

Научная статья

УДК 635.33:631.524.7

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-4-012



Полиморфизм линий удвоенных гаплоидов репы листовой *Brassica rapa* L., полученных в культуре изолированных микроспор *in vitro*

А. Б. Курина¹, А. А. Асланова¹, Е. В. Козарь², Е. А. Домблидес²¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия² Федеральный научный центр овощеводства, Московская область, Россия**Автор, ответственный за переписку:** Курина Анастасия Борисовна a.kurina@vir.nw.ru

Актуальность. Создание высокопродуктивных и питательных сортов листовой репы *Brassica rapa* L. традиционными методами селекции является длительным процессом. Применение биотехнологических методов, в частности получение удвоенных гаплоидных (ДН) линий *in vitro*, позволяет значительно ускорить создание гомозиготных форм и раскрыть генетический потенциал гибридов. Целью исследования была оценка ДН-линий листовой репы, полученных из гибрида F₁ Torazirok, по комплексу хозяйственно ценных морфологических и биохимических признаков. **Материалы и методы.** Объектом исследования послужили гибрид листовой репы F₁ Torazirok (к-330, Япония) и полученные из него в культуре изолированных микроспор *in vitro* 15 ДН-линий. Растения выращивали в контролируемых условиях климатической камеры. Проведено морфологическое описание растений и биохимический анализ содержания фотосинтетических пигментов: хлорофиллов *a*, *b*, каротиноидов, β-каротина спектрофотометрическим методом. **Результаты и обсуждение.** Выявлен значительный полиморфизм в пределах ДН-линий и гибрида F₁. Продолжительность вегетационного периода варьировала от 41 до 52 дней. Диаметр розетки был в пределах 20,5 и 40,3 см, масса надземной части растения – 0,15 и 0,33 кг. Содержание β-каротина колебалось от 2,6 до 6,3 мг/100 г сырого вещества. Выделены линии, достоверно превосходящие исходный гибрид по ключевым признакам: ДН 8 – по продуктивности (масса 0,33 кг) и содержанию β-каротина (6,3 мг/100 г); ДН 4 – по диаметру розетки (40,3 см) и массе (0,31 кг); ДН 2 и ДН 5 – по содержанию β-каротина (5,6 и 5,2 мг/100 г соответственно). Линия ДН 2 сочетает скороспелость (41 день), высокую продуктивность и максимальное содержание каротиноидов. **Заключение.** Метод культуры изолированных микроспор эффективен для быстрого создания генетически разнообразного и гомозиготного селекционного материала листовой репы. Полученный спектр ДН-линий является ценным источником для селекции. Выделены перспективные линии-доноры: ДН 2 и ДН 8 – для скороспелости и повышенного содержания β-каротина; ДН 4 и ДН 8 – для высокой продуктивности. Наши результаты являются подтверждением того, что применение гаплоидных технологий позволяет не только фиксировать хозяйственно ценные признаки, но и усиливать их, предоставляя готовый материал для генетических исследований и создания новых сортов.

Ключевые слова: гаплоидные технологии, репа листовая, изменчивость, пигментный состав, морфологические признаки**Благодарности:** работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № FGEM-2025-0007 «Клеточные технологии для расширения селекционного потенциала культур овощного направления использования»**Для цитирования:** Курина А.Б., Асланова А.А., Козарь Е.В., Домблидес Е.А. Полиморфизм линий удвоенных гаплоидов репы листовой *Brassica rapa* L., полученных в культуре изолированных микроспор *in vitro*. *Биотехнология и селекция растений*. 2025;8(4):118-126. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-4-012

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Курина А.Б., Асланова А.А., Козарь Е.В., Домблидес Е.А., 2025

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2025-4-012

Polymorphism of leaf turnip *Brassica rapa* L. doubled haploid lines produced in isolated microspore *in vitro* culture

Anastasia B. Kurina¹, Anastasia A. Aslanova¹, Elena V. Kozar², Elena A. Domblides²¹ N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia² Federal Scientific Vegetable Center, Moscow Region, Russia**Corresponding author:** Anastasia B. Kurina, a.kurina@vir.nw.ru

Background. The development of high-yielding and nutritious cultivars of leaf turnip *Brassica rapa* L. using traditional breeding methods is a lengthy process. The application of biotechnological methods, particularly the production of doubled haploid (DH) lines *in vitro*, significantly accelerates the creation of homozygous forms and unlocks the genetic potential of hybrids. The aim of the research was to evaluate DH-lines of leaf turnip, produced from the F₁ Torazirok hybrid, for a set of economically important morphological and biochemical traits. **Materials and methods.** The object of the study was the leaf turnip F₁ Torazirok hybrid (k-330, Japan) and 15 DH lines derived from it through *in vitro* isolated microspore culture. Plants were grown under controlled conditions in a climate chamber. The plants were described morphologically, and biochemical analysis of the content of photosynthetic pigments chlorophylls *a*, *b*, carotenoids, and β -carotene was performed by spectrophotometry. **Results and discussion.** Significant polymorphism has been revealed between the DH lines and the F₁ hybrid. The duration of the vegetative period varied from 41 to 52 days. Rosette diameter ranged from 20.5 to 40.3 cm, and the above-ground plant mass from 0.15 to 0.33 kg. β -carotene content fluctuated from 2.6 to 6.3 mg/100 g of fresh weight. The lines that were found to significantly surpass the original hybrid in key traits were DH 8 – in productivity with the mass of 0.33 kg and β -carotene content (6.3 mg/100 g); DH 4 – in rosette diameter (40.3 cm) and the mass of 0.31 kg; DH 2 and DH 5 – in β -carotene content (5.6 and 5.2 mg/100 g, respectively). The DH 2 line combines early maturity (41 days), high productivity, and maximum carotenoid content. **Conclusions.** The isolated microspore culture method is effective for the rapid creation of genetically diverse and homozygous leaf turnip breeding material. The obtained range of DH-lines is a valuable source for breeding. Promising donor lines have been identified: DH 2 and DH 8 – for early maturity and increased β -carotene content; DH 4 and DH 8 – for high productivity. The results confirm that the haploid technology allows not only for the fixation but also for the enhancement of economically important traits, providing ready-made material for genetic research and the creation of new cultivars.

