка изогнутый - изогнутый, угол между пластинкой листа и стеблем средний. Антоциановая окраска корней у стебля слабая. Время цветения метёлки раннее. Антоциановая окраска колосковой чешуи метёлки и её основания очень слабая - слабая, пыльников - средняя, колоски средней плотности - плотные. Главная ось метёлки выше верхней боковой ветви длинная, образует с боковыми веточками маленький - средний угол. Первичные боковые веточки метёлки прямые, средней длины - длинные, веточек много. Антоциановая окраска шёлка слабая, влагалища листа - отсутствует или очень слабая. Растение высокое, лист средней ширины. Початок средней длины и диаметра, слабokonический, ножка короткая - средней длины, рядов зёрен среднее количество - много, антоциановая окраска стержня отсутствует. Тип зерна промежуточный, ближе к зубовидному, окраска верхней и нижней части зерна жёлтая.

Средняя урожайность зерна в Центральном регионе составила 80,5 ц/га (+5,5% к уровню стандарта), в Волго-Вятском - 26,6 ц/га (+15,6% к стандарту), в Средневолжском - 58,4 ц/га (+7,4% к стандарту). Высокая урожайность - 93,5 и 93,8 ц/га - (она же максимальная) была получена в 2015 г. на Сасовском ГСУ Рязанской области и Старо-Синдровском ГСУ Республики Мордовия соответственно. Предуборочная влажность зерна составила 32,6%; 38,3% и 28,4%% со-

ответственно. Вегетационный период составил от 118 до 140 дней по регионам в зависимости от условий уборки.

Средняя урожайность нормализованного сухого вещества составила в Северо-Западном регионе 64,2 ц/га (+4,9% к уровню стандарта), в Центральном - 114,4 ц/га (+10,6%), в Волго-Вятском - 135,7 ц/га (+9,5%), в Центрально-Чернозёмном - 131,5 ц/га (+1,4%), в Средневолжском - 132,5 ц/га (+6,0%) и Западно-Сибирском - 66,8 ц/га (+15,4% к уровню стандарта). Максимальная урожайность - 149,6; 249,0; 483,2; 340,0; 419,7 и 169,0 ц/га получена в 2015 г. соответственно на Псковском ГСУ Псковской, Плавском ГСУ Тульской, Больше-Болдинском ГСУ Нижегородской, Липецкой ГСИС Липецкой областей, Старо-Синдровском ГСУ Республики Мордовия и Новосибирском зерновом ГСУ Новосибирской области. Среднее содержание сухого вещества в зелёной массе составило по регионам 20,8% (-1,7% к стандарту), 26,2% (-0,9%), 25,4% (+1,0%), 44,6% (+1,7%), 37,8% (на уровне стандарта) и 24,5% (-0,7%).

Регионы допуска к производственному использованию - Северо-Западный, Центрально-Черноземный, Волго-Вятский, Западно-Сибирский.

Направление использования - универсальный. Срок созревания - ранний (раннеспелый).

## **5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ПРОЦЕССЕ РЕАЛИЗАЦИИ МЕТОДОВ УСКОРЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ ВЫСОКОПРО- ДУКТИВНЫХ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ**

Для выращивания гаплоидов использовали наиболее распространённые питательные среды: Гамборга В5 и Мурасиге-Скуга, которые стандартизированные и рекомендованы для выращивания культуры растений *in vitro*.

Перечисленные питательные среды в своем составе содержат одни и те же группы химических веществ и соединений, среди них микробиогенные соли, микробиогенные вещества и компоненты, витамины и компоненты к средам (табл. 2,3).

Микробиогенные соли в среде Мурасиге-Скуга на один литр составляют 4,232720 г, а Гамборга В5- 2,86933 г.

В пределах каждой группы компонентов, в зависимости от питательной среды их количество может существенно различаться. Так, в зависимости от среды на порядок различается содержание аммония и его форма. В среде Мурасиге-Скуга включен Нитрат аммония в количестве 1,650000 г/л, а в среде Гамборга В5 Сульфат аммония в количестве 0,134000 г/л.

Содержание микробиогенных веществ в зависимости от питательной среды различается в значительно меньшей степени. В среде Мурасиге-Скуга их содержание составляет 0,097890 г/л, а в среде Гамборга В5 – 0,081150 г/л.

Существенное различие составляет содержание Борной кислоты - в среде Мурасиге-Скуга в два раза больше, и в четыре раза больше содержание Сульфата цинка –  $ZnH_2O$ .

Общее количество витаминов в представленных питательных средах существенно не различается, но по отдельным компонентам различия присутствуют.

В среде Гамборга В5 отсутствует витамин Глицин, а в среде Мурасиге-Скуга его содержание составляет 0,003 г/л. Содержание Никотиновой кислоты и Пиридоксин – НСІ в среде Гамборга В5 в два раза больше, а Тиамин - НСІ в сто раз больше, чем в Мурасиге-Скуга.

