

## Применение микроклонального размножения в селекции пшеницы твёрдой *Triticum durum* Desf. для ускорения селекционного процесса и сохранения уникального генотипа растений

И. В. Налетов<sup>1✉</sup>, исследователь сельскохозяйственных наук

Н. А. Дуктова<sup>1</sup>, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

В. С. Заяц<sup>2</sup>, биолог бюро биотехнологий

<sup>1</sup>УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»

213410, Республика Беларусь, Могилевская обл., г. Горки, ул. Мичурина, 5

<sup>2</sup>ЗАО «Струнные технологии»

220089 Минск, Республика Беларусь, Железнодорожная ул., 33

✉i.naletov@unitsky.com

**Резюме.** В предлагаемой методике селекции твёрдой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) в условиях северо-востока Беларуси сочетается индуцированный мутагенез с биотехнологическими методами сохранения и размножения уникальных генотипов. Место исследования: г. Горки, Могилевская область, Республика Беларусь. Цель исследования – разработать методику применения микроклонального размножения растений пшеницы твёрдой для ускорения селекционного процесса. В ходе исследования разработана оптимальная питательная среда (MSI 7) для каллусогенеза и метод гистологического прогнозирования образования эксплантов. Мутагенная обработка N-нитрозо-N-метилмочевинной (NEU) позволяет получить мутантные формы с ценными признаками, такими как масса 1000 семян, продуктивная кустистость и устойчивость к заболеваниям. Полевые испытания подтвердили стабильность индуцированных изменений и выявили перспективные мутанты: Розалия NEU 24 0,005% с рекордной массой 1000 семян (78,4 г) и Ириде NEU 6 0,005 % с увеличенной высотой растений (84,5 см). Установлено повышение устойчивости к пыльной головке и оффиоболезным корневым гнилям. Результаты, полученные в исследованиях мутагенеза, позволяют ускорить селекционный процесс для получения высокопродуктивных сортов твёрдой пшеницы, адаптированных к условиям Беларуси.

**Ключевые слова:** селекция пшеницы, пшеница твердая, микроклональное размножение, мутации.

**Для цитирования:** Налетов И. В., Дуктова Н. А., Заяц В. С. Применение микроклонального размножения в селекции пшеницы твёрдой *Triticum durum* Desf. для ускорения селекционного процесса и сохранения уникального генотипа растений // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2026. №1 (73). С. 41-48. doi:10.18286/1816-4501-2026-1-41-48

## Application of micropropagation in breeding durum wheat *Triticum durum* Desf. to accelerate the breeding process and preserve the unique genotype of plant

I. V. Naletov<sup>1✉</sup>, N. A. Duktova<sup>1</sup>, V. S. Zayats<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State Agricultural Academy

213410, Republic of Belarus, Mogilev Region, Gorki, Michurin Street,5

<sup>2</sup>Unitsky String Technologies Co., Ltd.,

220089, Republic of Belarus, Minsk, Zheleznodorozhnaya Street33

✉i.naletov@unitsky.com

**Abstract.** The proposed method for breeding durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in northeastern Belarus combines induced mutagenesis with biotechnological methods for preserving and propagating unique genotypes. The study was conducted in Gorki, Mogilev Region, Republic of Belarus. The objective of the study was to develop a method for using micropropagation of durum wheat plants to accelerate the breeding process. An optimal nutrient medium (MSI 7) for callusogenesis and a method for histologically predicting explant formation were developed. Mutagenic treatment with N-nitroso-N-methylurea (NEU) allows for the production of mutant forms with valuable traits, such as increased 1000-seed weight, productive tillering, and disease resistance. Field trials confirmed the stability of the induced mutations and identified promising mutants: Rosalia NEU 24 0.005 % with a record-breaking 1,000-seed weight (78.4 g) and Iride NEU 6 0.005 % with increased plant height (84.5 cm). Increased resistance to pollen head and ophiobolan root rot was also observed. The results obtained in mutagenesis studies make it possible to accelerate the breeding process to develop high-yielding durum wheat varieties adapted to Belarusian conditions.

**Keywords:** wheat breeding, durum wheat, micropropagation, mutations.

**For citation:** Naletov I. V., Duktova N. A., Zayats V. S. Application of micropropagation in breeding durum wheat *Triticum durum* Desf. to accelerate the breeding process and preserve the unique genotype of plant // Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy. 2026;1(73): 41-48 doi:10.18286/1816-4501-2026-1-41-48

### Введение

При ведении селекционного процесса пшеницы твёрдой (*Triticum durum* Desf.) возникает вопрос о

потере исходных генетически ценных образцов в коллекционном питомнике, гибридах разного поколения.