Keywords: haploid technologies, leaf turnip, variability, pigment composition, morphological traits

Acknowledgements: The research was performed within the framework of the State Assignment according to the Theme Plan of VIR, Project No. FGEM-2025-0007 “Cell technologies for expanding the breeding potential of vegetable crops”

For citation: Kurina A.B., Aslanova A.A., Kozar E.V., Domblides E.A. Polymorphism of leaf turnip *Brassica rapa* L. doubled haploid lines produced in isolated microspore *in vitro* culture. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2025;8(4):118-126. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-4-012

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Kurina A.B., Aslanova A.A., Kozar E.V., Domblides E.A., 2025

Введение

В настоящее время перед селекционерами стоит задача по ускоренному созданию высокопродуктивных, адаптивных и высокопитательных сортов и гибридов сельскохозяйственных растений. Традиционные методы селекции, основанные на многолетнем отборе и инбридинге для получения гомозиготных линий, делают процесс получения новых сортов трудоемким и длительным, что не отвечает современным требованиям (Aleksandrova, Monakhos, 2024; Kozar, Domblides, 2024).

В селекции и генетических исследованиях капустных культур для ускоренного создания чистых линий, удвоенных гаплоидов или ДН-линий, в настоящее время активно применяются биотехнологические методы (Pivovarov et al., 2015; Shumilina et al., 2021; Nikitin, 2024). В отличие от классических методов селекции, с помощью гаплоидных технологий можно получать полностью гомозиготные растения за один-два года, что позволяет значительно ускорить селекционный процесс (Bochkaryova et al., 2019). ДН-технологии позволяют не только ускоренно получать гомозиготные линии, но и эффективно использовать генетический потенциал гибридных комбинаций за счет рекомбинаций генов на гаплоидном уровне, что позволяет получать широкий спектр генотипов, включая уникальные комбинации аллелей, которые могут быть стабильно фиксированы в гомозиготном состоянии в одном поколении для последующего использования в селекционных программах (Kozar et al., 2019; Aleksandrova, Monakhos, 2024; Kozar et al., 2025).

Листовая репа *Brassica rapa* L. широко возделываемая в Юго-Восточной Азии и представленная сортогруппами, такими как комацуна, куруна, хирошимана, является перспективной культурой для расширения ассортимента функционального питания в других регионах мира, включая Россию (Artemyeva, 2017; Kubo et al., 2019). Она характеризуется скороспелостью (вегетационный период 35-70 дней), высокой урожайностью зеленой массы, холодостойкостью и богатым биохимическим составом. Листья являются ценным источником не только витаминов, таких как С, К, группы В, но и каротиноидов, в частности β-каротина – мощного антиоксиданта и предшественника витамина А, дефицит которого остается серьезной проблемой питания в мире (Zhang et al., 2014; Stepanov et al., 2015). Однако генетический потенциал листовой репы для селекции на повышенное содержание биоактивных веществ изучен недостаточно, а существующий сортимент часто ограничен (Kornuyukhin, Artemyeva, 2022).

Основные направления селекции этой культуры включают скороспелость, продуктивность, устойчивость к листогрызущим вредителям, а также качество листьев, которое заключается в отсутствии опушения, нежной консистенции, хорошем вкусе, ценном биохимическом составе (Kornuyukhin, Artemyeva, 2022). Таким образом, использование гаплоидных технологий для листовой

репы открывает возможности для быстрого создания генетически разнообразного материала. Изучение полиморфизма полученных ДН-линий по хозяйственно ценным и биохимическим признакам является ключевым этапом для отбора источников и доноров ценных свойств и создания новых сортов и гибридов.

Целью наших исследований была оценка ДН-линий репы листовой по комплексу хозяйственно ценных признаков, полученных в культуре изолированных микроспор *in vitro*.

Материалы и методы

Объектом исследования были гибрид репы листовой F₁ Torazirok (к-330, Япония) и полученные из него в культуре изолированных микроспор *in vitro* 15 ДН-линий, которые являлись результатом спонтанного удвоения числа хромосом в ходе образования растений регенерантов из гаплоидных микроспор. Гибрид F₁ Torazirok был выбран в качестве донора ДН в связи с легкостью получения на его основе удвоенных гаплоидов, а также благодаря его ценным биохимическим свойствам и устойчивости к раннему стрелкованию (Artemyeva, 2004).