Таблица 2 - Состав питательной среды Мурасиге-Скуга

Компоненты	Среда Мурасиге-Скуга
1	2
<b>Микробиогенные соли</b>	<b>4,232720 г/л</b>
Нитрат аммония	1,650000
Сульфат аммония	-
Хлорид кальций безводный	0,332020
Сульфат магния безводный	0,180700
Нитрат калия	1,900000
Дигидрофосфат калия	0,170000
<b>Микробиогенные вещества</b>	<b>0,097890 г/л</b>
Борная кислота	0,006200
Хлорид кобальта - $CuH_2O$	0,000025

## Продолжение таблицы 2

1	2
Сульфат меди безводный	0,000025
Сульфат железа - 7H <sub>2</sub> O	0,027800
Сульфат марганца - H <sub>2</sub> O	0,016900
Молибдат натрия - 2H <sub>2</sub> O	0,000250
Na <sub>2</sub> - ЭДТА-2-H <sub>2</sub> O	0,037260
Йодит калия	0,000830
Сульфат цинка – 7H <sub>2</sub> O	0,008600
<b>Витамины</b>	<b>0,1031 г/л</b>
Глицин	0,002000
Мио-Инозитол	0,100000
Никотиновая кислота	0,000500
Пиридоксин - HCl	0,000500
Тиамин - HCl	0,000100
<b>Компоненты к средам</b>	
	Среда Мурасиге-Скуга Макро- и микро- Нутриенты и витамины
Сахароза	30
Агар-агар	8

Таблица 3 - Состав питательной среды Гамборга B5

Компоненты	Среда Гамборга B5
1	2
<b>Микробиогенные соли</b>	<b>2,86933 г/л</b>
Нитрат аммония	-
Сульфат аммония	0,134000
Хлорид кальций безводный	0,113240
Сульфат магния безводный	0,122090
Нитрат калия	2,500000
Дигидрофосфат калия	-
<b>Микробиогенные вещества</b>	<b>0,081150 г/л</b>
Борная кислота	0,003000
Хлорид кобальта - 6H <sub>2</sub> O	0,000025
Сульфат меди безводный	0,000025
Сульфат железа - 7H <sub>2</sub> O	0,027800
Сульфат марганца - H <sub>2</sub> O	0,010000
Молибдат натрия - 2H <sub>2</sub> O	0,000250
Na <sub>2</sub> - ЭДТА-2-H <sub>2</sub> O	0,037300
Йодит калия	0,000750
Сульфат цинка – 7H <sub>2</sub> O	0,002000
<b>Витамины</b>	<b>0,112 г/л</b>

Продолжение таблицы 3

1	2
Глицин	-
Мио-Инозитол	0,100000
Никотиновая кислота	0,001000
Пиридоксин - HCl	0,001000
Тиамин - HCl	0,010000
<b>Компоненты к средам</b>	
	Среда Гамборга В5 Макро- и микро- Нутриенты и витамины
Сахароза	20
Агар-агар	8

На 10 г/л сахарозы в Мурасиге-Скуга больше агар-Агара (природный желатин, полученный путем экстрагирования, преимущественно из красных морских водорослей *Phyllophora Grailarial*

По мнению В.С Шевелуха. и др., в отдельные питательные среды включают кроме ауксинов и цитокинов гиббереллиновую кислоту. Иногда к питательной среде добавляют растительные экстракты или соки.

Наибольший ростактивирующей способностью обладает кокосовое молоко - жидкий эндосперм кокосового ореха.

В последние годы возрос интерес исследователей к салициловой кислоте – стрессовому метаболиту, сочетающему свойства сигнального интермедиата и фитогормона. Салициловую кислоту используют и как регулятор роста растений. Добавляя в питательную среду в концентрации от 0,7 до 5 мг/л стимулируют корнеобразование у ряда плодовых культур.

Показано, что стимулирующий или ингибирующий эффект зависит от концентрации салициловой кислоты. А также видовой и сортовой специфики растений (М.Б. Янковская, С.А. Муратова, 2011).

Такие различия питательных сред для выращивания *in vitro*, тем более разных культурных растений не могут не сказаться на эффективности выращивания гаплоидов, что подчеркивает актуальность изучения индивидуальной эффективности используемых сред.

## 6. ПОЛУЧЕНИЕ ГАПЛОИДОВ

Совершенствование методов селекции позволяет процесс создания сортов и гибридов сделать предсказуемым, и более эффективным, а так же уменьшить срок создания сортов и гибридов сельскохозяйственных культур.

По мнению Е.Г. Савенко и др. (2016): «Сочетание методов классической селекции с биотехнологическими методами позволяет решать поставленные задачи в более короткий срок. Метод культуры изолированных пыльников - один из перспективных способов получения гаплоидных растений».

Использование гаплоидных растений нашло широкое применение в селекции многих культур: в селекции проса (С.В. Бобков, 2013); ежевики, малины черной (М.Т. Упадышев, 1995), риса (М.В. Илюшко, М.В. Скапцов, М.В. Романова, 2018) и других культур.

Особую значимость получение гаплоидов имеет при создании гетерозисных гибридов кукурузы, поскольку основным исходным материалом при их селекции являются самоопылённые линии.

Наиболее распространенным методом при их создании является многолетнее принудительное самоопыление. Наибольшую общую и специфическую комбинационную способность у линии кукурузы можно получить после семи-летнего принудительного самоопыления линии кукурузы.

Перспективным методом создания гомозиготных линий кукурузы является получение гаплоидов. По данным Ю.Л. Гужова (2003), получить гаплоидные растения можно разными методами:

- 1.) Отбор близнецов;
- 2.) Межвидовые скрещивания;
- 3.) Радиологический метод;
- 4.) Гибридизация;
- 5.) Культура микроспор.

В Национальном центре зерна им. П.П. Лукьяненко разработана оригинальная технология массового получения гаплоидов кукурузы и их диплоизации. Ис-

пользование этой технологии сокращает время на получение гомозиготных линий до двух лет. Сущность этой методики в том, что матроклинные (материнского типа) вовлекаются в скрещивание специально созданные линии – гаплоиндукторы с маркерными генами окраски зерновки (О.А. Шацкая, М.В. Паршина, 2017).

По данным Н.В. Шаминой, О.А. Шацкой (2011) изученные линии имеют довольно низкий процент фертильных растений, несмотря на то, что фенотип растений внутри линии сходен, и все они потенциально фертильны. Это объясняется, вероятнее всего, действием в мейозе большинства гаплоидных растений механизма апоптоза. Апоптоз уничтожает аномальные клеточные клоны, реально фертильными оказываются, по-видимому, те немногие растения, в мейозе которых механизмы апоптоза дают сбой и неэффективны.

