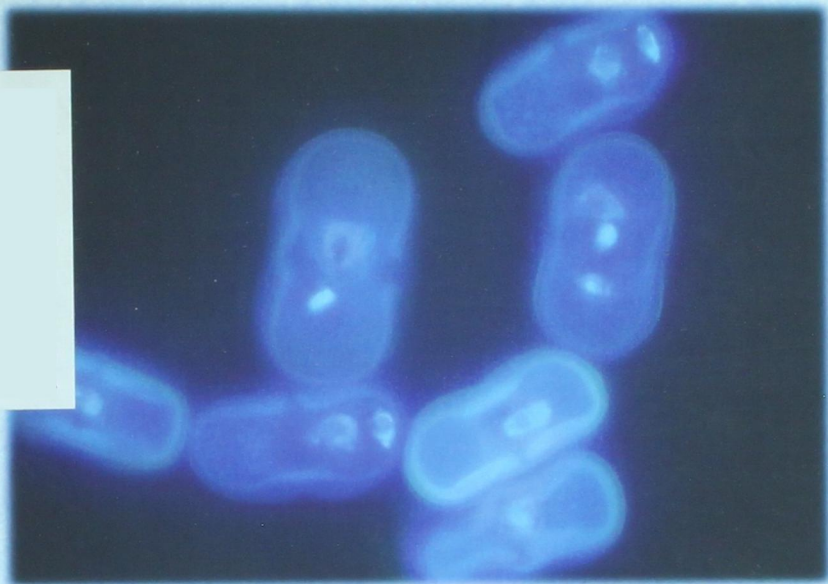


С.Г. Монахос, А.В. Чистова

**СОЗДАНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ  
МОРКОВИ СТОЛОВОЙ (*D. CAROTA* L.)  
В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ  
МИКРОСПОР**



Москва 2017



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ – МСХА ИМЕНИ К.А. ТИМЯЗЕВА

---

С.Г. Монахос, А.В. Чистова

СОЗДАНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ МОРКОВИ  
СТОЛОВОЙ (*D. CAROTA* L.) В КУЛЬТУРЕ  
ИЗОЛИРОВАННЫХ МИКРОСПОР

Учебно-методическое пособие



Москва  
Грифон  
2017

УДК 573.6:631.527.5

ББК 41.3.42.343

М 77

**Монахос С.Г., Чистова А.В.**

**М 77** Создание удвоенных гаплоидов моркови столовой (*D. carota* L.) в культуре изолированных микроспор: уч.-метод. пособие. М.: Грифон, 2017. – 32 с.

ISBN 978-5-98862-384-7

Производство удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор – прогрессивная биотехнология ускоренного создания чистых линий в селекции F1-гибридов сельскохозяйственных растений. Она позволяет сократить срок создания чистых линий до 1 года для однолетних и до 2 лет для двулетних культур, тогда как традиционный инбридинг занимает 6 и 12 лет соответственно. Преимуществом данной технологии по сравнению с другими технологиями *in vitro* - культурой пыльников и культурой неоплодотворенных семязачек, является исключение трудоемкой операции по извлечению пыльников или семязачек из бутонов, а также исключение вероятности формирования эмбриоидов и растений-регенерантов из соматических клеток. В данном пособии представлено описание технологии производства удвоенных гаплоидов моркови (*D. carota* L.) в культуре изолированных микроспор.

Учебно-методическое пособие разработано по заказу Министерства сельского хозяйства РФ. Предназначены для научных сотрудников научно-исследовательских институтов и коммерческих селекционных учреждений, для студентов, аспирантов и преподавателей сельскохозяйственных вузов.

Рассмотрено на заседании методической комиссии и утверждено ученым советом факультета садоводства и ландшафтной архитектуры 20 ноября 2017 г., протокол № 3.

© Монахос С.Г., Чистова А.В., 2017

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ВВЕДЕНИЕ.....                                                                                                         | 3  |
| ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ <i>D. CAROTA</i> L. 3                                                     |    |
| Культура пыльников .....                                                                                              | 4  |
| Культура изолированных микроспор .....                                                                                | 4  |
| Факторы, влияющие на эффективность эмбриогенеза .....                                                                 | 6  |
| Генотип и условия выращивания донорного растения .....                                                                | 7  |
| Стадия развития микроспор .....                                                                                       | 7  |
| Влияние предобработки на эмбриогенез микроспор .....                                                                  | 8  |
| Питательная среда.....                                                                                                | 9  |
| Условия культивирования <i>in vitro</i> .....                                                                         | 10 |
| Особенности формирования и динамика роста эмбрионов .....                                                             | 10 |
| Регенерация и акклиматизация.....                                                                                     | 11 |
| Плоидность регенерантов и методы ее определения.....                                                                  | 12 |
| ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ МОРКОВИ<br>( <i>D. CAROTA</i> L.) В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИКРОСПОР..... | 13 |
| Методы.....                                                                                                           | 13 |
| Подготовка донорного растения .....                                                                                   | 13 |
| Оценка состава и жизнеспособности микроспор.....                                                                      | 14 |
| Изолирование микроспор и приготовление суспензии.....                                                                 | 15 |
| Наблюдение во время культивирования .....                                                                             | 16 |
| Проращивание эмбрионов, удвоение числа хромосом и укоренение в почве .....                                            | 17 |
| Определение плоидности растений-регенерантов подсчетом числа хромосом .....                                           | 17 |
| Определение плоидности растений-регенерантов подсчетом числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц.....            | 18 |
| Оценка гомозиготности растений-регенерантов.....                                                                      | 19 |
| Материалы .....                                                                                                       | 19 |
| Необходимое оборудование .....                                                                                        | 19 |
| Инструменты для выделения микроспор.....                                                                              | 19 |
| Питательные среды .....                                                                                               | 20 |
| Химические реактивы .....                                                                                             | 22 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....                                                                                                      | 23 |
| БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК .....                                                                                        | 24 |
| Список сокращений.....                                                                                                | 27 |
| Приложения.....                                                                                                       | 28 |