Семена гибрида высевали в количестве шести штук и выращивали в горшках объемом 3 л с субстратом, состоящим из смеси торфа и перлита (7:3), в климатической камере при 16/8-часовом фотопериоде и интенсивности света 9000 люкс и постоянной температуре 20°C.

Линии удвоенных гаплоидов были получены согласно протоколу Домблидес и соавторов (Domblides et al., 2016) на безгормональных средах и без применения антимитотических веществ. Способ изоляции микроспор был модифицирован. Клетки с ядрами определенной плоидности отбирали с помощью проточной цитометрии согласно опубликованному протоколу (Fomicheva et al., 2025).

ДН-растения размножали методом микроклонального размножения в условиях *in vitro* на безгормональных средах MS (Murashige, Skoog, 1962) согласно протоколу, разработанному в лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений (Domblides et al., 2016; Kozar et al., 2022), до шести микроклонов, полученных от каждого эмбриоида. Растения с нормально развитыми листьями и корневой системой в условиях *in vitro* адаптировали к условиям *ex vitro* путем пересадки в вегетационные ёмкости, заполненные смесью торфа и перлита (7:3), растения накрывали перфорированными пластиковыми стаканчиками, после адаптации растений стаканчики убирала. Регенеранты выращивали в тех же климатических условиях, что и гибридные растения. Перед адаптацией к условиям *ex vitro* у всех микроклонов определяли плоидность ядер клеток с помощью проточной цитометрии (Fomicheva et al., 2025).

Морфологическое описание растений проводили по опубликованной схеме (Boos et al., 1988). Биохимический анализ содержания пигментов в растениях в фазе техни-

ческой спелости проводили по методике отдела биохимии и молекулярной биологии ВИР (Ermakov et al., 1987). Хлорофиллы и каротиноиды были выделены с использованием 100% ацетона, и их абсорбция была измерена на спектрофотометре LKB ULTROSPEC II Biochrom (Pharmacia, UK) при различных длинах волн (нм): 662, 645 для хлорофиллов *a* и *b*, 470 – для каротиноидов, 454 – для каротинов, 454 – для β-каротина (Ermakov et al., 1987). Суммарное содержание каротинов определяли методом бумажной хроматографии. Данные приведены в пересчете на сырое вещество. Все исследования проводили в 6-ти кратной повторности для гибрида и для ДН-линий.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного обеспечения STATISTICA v. 12 (StatSoft Inc., США). Средние значения данных сравнивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Для определения того, являются ли различия между средними значениями сравниваемых параметров для образцов достоверными при 5% уровне значимости, использовали статистический показатель: наименьшая существенная разница – НСР₀₅.

Результаты и обсуждение

Оценка 15 ДН-линий из гибрида F₁ Torazirok (κ-330, Япония) выявила их полиморфизм как по морфологическим, так и по биохимическим признакам.

Морфологическая изменчивость. В ходе оценки гибрида и ДН-линий репы листовой (*Brassica rapa* L.) была выявлена выраженная внутри линейная однородность и межлинейная изменчивость по ключевым морфологическим и хозяйственно ценным признакам (табл. 1).

Продолжительность вегетационного периода у изученных линий варьировала от 41 до 52 дней, что укладывается в пределы скороспелости, характерной для листовых форм (Korniyukhin, Artemyeva, 2022). Наибольшей скороспелостью отличались линии ДН 2 и ДН 8 (41 день). Низкий коэффициент вариации (CV=6,7%) указывает на относительную стабильность этого признака в условиях проведенного опыта.

Таблица 1. Изменчивость морфологических и хозяйственно ценных признаков ДН-линий репы листовой

Table 1. Variability of morphological and economically important traits in DH lines of leaf turnip

Образец/ Accession	Период вегетации, дни/ Vegetative period, days	Высота розетки, см/ Rosette height, cm	Диаметр розетки, см/ Rosette diameter, cm	Длина пластинки, см/ Leaf length, cm	Ширина пластинки, см/ Leaf width, cm	Масса растения, кг/ Plant weight, kg
Torazirok F ₁	47	15,4±2,1	25,6±1,3	18,7±3,1	7,3±1,7	0,23±0,03
ДН 1	50	13,5±1,3	20,5±2,5	22,5±0,7	9,3±0,7	0,15±0,01
ДН 2	41	17,1±2,7	29,4±1,6	24,8±2,3	12,2±1,5	0,25±0,02
ДН 3	45	20,4±1,3	24,5±2,1	20,1±1,1	10,4±1,9	0,23±0,02
ДН 4	45	21,2±2,2	40,3±3,6	26,2±1,7	9,7±1,1	0,31±0,01
ДН 5	48	14,8±1,7	28,3±2,4	20,6±0,9	8,2±0,6	0,17±0,01
ДН 6	48	11,6±0,3	34,8±1,8	21,5±1,5	7,5±1,0	0,15±0,01
ДН 7	49	18,1±1,4	37,7±0,6	26,2±1,8	12,9±1,7	0,19±0,02
ДН 8	41	13,6±0,9	40,2±3,2	20,7±0,5	16,3±2,1	0,33±0,04
ДН 9	52	17,3±2,1	35,5±1,4	24,5±1,3	10,2±0,6	0,23±0,03
ДН 10	47	16,8±3,5	27,4±1,7	20,2±0,7	10,5±1,1	0,21±0,01
ДН 11	50	15,3±2,5	35,2±0,8	17,4±0,8	10,6±1,3	0,19±0,01
ДН 12	46	12,7±1,2	28,5±3,4	23,8±1,3	6,9±0,9	0,21±0,02
ДН 13	46	14,8±2,2	30,2±2,7	21,6±1,6	7,2±1,5	0,16±0,02
ДН 14	49	10,2±0,6	21,9±2,1	19,2±0,9	11,3±1,1	0,23±0,03
ДН 15	49	16,3±1,4	25,5±1,5	14,1±1,2	10,2±1,7	0,17±0,01
Среднее по линиям	47,1±3,2	15,6±3,1	30,7±6,3	21,6±3,3	10,2±2,4	0,21±0,05
CV, %	6,7	19,6	20,7	15,3	23,7	25,5
НСР ₀₅	2,8	2,5	5,8	2,3	1,4	0,04