Все это указывает на то, что, несмотря на высокую перспективность, недостаточность изученности данного вопроса сдерживает широкое производственное использование гаплоидов.

Изложенная информация позволяет сделать предположение, что изучение данной проблемы позволит шире использовать полученные гаплоиды в практической селекции гетерозисных гибридов кукурузы.

Гаплоиды представляют большой интерес для генетиков и селекционеров. У гаплоидов рецессивные гены не подавляются доминантными аллелями и поэтому все они проявляются фенотипически, если у гаплоидов используя колхицин удвоить число хромосом, то возникает диплоидный организм гомозиготный абсолютно по всем генам (при обычном самоопылении этого достигнуть практически невозможно).

Отбор пыльцевых зерен проводили с указанных гибридов (Машук 185 МВ - простой межлинейный гибрид, Докучаевский 190 Св – трехлинейный гибрид и Воронежский 160 Св - двойные межлинейный гибрид) растения которых переходили к VII этапу органогенеза. В этот период развиваются мужской и женский гаметофиты, образуются обособленные одноядерные пыльцевые зерна. Одновременно идет усиленный рост соцветий и их покровных органов. В конце VII этапа органогенеза образуется двухядерная пыльца (Ф.Н. Куперман, 1973).

На сегодня существуют разные способы получения дигамплоидов растений. Можно выделить несколько основных методов экспериментальной гаплоидии:

1. Получение дигамплоидных растений путем отдаленной гибридизации часто применяется в селекционных программах
2. Гиногенез – получение гаплоидов в культуре женского гаметофита.
3. Андрогенез – процесс образования гаплоидного растения из микроспоры или клеток пыльцевого зерна.

У кукурузы возникновение гаплоидных растений матроклинного типа – редкое явление. Несмотря на научную и практическую значимость гаплоидии, многие вопросы, касающиеся генетической детерминации, закономерностей и особенностей процессов, приводящих к образованию гаплоидных растений, до сих пор остаются открытыми. Одна из объективных причин недостаточной изученности гаплоидии – практически полное отсутствие форм растений, у которых это явление носило бы наследуемый характер и возникало стабильно и регулярно.

На кафедре генетики и лаборатории биотехнологии и репродуктивной биологии Саратовского госуниверситета разработан принципиально новый метод создания линий кукурузы с наследуемой гаплоидией, основанный на скрещивании с линиями-донорами партеногенеза. Частота гаплоидии у таких линий может достигать десятков процентов.

Андрогенез может быть прямым (эмбриогенез) или непрямым, т.е. через каллусогенез. Андрогенез может происходить различными путями, в том числе через развитие генеративной или вегетативной клеток, а также через образования суспензора. Основными же методами получения гаплоидных растений на основе андрогенеза являются культуры пыльников (КП), который считается самым технологичным на сегодняшний день. Этим методом пользуются практически все биотехнологические подразделения селекционно-генетических компаний Европы и США.

Широко используется метод культуры пыльников и в России при селекции прочих культур: Е.Г. Савенко - при селекции риса, Д.В. Шумилина, Н.А. Шлыкова - при селекции перца и др.

Метод культуры пыльников использован при изучении и селекции 427 видов растений, относящихся к 88 родам и 33 семействам. Наибольшее использование получил при селекции таких культур, как пшеница, рис, кукуруза, виноград, перец и другие культуры.

Получение гаплоидных растений из изолированных пыльников может идти по двум направлениям: прямая регенерация и косвенная – через каллусогенез. В первом случае внутри пыльников из отдельных пыльцевых зерен формируются проэмбриональные структуры, которые при определенных условиях культивирования развиваются в эмбриоиды, дающие начало гаплоидным растениям. Эмбриоиды - зародышеподобные структуры. Во втором – пыльца делится, а клетки, возникшие в результате делений, быстро увеличиваются в размерах и, разрывая оболочку пыльцевого зерна, образуют каллус. В результате дальнейшего морфогенеза из этих каллусных клеток регенерируют растения. При этом растения могут иметь разную степень пloidности – ди-, поли-, анеуплоидные. Последние часто стерильны, но после обработки растений колхицином происходит удвоение числа хромосом, в результате чего можно получить фертильные гомозиготы. Культура пыльников все еще остается возможностью для специализированных групп с относительно однородным генетическим пулом и может в будущем еще развивать эффективные методы. Поэтому мы использовали этот метод.

Перед посадкой пыльников на питательную среду проводили их дезинфекцию путем обработки 70% раствором этанола, с последующим промыванием в дистиллированной воде. Часть пыльников подвергали холодному стрессу, выдерживая их в температуре  $+3^{\circ}\text{C}$  в течение 10 дней.

Такое же количество пыльников выдерживали при температуре  $+35^{\circ}\text{C}$  (высокотемпературный ток) в течение 3 дней. Перед посадкой пыльников в каждую питательную среду добавляли азотнокислое серебро ( $\text{AgNO}_3$ ) из расчета 1,3 и 5 мг/л. Для успешного доступа питательной среды к пыльцевым зернам пыльники прокалывали иглой.

Калусогенез (стадию развития) пыльники проходили в термостате при температуре  $+22-24^{\circ}\text{C}$  без освещения на протяжении 120 дней.

Для прохождения следующей стадии – регенерации, помещали чашки петри на светоустановку. Предварительно по количеству пыльцевых зерен, которые попадали в объектив микроскопа и образовавшие калусы определяли процент калусообразования.

Освещенность стадии регенерации поддерживалась в пределах 12-14 тысяч люкс, влажность воздуха не допускали снижения ниже 80%. Продолжительность светового периода составляла 16 часов, температурный режим находился в пределах +22-24<sup>0</sup>С.

После завершения стадии регенерации (образования листочков и корешков) переносили растения в теплицу на плодородную почву (50% серо-лесных почв и 50% перегноя) помещенную в мешки. Приживаемость таких растений составила в среднем 65,4%.

Перепрограммирование развития микроспор с нормального гаметофитного пути на спорофитный для образования андрогенных зародышей может быть достигнута и другими способами, что достаточно полно отражено в научной литературе.

Отличительной особенностью их является подбор специализированных питательных сред для более успешного прохождения стадии калусогенеза, регенерации с использованием двухслойных питательных сред и др.

Считается рациональным высевать отделенные пыльцевые зерна предварительно отделенные от оболочки пыльников путем разрушения миксером со скоростью вращения 6-8 тыс. оборотов в минуту, фильтрацией, центрифугирования и доведения плотности микроспор до 3-7 x 10<sup>4</sup> микроспор/мл., а затем перенос на питательную среду и т.д.

Используя описанную методику, нами были получены экспериментальные данные, показывающие успешное получение гаплоидов. При этом установлено влияние питательной среды и генотипа пыльцевых зерен на эффективность получения гаплоидов. Наиболее успешно этапы калусогенеза и регенерации проходили пыльцевые зерна с гибрида Воронежский 160 СВ, соответственно 17,3% и 7,1% на питательной среде Мурасиге Скуга и 17,0% и 6,9% на

питательной среде Гамборга В5 (табл. 4, 5, 6). Уменьшение концентрации используемых питательных сред на 50% привело к незначительному снижению калусогенеза и регенерации пыльцевых зерен испытываемых генотипов не зависимо от питательной среды. Действие изменения температуры несколько повышало калусогенез и регенерацию, при этом высокие температуры более эффективно влияли на эти процессы.

Более значимым оказалось включение в питательную среду азотнокислого серебра. Независимо от питательной среды калусогенез и регенерация увеличивались у всех генотипов при увеличении количества  $\text{AgNO}_3$ . Превышение 3мг/л азотнокислого серебра приводило к снижению физиологических процессов и калусогенез и регенерация уменьшались. Оптимальная доза 3мг/л позволяла увеличить калусообразование на 4-6%, а регенерацию на 3-5%. При этом экспериментальные данные показывают, что на всех этапах выращивания гаплоидов большей эффективностью характеризовалась питательная среда Мурасиге Скуга, а влияние генотипа на прохождения калусогенеза достигает 4%.

Таким образом, испытанная технология получения гаплоидов позволяет благодаря неограниченному объему исходного материала, т.е. пыльников, обеспечить селекционеров в полном объеме их потребности в исходном материале.

Таблица 4 - Калусообразование и регенерация пыльцевых зерен гибрида Докучаевский 190 СВ в зависимости от изучаемых факторов, (%)

Докучаевский 190 СВ														
Питательная среда														
Условия культивирования	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	1/2 Мурашиге-Скуга	1/2 Гамборга В5	Низкие t <sup>0</sup> +4 <sup>0</sup> С		Высокие t <sup>0</sup> +35 <sup>0</sup> С		Азотнокислое серебро AgNO <sub>3</sub> , мг/л					
					Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга, 1 мг/л	Гамборга В5, 1 мг/л	Мурашиге-Скуга, 3 мг/л	Гамборга В5, 3 мг/л	Мурашиге-Скуга, 5 мг/л	Гамборга В5, 5 мг/л
Стадии развития	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	1/2 Мурашиге-Скуга	1/2 Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга, 1 мг/л	Гамборга В5, 1 мг/л	Мурашиге-Скуга, 3 мг/л	Гамборга В5, 3 мг/л	Мурашиге-Скуга, 5 мг/л	Гамборга В5, 5 мг/л
калусогенез	14,3	12,7	13,6	12,5	14,9	14,6	14,8	15,9	16,9	16,1	21,5	20,0	14,6	13,0
регенерация	4,8	5,1	4,7	4,9	5,2	4,9	5,1	5,3	5,2	6,0	8,8	10,1	6,3	6,1

Таблица 5 - Калусообразование и регенерация пыльцевых зерен гибрида Машук 185 МВ в зависимости от изучаемых факторов, (%)

Машук 185 МВ														
Питательная среда														
Условия культивирования	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	1/2 Мурашиге-Скуга	1/2 Гамборга В5	Низкие t <sup>0</sup> +4 <sup>0</sup> С		Высокие t <sup>0</sup> +35 <sup>0</sup> С		Азотнокислое серебро AgNO <sub>3</sub> , мг/л					
					Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга, 1 мг/л	Гамборга В5, 1 мг/л	Мурашиге-Скуга, 3 мг/л	Гамборга В5, 3 мг/л	Мурашиге-Скуга, 5 мг/л	Гамборга В5, 5 мг/л
Стадии развития	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	1/2 Мурашиге-Скуга	1/2 Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга, 1 мг/л	Гамборга В5, 1 мг/л	Мурашиге-Скуга, 3 мг/л	Гамборга В5, 3 мг/л	Мурашиге-Скуга, 5 мг/л	Гамборга В5, 5 мг/л
калусогенез	15,7	15,0	14,2	13,3	16,0	15,9	16,2	16,1	18,8	18,7	19,9	19,1	13,8	15,0
регенерация	5,6	5,7	4,9	4,3	5,8	6,0	5,8	6,0	6,1	6,3	6,5	6,2	5,3	5,5