Примечание: в таблице представлены средние значения ± стандартное отклонение (n=6). CV – коэффициент вариации (%); НСР₀₅ – наименьшая существенная разница при p=0,05

Note: The table presents mean±standard deviation (n=6) values. CV – coefficient of variation (%); LSD_{0,5} – least significant difference at p=0.05

Морфометрические параметры розетки продемонстрировали значительно большую изменчивость. Высота розетки варьировала от 10,2 см (DH 14) до 21,2 см (DH 4) ($CV=19,6\%$). Диаметр розетки показал еще более широкий диапазон – от 20,5 см (DH 1) до 40,3 см (DH 4) ($CV=20,7\%$). Особенно примечательны линии DH 4, DH 7 и DH 8, у которых диаметр розетки превышал 40 см, что может коррелировать с общей биомассой и листовой поверхностью – важными характеристиками для листовых овощных культур. С другой стороны, компактные формы, такие как DH 1 (20,5 см) и DH 14 (21,9 см), могут представлять интерес для возделывания в условиях ограниченного пространства или механизированной уборки. Размеры листовой пластинки также существенно различались. Длина листа колебалась от 14,1 см (DH 15) до 26,2 см (DH 4 и DH 7) ($CV=15,3\%$). Ширина листа показала наибольшую относительную изменчивость среди всех морфологических признаков – от 6,9 см (DH 12) до 16,3 см (DH 8) ($CV=23,7\%$). Масса надземной части растения, используемая как интегральный показатель продуктивности, варьировала от 0,15 кг (DH 1 и DH 6) до 0,33 кг (DH 8). Наибольший коэффициент вариации из оцениваемых признаков ($CV=25,5\%$) показывает высокую чувствительность этого признака к генетическим различиям

между линиями. Линии DH 4 (0,31 кг) и DH 8 (0,33 кг) продемонстрировали наивысшую продуктивность.

Сравнение исходного гибрида Torazirok F_1 со средними значениями DH-линий показало, что по большинству признаков он занимает промежуточное положение. Так, отдельные DH-линии превосходят гибрид по таким параметрам, как диаметр розетки (DH 4, DH 8), масса растения (DH 4, DH 8) и ширина листа (DH 8).

Таким образом, полученный набор DH-линий представляет собой ценный генетический материал с широким диапазоном фенотипической изменчивости, пригодный как для фундаментальных исследований, так и для практических целей – создания новых сортов репы листовой с заданными агрономическими характеристиками.

DH-линии репы листовой также имели различия по качественным морфологическим признакам, таким как форма, окраска и опушение листовой пластинки, наличие или отсутствие черешка, форма розетки, что отражает генотипическое разнообразие популяции микроспор гибрида Torazirok F_1 (рисунок).

Биохимическая изменчивость. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях DH-линий также характеризовалось высокой степенью полиморфизма (табл. 2).



Рисунок. Изменчивость листовой пластинки гибрида и DH-линий репы листовой

Figure. Leaf variability in hybrid leaf turnip and DH lines

Большинство линий имели сумму хлорофиллов на уровне или ниже гибрида (135,0 мг/100 г). Особый интерес для селекции представляет содержание каротиноидов, и в частности β -каротина. Общее содержание каротиноидов варьировало от 15,9 (DH 15) до 38,6 мг/100 г (DH 13). β -каротин накапливался в количестве от 2,6 мг/100 г (DH 15) до 6,3 мг/100 г (DH 8). При этом несколько линий (DH 2, DH 5, DH 7, DH 8) достоверно превосходили исходный гибрид F_1 (4,1 мг/100 г) по содержанию β -каротина. Наибольшее суммарное содержание каротина (11,8 мг/100 г) отмечено у линии DH 2. Коэффициент вариации для биохимических признаков был ещё более выраженным, достигая 37,9% для хлорофилла *b*.

Проведенное исследование показывает эффективность метода культуры изолированных микроспор для быстрого создания генетически разнообразного и гомозиготного материала репы листовой. Значительный полиморфизм, выявленный среди 15 полученных DH-линий по всем изученным признакам, является прямым следствием процессов рекомбинации при образовании микроспор у гетерозиготного гибрида F_1 Torazirok. Это подтверждает, что DH-технологии являются эффективным методом, позволяющим расщепить и закрепить сложные генетические комплексы всего за одно поколение.