Таблица 6 - Калусообразование и регенерация пыльцевых зерен гибрида Воронежский 160 СВ в зависимости от изучаемых факторов, (%)

Воронежский 160 СВ														
Питательная среда														
Условия культивирования	Мурашиге-Скуга	Гамборга 5	<sup>1</sup> / <sub>2</sub> Мурашиге-Скуга	<sup>1</sup> / <sub>2</sub> Гамборга В5	Низкие t <sup>0</sup> +4 <sup>0</sup> С		Высокие t <sup>0</sup> +35 <sup>0</sup> С		Азотнокислое серебро AgNO <sub>3</sub> , мг/л					
					Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга, 1 мг/л	Гамборга В5, 1 мг/л	Мурашиге-Скуга, 3 мг/л	Гамборга В5, 3 мг/л	Мурашиге-Скуга, 5 мг/л	Гамборга В5, 5 мг/л
Стадии развития	Мурашиге-Скуга	Гамборга 5	<sup>1</sup> / <sub>2</sub> Мурашиге-Скуга	<sup>1</sup> / <sub>2</sub> Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга	Гамборга В5	Мурашиге-Скуга, 1 мг/л	Гамборга В5, 1 мг/л	Мурашиге-Скуга, 3 мг/л	Гамборга В5, 3 мг/л	Мурашиге-Скуга, 5 мг/л	Гамборга В5, 5 мг/л
калусогенез	17,3	17,0	16,1	15,7	21,0	20,1	21,6	20,9	22,7	21,9	23,0	22,3	20,9	20,5
регенерация	7,1	6,8	4,3	5,6	8,2	7,9	7,2	7,0	8,0	7,9	8,9	8,4	7,7	6,9

## 7. КОЛХИЦИРОВАНИЕ ГАПЛОИДОВ

Полученные *in vitro* из пыльцевых зерен представляются гаплоидами в соматических клетках которых содержится половина хромосом, свойственных для исследуемого вида, при этом из двух гомологичных хромосом присутствует одна хромосома.

Гаплоиды при обычных способах выращивания абсолютно стерильны из-за значительных нарушений мейоза. Для восстановления фертильности необходимо проводить удвоение числа хромосом. Эффекта удвоения числа хромосом можно достичь, используя многие химические вещества: закись азота, аценафтен, линдан, колхицин и другие соединения.

Спонтанное удвоение хромосом обычно низкое. Поэтому иногда применяют антимиотические агенты. Число эмбрионов было ниже, но число зеленых проростков удвоилось, число гаплоидов на колос было выше. Однако уровень диплоидизации из года в год меняется, и часто получаются химеры. Успех также очень зависит от среды и условий культивирования и самой технологии обработки растений колхицином.

Поэтому в последние годы ученые все чаще используют спонтанную диплоидизацию из-за ее простоты и безопасности. Хотя процент получения дигаплоидов и ниже, зато, учитывая огромное количество задействованных микроспор, можно получать значительное количество полностью фертильных, взрослых, дигаплоидных растений.

Благодаря простоте использования и высокой эффективности мы использовали колхицин. Колхицин - это алкалоид растительного происхождения, выделенный из клубнелуковиц Безвременника осеннего (*Colchicum autumnale*), принадлежащего к семейству Liliaceae. Химическая формула  $C_{22}H_{25}O_6$ . эффект удвоения числа хромосом достигается благодаря действиям колхицина на делящиеся клетки, парализуя действие веретена и хромосомы предназначенные для двух клеток остаются в одной.

Существует несколько технических приемов введения колхицина в растение, начиная от замачивания семян в растворе колхицина и заканчивая добавлением колхицина в питательную среду при выращивании гаплоидов. Несмотря на высокоэффективное действие при удвоении числа хромосом колхицин имеет один существенный недостаток, а именно, он приводит к угнетению развития корневой системы, вследствие чего растения слабо приживаются. Для уменьшения таких отрицательных последствий мы использовали колхицинирование через корневую систему, которую перед колхицинированием промывали, условно делили пополам. Одну половину помещали в воду, вторую в раствор изучаемой концентрации колхицина. Такой подход предполагает – если под действием колхицина корневая система будет угнетаться, то вторая часть, будучи в воде, полностью сохранит свою жизнеспособность и обеспечивает приживаемость.

Для колхицинирования использовали растения гаплоидов выращенных *in vitro*. Растения в этом питомнике сильно различались между собой по развитию и росту. Отдельные растения засыхали, не достигнув фенологической фазы пять-шесть листьев. Около пятидесяти процентов растений по фенотипу не проявляли признаков угнетения.

Это позволяет предположить, что генотипы несущие гомозиготный ген определяют положительные качества растений.

Такие растения мы использовали для колхицинирования. Для выбора оптимальной концентрации для кукурузы мы использовали шесть вариантов концентрации колхицина, от 0,1% до 0,225% с интервалом 0,025. Экспозиция обработки для всех вариантов составляла 24 часа. Колхицинирование проводили в лабораторных условиях с повышенной влажностью воздуха (70-80% и оптимальной температурой -18-20<sup>0</sup>С). После колхицинирования растения пересаживали в тепличные условия, где на протяжении 20 дней поддерживались оптимальные условия.

При достижении молочно-восковой спелости определяли количество растений, в початках которых формировались семена, что служило критерием успешного колхицинирования. При 100% приживаемости растений после пере-

садки эффект колхицинирования в зависимости от концентрации раствора существенно различался (табл. 7).

Наилучший результат эффективности колхицинирования был получен при использовании концентрации колхицина 0,150-0,175%. Такая концентрация колхицина обеспечивала удвоение числа хромосом от 55,1 до 86,8% обработанных гаплоидных растений. При этом установлено, что разные генотипы гибридов кукурузы избирательно реагировали на концентрацию раствора колхицина. Так, гаплоиды, выращенные из пыльцевых зерен гибридов Докучаевский 190 СВ и Воронежский 160 СВ имели наибольшую эффективность колхицинирования при использовании концентрации раствора от 0,150 до 0,175% (71,4-83,7%). В то же время как у гаплоидов выращенных из пыльцевых зерен гибрида Машук 185 МВ удвоение числа хромосом происходило больше при обработке растений раствором колхицина 0,125-0,150% и составляло от 80,9 до 88,8%. Такая реакция разных генотипов исходных гибридов кукурузы может объясняться несколькими причинами:

1) влияние разного типа цитоплазматической мужской стерильности используемого при семеноводстве перечисленных гибридов, при переводе семеноводства на стерильную основу гибридов Докучаевский 190 СВ и Воронежский 160 СВ использовался бразильский тип ЦМС, а Машук 185 МВ – молдавский тип ЦМС;

2) различием генетики исходного материала для получения самоопыленных линий и др.

При использовании разной экспозиции действия колхицина существенных различий не было получено. Определяя эффективность колхицинирования мы использовали экспозицию 24 часа. Это связано с продолжительностью циклов митоза, а поскольку интенсивность деления клеток во многом определялась внешними условиями, которые в наших опытах контролируются, мы обоснованно рекомендуем обрабатывать растения колхицином в течение 24 часов.

В Национальном центре зерна им. П.П. Лукьяненко для удвоения числа хромосом у гаплоидных линий кукурузы обработку колхицином проводили пу-

тем введения раствора в стебель растения (Шацкая О.А., Паршина М.В., 2017). Преимущество данного метода заключается в том, что растение не выкапывают с почвы, а, следовательно, оно меньше травмируется и меньше тратится времени.

Таблица 7 - Результаты колхицинирования гаплоидов от разных гибридов через корневую систему

Концентрация раствора	Докучаевский 190 СВ			Машук 185 МВ			Воронежский 160 СВ		
	обработано растений (шт.)	число растений с зёрнами (шт.)	результативность колхицинирования (%)	обработано растений (шт.)	число растений с зёрнами (шт.)	результативность колхицинирования (%)	обработано растений (шт.)	число растений с зёрнами (шт.)	результативность колхицинирования (%)
0,100	32	17	53,1	33	25	75,7	41	24	58,5
0,125	29	16	55,1	27	24	88,8	34	21	61,7
0,150	42	30	71,4	21	17	80,9	29	22	75,8
0,175	37	31	83,7	30	20	66,6	38	28	73,6
0,200	21	18	85,7	36	18	50,0	33	18	54,5
0,225	34	13	38,2	32	15	46,8	37	17	45,9

По нашим данным введение раствора колхицина шприцем выше корневой шейки на пять сантиметров концентрацией не выше 0.125% не приводило к гибели растений и выживаемость растений составила 96,2%

При концентрации раствора 0,150% и при дальнейшем увеличении концентрации раствора выживаемость резко снижалась и при обработке растений концентрацией раствора 0,225% число выживаемых растений составила 0,3%.

Анализ корневой системы погибших растений показал, что у них вторичная корневая система была сильно угнетена. По нашему мнению это результат отрицательного действия колхицина.

Не зависимо от концентрации раствора колхицина и способа введения мы использовали гаплоидные растения не старше IV этапа органогенеза, когда еще не формируются генеративные клетки.

Таким образом, мы можем сделать следующие выводы.

1. Для удвоения числа хромосом гаплоидных растений кукурузы необходимо использовать введение колхицина в растения через половину корневой системы;

2. Экспозиция обработки растений должна быть не менее 24 часов;

3. При колхицинировании растений значительно различающихся по генотипу для увеличения эффективности подбирать оптимальную концентрацию раствора в пределах 0,125-0,175%.

## **8. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ**

В условиях испытательной лаборатории Центра коллективного пользования приборным и научным оборудованием Брянского ГАУ себестоимость одного растения, полученного *in vitro*, а затем *in vivo* составляет не более 100 руб.

По данным ведущего научного сотрудника отдела селекции и семеноводства кукурузы и проса ФГБНУ НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева, кандидата с.-х. наук Потапова Александра Петровича, который является автором 22 гибридов кукурузы зернового и универсального направления использования: РОСС 144 МВ, РОСС 211 МВ, РОСС 197 МВ, РОСС 195 МВ, РОСС 148 МВ, Российская 1, Докучаевский 250 МВ, Докучаевский 190 СВ и др., внесенных в Государственный реестр селекционных достижений допущенных к использованию, себестоимость выращивания самоопыленной линии в полевых условиях составляет не менее 200 руб.

Однозначно убедительно подтверждается более высокая экономическая эффективность получения гомозиготных линий с пыльцевых зерен на питательных средах с последующим колхицинированием.

Основную прибыль использования гомозиготных линий кукурузы выращенных *in vitro* при создании гетерозисных гибридов приносит ускорение создания новых гибридов и внедрение их в производство. расчетную экономическую эффективность мы определяли, используя результаты Государственной комиссии Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений. По всем регионам допуска гибрид Докучаевский 190 СВ достоверно превышает контроль (табл. 8).

По данным учреждения оригинатора ФГБНУ НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева в 2019 г. было реализовано 195 т семян гибрида Докучаевский 190 СВ, что обеспечивает посевные площади в пределах 10000 га. Если взять минимальную величину превышения урожайности над контролем в 4 ц/га и цену реализации товарного зерна кукурузы – 12 руб./кг, то прибыль от возделывания нового гибрида составляет 48000 тыс. руб.