Таблица 2. Изменчивость пигментного состава ДН-линий репы листовой, мг/100 г

Table 2. Variability of pigment composition in DH lines of leaf turnip, mg/100 g

Образец/ Accession	Хлоро- филл a/ Chloro- phyll a	Хлоро-филл b/ Chloro- phyll b	Суммарный Chlorophyll/ Total Chlorophyll	Каротиноиды/ Carotenoids	Каротин/ Carotene	β-каротин/ β-carotene
Torazirok F ₁	98,2±7,3	36,7±2,7	135,0±15,2	36,1±2,8	5,0±2,1	4,1±1,1
DH 1	84,9±5,4	31,1±8,9	116,0±14,3	18,2±4,9	7,6±3,3	5,0±0,6
DH 2	102,9±12,3	61,7±0,9	164,6±13,1	30,2±1,5	11,8±0,9	6,1±1,5
DH 3	88,3±15,1	26,5±3,7	114,8±18,8	19,7±5,5	5,8±0,2	4,9±0,8
DH 4	88,9±0,4	30,4±5,0	119,3±4,6	21,1±1,4	6,6±1,0	5,0±0,3
DH 5	92,8±1,6	41,1±2,3	133,9±3,9	22,9±0,2	9,7±1,8	5,6±0,2
DH 6	95,5±2,8	28,4±1,8	123,9±4,6	23,7±1,9	8,0±0,9	5,1±0,1
DH 7	91,1±2,0	37,1±8,1	128,2±10,2	21,3±3,9	8,2±0,2	5,4±0,4
DH 8	102,4±17,1	52,1±0,7	154,4±17,8	26,8±3,5	8,9±0,3	6,3±0,8
DH 9	84,8±13,5	39,6±14,8	124,4±1,4	22,6±1,9	6,6±0,2	5,1±0,2
DH 10	68,9±12,2	52,9±0,1	121,9±12,3	26,2±0,4	9,4±0,1	4,7±0,7
DH 11	80,5±1,3	26,6±2,1	107,1±2,3	34,5±0,5	6,8±0,3	4,8±0,8
DH 12	78,9±0,4	26,7±0,8	105,6±2,0	33,7±1,0	5,7±0,7	4,7±0,5
DH 13	89,9±1,6	28,6±0,5	118,5±1,3	38,6±0,7	7,4±0,2	5,4±0,6
DH 14	86,1±0,9	26,9±1,1	113,0±1,8	37,9±0,2	6,4±0,5	5,4±0,3
DH 15	37,7±1,5	9,9±0,3	47,6±0,3	15,9±1,0	3,7±0,3	2,6±0,5
Среднее для всех линий	84,9±15,7	34,6±13,1	119,5±25,6	26,2±7,2	7,5±2,0	5,1±0,8
CV, %	18,5	37,9	21,4	27,4	26,1	16,4
НСР ₀₅	10,4	9,7	16,3	3,1	1,6	0,6

Примечание: В таблице представлены средние значения ± стандартное отклонение (n=6). CV – коэффициент вариации (%); НСР₀₅ – наименьшая существенная разность при p=0,05

Note: The table presents mean ± standard deviation (n=6) values. CV – coefficient of variation (%); LSD_{0,5} – least significant difference at p=0.05

Выделение линий с широким разнообразием признаков открывает возможности для направленной селекции. Например, линии DH 2 и DH 8, у которых период вегетации составляет 41 день, представляют интерес как источники скороспелости. Линии DH 4 и DH 8, сочетающие крупный диаметр розетки и высокую вегетативную массу растения (0,31 и 0,33 кг соответственно), могут быть использованы для повышения урожайности. Полученные данные позволяют вести отбор не только на количественные показатели, но и на качество розетки (компактность, форма), что важно для механизированной уборки и товарного вида.

Наиболее значимым результатом является выявление линий, превосходящих исходный гибрид по содержанию β-каротина – важного антиоксиданта и провитамина А. Линии DH 2, DH 8 и DH 5 показали содержание β-каротина на уровне 5,6–6,3 мг/100 г, что на 36–54% выше, чем у гибрида Torazirok F₁. Это доказывает, что применение ДН-технологий позволяет не только зафиксировать ценные биохимические признаки, но и создаёт предпосылки для их целенаправленного усиления в ходе поиска их удачных комбинаций. Особого внимания заслуживает линия DH 2, которая сочетает скороспелость (41 день), высокую массу растения, максимальное среди линий содержание хлорофиллов и одно из самых высоких

содержаний β-каротина и каротина. Это делает ее комплексным источником хозяйственно ценных признаков.

Низкое содержание фотосинтетических пигментов у линии DH 15 может быть обусловлено комплексом генетических факторов, отвечающих как за биосинтез пигментов, так и за их деградацию (Li et al., 2015; Zhou et al., 2022; Shi et al., 2023). Исследования на капустных культурах, относящихся к семейству Brassicaceae Burnett, показывают, что накопление каротиноидов жёстко контролируется ключевыми ферментами их метаболизма. Например, в цветках и корнях репы *B. rapa* изменение цвета связано со специфической экспрессией генов, таких как *CCD8* и *NCED* в цветках, или *ZEP* в корнях и стеблях, которые регулируют деградацию каротиноидов (Liu et al., 2024). Мутации в генах биосинтеза, таких как *PSY* (продукт гена – фитоенсинтаза, phytoene synthase) или *CRTISO* (кодирует каротиноид-изомеразу), могут приводить к снижению уровня их предшественников, как это описано для мутанта *Brassica rapa* «YB1» с изменённой окраской (Liu et al., 2024). У капустных культур оранжевая пигментация внутренних листьев контролируется геном *BrCRTISO*, а инсерции/делеции в его промоторной области ассоциированы с изменением содержания пигментов (Shi et al., 2023). Параллельно, нарушения пути деградации хлорофилла могут приводить к его преж-