Таблица 8 - Результаты государственного сортоиспытания гибрида Докучаевский 190 СВ

Регион испытания	Урожайность (ц/га) *	К уровню стандарта	
		%	ц/га
Центральный (3)	108,1	17,6	19,0
Волго-Вятский (4)	48,8	18,2	8,8
Центрально-Черноземный (5)	70,3	18,4	12,9

- по данным НО СРО НАПСКИП <https://napksk.ru/products/corn/126>

Таким образом, внедрение в производство новых гибридов с опережением в один год окупается с высокой рентабельностью.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из важнейших технологических приемов решения проблемы ускоренной селекции высокопродуктивных гибридов кукурузы с целью получения полностью гомозиготных растений, является использование культуры клеток *in vitro*. Наиболее результативным является метод использования андрогенеза. При этом важным моментом является создание условий для успешного перехода с гаметофитного пути развития на спорофитный. Установлено, что наиболее успешное решение этой задачи возможно с использованием различной питательной среды Мурасиге-Скуга стандартной концентрации, которая обеспечивает калусогенез от 14,3 до 17,3% и регенерацию от 4,8 до 7,1%. Установлено, что добавление азотнокислого серебра в дозе 3 мг/л позволяет увеличить калусогенез в зависимости от генотипа от 3,3 до 7,2 %, а также различие реакции отличающихся генотипов на условиях прохождения андрогенеза. Также воздействуя физическими и химическими средствами, такими как низкие и высокие температуры и азотнокислое серебро, доказана отличительная реакция разных генотипов на условия прохождения андрогенеза. Совершенствование методики и технологии выращивания гаплоидов из пыльников кукурузы позволит сделать процесс создания исходного материала результативным и предсказуемым.

Эффективность селекционного процесса кукурузы во многом зависит от количества и разнообразия исходного материала. Основным исходным материалом при создании гетерозисных гибридов кукурузы являются самоопыленные линии, которые получают путем принудительного самоопыления в течение 5-7 лет.

Выращивание гаплоидных линий из пыльцевых зерен позволит сократить этот процесс до двух лет, однако, полученные гаплоиды, полностью стерильны. Практическое их использование возможно только после удвоения числа хромосом, что восстанавливает их фертильность. На основании экспериментальных данных установлены наиболее эффективные способы удвоения числа хромосом гаплоидных растений кукурузы, а именно введение колхицина в растение через половину корневой системы, концентрация раствора колхицина должна составлять 0,125-0,175% и продолжительность действия колхицина должна быть не менее 24 часов. Экспериментальные данные показывают, что использование

данной методики позволяет достичь результативности колхицинирования от 66,6 до 88,8%. Селекционное исследование таких линий позволяет сократить сроки создания гибридов кукурузы на 5 лет и повысить эффективность селекционного процесса.

Использование изложенных методов позволило получить более трехсот абсолютно гомозиготных линий, часть из которых продолжают изучать в Брянском ГАУ, остальные переданы для размещения и практического использования при создании гетерозисных гибридов кукурузы в другие селекционные центры.

Широкое внедрение установленных закономерностей на одном гибриде Докучаевский 190 СВ за один год обеспечит получение дополнительной прибыли в размере 48 млн. руб.

## ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Гаплоид** - организм (клетка, ядро) с одинарным (гаплоидным) набором хромосом

**Колхицин** - алкалоид трополонового ряда, основной представитель семейства колхициновых алкалоидов (гомоморфинанов). Колхицин выделяется из растений родов *Colchicum*, *Merendera* и *Gloriosa* семейства Мелантиевые (*Melanthiaceae*).

**Ксенийность** - отличие отдельных семян или плодов от других семян или плодов того же растения окраской, формой, величиной или иными признаками

**Питательная среда** - однокомпонентный или многокомпонентный субстрат, применяемый для культивирования микроорганизмов или культур клеток высших организмов

**Пыльцевое зерно** – мужской гаметофит, состоящий из вегетативной и генеративной клеток и двух оболочек (интины и экзины). У многих видов растений в пыльцевом зерне генеративная клетка делится, образуя два спермия.

**Самоопылённая линия, инбредная линия, инцухт-линия** - потомство одного перекрёстноопыляющегося растения, полученное в результате многократного принудительного самоопыления.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апанасова Н.В., Беляченко Ю.А., Юдакова О.И. Особенности проявления наследуемого партеногенеза у линии кукурузы // Инновационные агротехнологии в растениеводстве засушливых регионов России: материалы междунар. заочной науч.-практ. конф. Саратов, 2019. С. 97-104.
2. Бобков С.В. Эмбриогенез в культуре изолированных пыльников проса // Зернобобовые и крупяные культуры. 2013. № 1 (15). С. 3-7.
3. Большакова Е.В. Влияние энергосберегающих технологий обработки почвы, удобрений и гербицидов на засоренность посевов и урожайность полевых культур // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2009. № 3. С. 26-37.
4. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1 Сорты растений. М.:ФГБНУ «Росинформагротех», 2018. 508 с.
5. Гужов Ю.Л., Фукс А., Валичек П. Селекция и семеноводство культивируемых растений. И.: Мир, 2003. 536 с.
6. Гуторова О.В., Юдакова О.И., Зайцев С.А. Оценка материнских форм кукурузы на способность к индуцированному партеногенезу и маркированию при опылении гаплоиндуктором ЗМС-П // Инновационные агротехнологии в растениеводстве засушливых регионов России: материалы междунар. заочной науч.-практ. конф. Саратов. 2019. С. 104-110.
7. Жерукова А.Б. Рынок зерна кукурузы южного федерального округа России // АПК: экономика, управление. 2006. № 6. С. 32-33.
8. Илюшко М.В., Скапцов М.В., Ромашова М.В. Содержание ядерной ДНК у регерентов риса (*Oryza sativa* L.), полученные в культуре пыльников *in vitro* // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53, № 3. С. 531-538.
9. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. М.: Высш. шк., 1973. 288 с.
10. Новые сорта и гибриды кукурузы и сорговых культур / Г.М. Полетаев, В.Ф. Воловик, В.М. Гончаров и др. // Кукуруза и сорго. 2008. № 3. С. 8.
11. Использование метода культуры пыльников для создания исходного

материала сельскохозяйственных культур / Е.Г., Савенко, С.О. Королева, Ж.М. Мухина, В.А. Глазырина // Рисоводство. 2016. № 1-2 (30-31). С. 76-79.