дверемному распаду. Ключевую роль в этом процессе играют ферменты пути феофорбида *а* оксигеназы (PaO) и белки семейства STAY-GREEN (SGR), которые инициируют разрушение хлорофилл-белковых комплексов (Smolikova et al., 2017). На уровень пигментов могут влиять мутации в регуляторных генах, например, в генах транскрипционных факторов семейства R2R3-MYB, которые контролируют не только антоциановый (Fateev et al., 2023), но, как показывают данные, полученные при изучении других семейств, потенциально и каротиноидный путь. Фенотип линии DH 15 может быть следствием как гомозиготизации рецессивных аллелей структурных генов (*PSY*, *CRTISO*, *LCYE*, *SGR*), так и нарушения работы регуляторных элементов или повышенной активности генов деградации (*CCD4*, *NCED*). Изучение линии репы листовой DH 15 представляет значительную перспективу для генетических исследований.

Заключение

Таким образом, в результате применения технологии удвоенных гаплоидов из одного гибридного генотипа получен широкий спектр стабильных линий, каждая из которых представляет уникальную комбинацию признаков. Выделены перспективные линии-доноры по скороспелости (DH 2, DH 8), продуктивности (DH 4, DH 8) и повышенному содержанию β-каротина (DH 2, DH 8). Полученный материал является готовым селекционным ресурсом для создания новых сортов и гибридов листовой репы, а также ценным инструментом для молекулярно-генетического анализа наследования количественных признаков. Высокие коэффициенты вариации подтверждают, что метод культуры микроспор эффективно раскрывает потенциал генетического разнообразия и способен повысить эффективность селекционных программ.

References/Литература

Aleksandrova A.A., Monakhos S.G. Production of doubled haploids of vegetable crops: history and modernity. *Yestestvennye nauki = Natural Sciences*. 2024;3(16):40-48. [in Russian] (Александрова А.А., Моныхос С.Г. Производство удвоенных гаплоидов овощных культур: история и современность. *Естественные науки*. 2024;3(16):40-48). DOI: 10.54398/2500-2805.2024.16.3.004

Artemyeva A.M. New incoming accessions of *Brassica rapa* L. into the VIR plant collection. *Vegetable crops of Russia*. 2017;(2):14-19. [in Russian] (Артемьева А.М. Новые поступления капустных культур вида *Brassica rapa* L. в коллекцию ВИР. *Овощи России*. 2017;(2):14-19). DOI: 10.18619/2072-9146-2017-2-14-19

Artemyeva A.M. (comp.). Catalogue of the VIR World Collection. Issue 740. Donors and sources for breeding *Brassica rapa* L. leafy vegetable crops: (Chinese cabbage, Pak choi, Mizuna, leaf turnip) (Donory i istochniki dlya selektsii listovyykh ovoshchnyykh kul'tur vida *Brassica rapa* L.: (Pekinskaya, kitayskaya i yaponskaya kapusty, listovaya repa)). St. Petersburg: VIR; 2004. [in Russian] (Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 740. Доноры и источники для селекции листовых овощных культур вида *Brassica rapa* L.: (Пекинская, китайская и японская капусты, листовая репа) / сост. А.М. Артемьева. Санкт-Петербург: ВИР; 2004).

Bochkaryova E.B., Gorlova L.A., Serdyuk V.V., Strelnikov E.A.

Breeding value of dihaploid lines of spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Oilseed Crops*. 2019;(4):18-22. [in Russian] (Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. Селекционная ценность дигаплоидных линий рапса ярового (*Brassica napus* L.). *Масличные культуры*. 2019;(4):18-22). DOI: 10.25230/2412-608X-2019-4-180-18-22

Domblides E.A., Shmykova N.A., Shumilina D.V., Zayachkovskaya T.V., Mineikina A.I., Kozar E.V., Akhramenko V.A., Shevchenko L.L., Kan L.Yu., Bondareva L.L., Domblides A.S. Technology for obtaining doubled haploids in the culture of microspores for the cabbage family: (guidelines) (Tekhnologiya polucheniya udvoennykh gapoloidov v kul'ture mikrospor semeystva kapustnyie: (metodicheskie rekomendatsii)). Moscow: VNISSOK; 2016. [in Russian] (Домблидес Е.А., Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Заячковская Т.В., Минейкина А.И., Козарь Е.В., Ахраменко В.А., Шевченко Л.Л., Кан Л.Ю., Бондарева Л.Л., Домблидес А.С. Технология получения удвоенных гаплоидов в культуре микроспор семейства капустные: (методические рекомендации). Москва: ВНИИССОК; 2016).

Boos G.V., Dzhokhadze T.I., Artemyeva A.M., Krivchenko V.I., Simon A.M., Timoshenko Z.V., Petrovskaya N.N., Vlasova E.A., Sinelnikova V.N., Barashkova E.A., Ivakin A.P., Ermakov A.I., Voskresenskaya V.V. Study and maintenance of the world's cabbage collection: guidelines (Izucheniye i podderzhanie mirovoy kolleksii kapusty: metodicheskiye ukazaniya / sost.: G.V. Boos, T.I. Dzhokhadze, A.M. Artemyeva, V.I. Krivchenko, A.M. Simon, Z.V. Timoshenko, N.N. Petrovskaya, E.A. Vlasova, V.N. Sinelnikova, E.A. Barashkova, A.P. Ivakin, A.I. Ermakov, V.V. Voskresenskaya. Leningrad: VIR; 1988. [in Russian] (Изучение и поддержание мировой коллекции капусты: методические указания / сост.: Г.В. Боос, Т.И. Джохадзе, А.М. Артемьева, В.И. Кривченко, А.М. Симон, З.В. Тимошенко, Н.Н. Петровская, Э.А. Власова, В.Н. Синельникова, Э.А. Барашкова, А.П. Ивакин, А.И. Ермаков, В.В. Воскресенская. Ленинград: ВИР; 1988).

Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P., Peruanskiy Yu.A., Lukovnikova G.A., Ikonnikova M.I. Methods of biochemical research (Metody biokhimiicheskikh issledovaniy). Leningrad: Agropromizdat; 1987. [in Russian] (Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.А., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. Методы биохимических исследований. Ленинград: Агропромиздат; 1987).

Fateev D.A., Berensen F.A., Artemyeva A.M., Babak O.G., Yatevich K.K., Drozd E.V., Kilchevsky A.V. Study of *Myb114* gene polymorphism in the cole crops (*Brassica oleracea* L.) in connection with anthocyanin biosynthesis regulation based on comparison with MYB factors of vegetable nightshades (Solanaceae). *Russian Journal of Genetics*. 2023;59(1):30-39. DOI: 10.1134/S1022795423010040

Fomicheva M., Kozar E., Domblides E. Carrot (*Daucus carota* L.) Haploid embryo genome doubling with colchicine and trifluralin. *Horticulturae*. 2025;11(5):505. DOI: 10.3390/horticulturae11050505

Korniyukhin D.L., Artemyeva A.M. Breeding value of leafy and root turnip samples from the VIR collection. *Vegetable Crops of Russia*. 2022;(1):12-18. [in Russian] (Корнюхин Д.Л., Артемьева А.М. Селекционная ценность образцов листовой и корнеплодной репы из мировой коллекции ВИР. *Овощи России*. 2022;(1):12-18). DOI: 10.18619/2072-9146-2022-1-12-18

Kozar E.V., Korotseva K.S., Romanova O.V., Chichvarina O.A., Kan L. Yu., Akhramenko V.A., Domblides E.A. Production of doubled haploids in *Brassica purpuraria*. *Vegetable crops of Russia*. 2019;(6):10-18. [in Russian] (Козарь Е.В., Коротцева К.С., Романова О.В., Чичварина О.А., Кан Л.Ю., Ахраменко В.А., Домблидес Е.А. Получение удвоенных гаплоидов *Brassica purpuraria*. *Овощи России*. 2019;(6):10-18). DOI: 10.18619/2072-9146-2019-6-10-18

Kozar E.V., Kozar E.G., Domblides E.A. Effect of the method of microspore isolation on the efficiency of isolated microspore culture *in vitro* for Brassicaceae family. *Horticulturae*. 2022;8(10):864. DOI: 10.3390/horticulturae8100864

Kozar E.V., Domblides E.A. Protocol for obtaining doubled haploids in isolated microspore culture *in vitro* for poorly responsive genotypes of brassicaceae family. *Biology Methods and Protocols*. 2024;9(1):bpae091. DOI: 10.1093/biomethods/bpae091