12. Каллусогенез и регенерация гибридов риса при различных концентрациях абсцизовой кислоты (А.Б.К.) / Е.Г. Савенко, В.А. Глазырина, Э.Н. Кострюкова, Л.А. Шундырина // Рисоводство. 2017. № 2. С. 46-51.

13. Сотченко В.С., Теркина О.В. Изучение и использование исходного материала в создании белозерных гибридов кукурузы // Кукуруза и сорго. 2009. № 2. С. 9-12.

14. Стулин А.Ф. Продуктивность гибридов кукурузы в зависимости от густоты растений и уровня минерального питания // Кукуруза и сорго. 2009. № 1. С. 4.

15. Супрунов А.И., Лавренчук Н.Ф., Горяинова Л.Ю. Селекция гибридов лопающейся кукурузы // Кукуруза и сорго. 2009. № 6. С. 12-14.

16. Кукуруза и сорго в интенсивном земледелии Центрального региона России / В.Е. Ториков, С.А. Бельченко, А.В. Дронов, В.В. Дьяченко и др. Брянск: Изд-во Брянский ГАУ, 2018. 208 с.

17. Упадышев М.Т. Клональное микроразмножение плодово-ягодных культур // Молодые ученые садоводу России: тезисы докл. совещания. М., 1995. С. 165-167.

18. Уразалиев К.Р. Гаплоидные технологии в селекции растений // Биотехнология. Теория и практика. 2015. № 3. С.33-43.

19. Гаплоидия у покрытосеменных растений / С.С. Хохлов, Е.В. Гришина, М.И. Зайцева и др. Саратов: Изд-во Саратовский ун-т, 1970. 137 с.

20. Чалык С.Т. Методы гаплоидии в генетике и селекции кукурузы // Акад. наук Респ. Молдова. Ин-т генетики. Кишинев, 2003. 179 с.

21. Шамина Н.В., Шацкая О.А. Два оригинальных механизма генетической реструкции у гаплоидов кукурузы (*Zea mays* L.) // Генетика. 2011. Т. 47, № 4. С. 499-507.

22. Шацкая О.А., Паршина М.В. Получение линий кукурузы методом гаплоидии: оценка всхожести гаплоидных семян и выживаемости обработанных

колхицином растений // Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Краснодар, 2017. С. 1311-1312.

23. Сельскохозяйственная биология / В.С. Шевелуха, С.В. Калашникова С.В. Дегтярев, Е.З. Кашева. М.: Высш. шк., 1998. 216 с.

24. Сельскохозяйственная биология / В.С. Шевелуха, С.В. Калашникова, С.В. Дегтярев, Е.З. Кашева. М.: Высш. шк., 1998. 216 с.

25. Шумилина Д.В., Шмыкова Н.А. Методы получения гаплоидных и ди-гаплоидных растений перца в культуре пыльников и микроспор // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 5. С. 56-62.

26. Янковская М.Б., Муратова С.А. Влияние салициловой кислоты на размножение и ускорение ягодных культур *in vitro* // Агроэкологические аспекты устойчивого развития АПК: материалы VIII междунар. науч. конф. Брянск: Брянская ГСХА, 2011. С. 337-339.

27. Efficient application of *in vitro* anther culture for different European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programmes / C. Lantos, J. Weyen, J.M. Orsini, H. Gnad // Plant Breeding. 2013. Vol. 132. P. 149-154.

28. Improvement of anther cultures conditions using the Taguchi method in three cereal crops / R. Orłowska, K.A. Pachota, J. Machczyńska, A. Niedziela // Electronic Journal of Biotechnology. 2020. Vol. 43. P. 8-15.

29. The auxins centrophenoxine and 2,4-D differ in their effects on non-directly induced chromosome doubling in anther culture of wheat (*T. aestivum* L.) / M. Rubtsova, H. Gnad, M. Melzer, J. Weyen // Plant Biotechnol Rep. 2012. Vol. 7. P. 247-255.

30. Seguí-Simarro J.M., Nuez F. How microspores transform into haploid embryos: changes associated with embryogenesis induction and microspore-derived embryogenesis // *Physiol Plantarum*. 2008. Vol. 134, № 1. P. 1-12.

31. In haploid production in higher plants / A. Touraev, B.P. Forster, S.M. Jain, B.V. Media // SpringerScience + Business. 2009. 347 p.

Учебное издание

Шпилев Николай Серафимович, Ториков Владимир Ефимович,  
Белоус Николай Максимович, Мельникова Ольга Владимировна,  
Лебедько Людмила Васильевна, Осипов Алексей Андреевич

Методические рекомендации  
по ускоренной селекции  
высокопродуктивных гибридов  
кукурузы

Редактор Осипова Е.Н.

---

Подписано к печати 02.10.2020 г. Формат 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

Бумага офсетная. Усл. п. л. 3,13. Тираж 550 экз. Изд. № 6706.

---

Издательство Брянского государственного аграрного университета  
243365 Брянская обл., Выгоничский район, с. Кокино, Брянский ГАУ