Kozar E., Chepovoy I., Fomicheva M., Domblides E. Selection of

- rapeseed for resistance to imidazolinone group of herbicides on solid media under *in vitro* conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2025;163(2):81. DOI: 10.1007/s11240-025-03284-z
- Kubo N., Ueoka H., Satoh S. Genetic relationships of heirloom turnip (*Brassica rapa*) cultivars in Shiga Prefecture and other regions of Japan. *The Horticulture Journal*. 2019;88(4):471-480. DOI: 10.2503/hortj.UTD-071
- Li P., Zhang S., Zhang S., Li F., Zhang H., Cheng F., Wu J., Wang X., Sun R. Carotenoid biosynthetic genes in *Brassica rapa*: comparative genomic analysis, phylogenetic analysis, and expression profiling. *BMC Genomics*. 2015;16(1):492. DOI: 10.1186/s12864-015-1655-5
- Liu G., Luo L., Yao L., Wang C., Sun X., Du C. Examining carotenoid metabolism regulation and its role in flower color variation in *Brassica rapa* L. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(20):11164. DOI: 10.3390/ijms252011164
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Nikitin M.A. Use of doubled haploid technology in modern selection of cabbage crops. *Yestestvennye nauki = Natural Sciences*. 2024;4(17):32-37. [in Russian] (Никитин М.А. Использование технологии удвоенных гаплоидов в современной селекции капустных культур. *Естественные науки*. 2024;4(17):32-37). DOI: 10.54398/2500-2805.2024.17.4.005
- Pivovarov V.F., Shmykova N.A., Bondareva L.L., Zablotskaya Ye.A. Polymorphism of doubled haploid lines of broccoli cabbage obtained in microspore *in vitro* culture (Polimorfizm udvoennykh gaploidnykh liniy kapusty brokkoli, poluchennykh v kulture mikrospor *in vitro*). *Vestnik of the Russian agricultural science*. 2015;(5):33-35. [in Russian] (Пивоваров В.Ф., Шмыкова Н.А., Бондарева Л.Л., Заблоцкая Е.А. Полиморфизм удвоенных гаплоидных линий капусты брокколи, полученных в культуре микроспор *in vitro*. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2015;(5):33-35).
- Shi L., Chang L., Yu Y., Zhang D., Zhao X., Wang W., Li P., Xin X., Zhang F., Yu S., Su T., Dong Y., Shi F. Recent advancements and biotechnological implications of carotenoid metabolism of *Brassica*. *Plants (Basel)*. 2023;12(5):1117. DOI: 10.3390/plants12051117
- Shumilina D.V., Kozar E.V., Chichvarina O.A., Korotseva K.S., Domblides E.A. *Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* isolated microspore culture protocol. In: J.M. Segui-Simarro (ed.). *Doubled Haploid Technology. Vol. 2. Methods in Molecular Biology (MIMB, Vol. 2288)*. New York, NY: Humana Press; 2021. p.145-162. DOI: 10.1007/978-1-0716-1335-1_9
- Smolikova G., Dolgikh E., Vikhnina M., Frolov A., Medvedev S. Genetic and Hormonal Regulation of Chlorophyll Degradation during Maturation of Seeds with Green Embryos. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(9):1993. DOI: 10.3390/ijms18091993
- Stepanov V.A., Sirota S.M., Antipova O.V. Leafy turnip is a new crop for salad production lines. *Vegetable crops of Russia*. 2015;(3-4):74-77. [in Russian] (Степанов В.А., Сирота С.М., Антипова О.В. Новая культура для салатных линий – репа листовая. *Овощи России*. 2015;(3-4):74-77). DOI: 10.18619/2072-9146-2015-3-4-74-77
- Zhang N., Zhao J., Lens F., de Visser J., Menamo T., Fang W., Xiao D., Bucher J., Basnet R.K., Lin K., Cheng F., Wang X., Bonnema G. Morphology, carbohydrate composition and vernalization response in a genetically diverse collection of Asian and European turnips (*Brassica rapa* subsp. *rapa*). *PloS one*. 2014;9(12):e114241. DOI: 10.1371/journal.pone.0114241
- Zhou F., Liu Y., Feng X., Zhang Y., Zhu P. Transcriptome analysis of green and white leaf ornamental kale reveals coloration-related genes and pathways. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:769121. DOI: 10.3389/fpls.2022.769121

Информация об авторах

- Анастасия Борисовна Курина**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, и.о. заведующего, лаборатория селекции и клеточных технологий, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, nastya_nll@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3197-4751>
- Анастасия Андреевна Асланова**, младший научный сотрудник, лаборатория селекции и клеточных технологий, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, a.aslanova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0006-3429-0060>
- Елена Викторовна Козарь**, кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатория репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, Федеральный научный центр овощеводства (ФНЦО), 143072 Россия, Московская область, Одинцовский район, ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14, koz.leno4ek@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5447-5341>
- Елена Алексеевна Домблидес**, кандидат с.-х. наук, зав. лабораторией, лаборатория репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, Федеральный научный центр овощеводства (ФНЦО), 143072, Россия, Московская область, Одинцовский район, ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14, edomblides@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2695-190X>

Information about the authors

- Anastasia B. Kurina**, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Acting Head, Laboratory of Breeding and Cell Technologies, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, nastya_nll@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3197-4751>
- Anastasiya A. Aslanova**, Junior Researcher, Laboratory of Breeding and Cell Technologies, N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, a.aslanova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0006-3429-0060>
- Elena V. Kozar**, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, Federal Scientific Vegetable Center (FSVC), 14, Selektionnaya Street, VNISSOK, Odintsovo District, Moscow Region, 143072 Russia, koz.leno4ek@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5447-5341>
- Elena A. Domblides**, Cand. Sci. (Agriculture), Head, Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, Federal Scientific Vegetable Center (FSVC), 14, Selektionnaya Street, VNISSOK, Odintsovo District, Moscow Region, 143072 Russia, edomblides@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2695-190X>

Вклад авторов: Курина А.Б.: концептуализация, написание рукописи и ее редактирование, визуализация, руководство исследованием. Асланова А.А.: проведение исследования, анализ данных. Козарь Е.В.: методология, проведение исследования, верификация данных, формальный анализ, редактирование рукописи. Домблидес Е.А.: методология, администрирование данных, редактирование рукописи, руководство исследованием.

Contribution of the authors: Kurina A.B.: conceptualization, manuscript writing and editing, visualization, supervision. Aslanova A.A.: investigation, data analysis. Kozar E.V.: methodology, investigation, data verification, formal analysis, manuscript editing. Domblides E.A.: methodology, data administration, manuscript editing, supervision.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 29.11.2025; одобрена после рецензирования 19.12.2025; принята к публикации 23.12.2025.

The article was submitted on 29.11.2025; approved after reviewing on 19.12.2025; accepted for publication on 23.12.2025.