При оценке фенотипа растений в коллекционном питомнике часто возникает проблема о генетической однородности генотипа (чистые линии). Например, при закладке коллекционного питомника у селекционера может оказаться условно чистый сорт: он может быть выровнен по признакам высоты растений, количества зерен в главном колосе или цвету колосовых чешуй. В то же время по биохимии эндосперма или физиологии онтогенеза каждое растение будет значительно отличаться. Такие незначительные фенотипические отличия могут косвенно сказаться на фенотипе будущего сорта или гибрида первого поколения. А для установления единого фенотипа/генотипа у растений в коллекционном питомнике придется провести немало отборов или исследований по генетическим маркерам или фенотипам в поколениях, что в итоге приводит к затяжным работам при создании сорта.

Применение биотехнологических подходов ведет к упрощенному селекционному процессу. Культивирование в условиях *in vitro* растений и их последующее деление приводит к получению большого количества саженцев растений с дублетным составом генотипа каждого. Иными словами, микроклональное черенкование растений позволяет заложить целую экспериментальную деланку растений с полностью одинаковым фенотипом на протяжении всех лет исследования [1].

Так как *T. durum* относится к семейству злаковых и является однодольным растением, то встречаются ряд особенностей в образовании каллусных тканей или органогенеза. Для активного каллусогенеза у данных растений используют различные части как вегетативные, так и генеративные, и эмбриональные [2, 3]. Однако значительный интерес представляет каллус, полученный из зародышей в различных стадиях спелости колоса. Это обусловлено тем, что зародыши, как правило, имеют большое количество образовательных тканей, происходит активное деление клеток, и фитогормоны схожие по природе с зеатином оказывают ростостимулирующее действие [4] по сравнению с тканями у вегетирующих растений или уже с зрелых семян.

Процесс культивирования зародышей позволяет получить как каллус, так и регенерант (эмбриокультура) [5, 6]. Однако наиболее целесообразно особенно в селекции получать каллус из зародыша. Согласно исследованиям [7], каллусы злаковых растений лучше всего получать из незрелых зародышей в фазе молочной спелости, в таком случае возможно получение до 60 % каллусогенеза. Существуют сложности при получении регенерантов из каллуса злаковых по ряду причин, одна из которых является проблема биосинтеза белков в клетке запускающих терминаторы нужного белкового синтеза.

Гистологические исследования первичных каллусов позволяют получить представление о возможности органогенеза у каллусов, для этого были получены тонкие срезы толщиной 5...8 мкм, окрашивание клеток и тканей на выявление мерестематических зон [8]. Выявление данных зон позволило спрогнозировать получение эксплантов до 81 %. При этом учитывались темные зоны каллуса, затем производились расчёты путём

соотношения пропорции, где вся площадь каллуса была 100 %, а площадь темных окрашиваний X %. Данный процент было принято называть эмбригенными единицами (ЭЕ или EU). После подсчёта процентов каллусы переносили на эксплантогенез и получали рост побегов [9].

В каллусогенезе можно использовать и зрелые зародыши, однако, в таком случае наличие специфических гормонов в тканях растений нет, и активировать синтез растений на получение каллуса достаточно сложно проиндуцировать.

Цель исследования – разработка методики ведения селекции пшеницы твёрдой (*Triticum durum* Desf.) в условиях северо-востока Республики Беларусь с применением биотехнологического подхода по сохранению и размножению уникальных генотипов, полученных вследствие индуцированной мутации.

#### Материалы и методы

Для создания нового сорта использовали индуцированный мутагенез с целью получения уникальных генотипов собственных линий *T. Durum* [10, 11]. Так как эти мутации проявляются в единичных случаях на растениях, их следует сохранять в первичном виде, а также все последующие поколения в условиях *in vitro*.

За основу питательной среды была принята Murashige и Skoog (MS) [2] с небольшим изменением макроэлементов  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 2,5 мг/л;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1,8 мг/л;  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  – 0,5 мг/л, сахароза – 10 г/л, глюкоза – 10 г/л, агар-агар – 8 г/л (среда MSI) с добавлением гормонов через холодный фильтр: 2,4-Д, 6-бензиладенином (6БАП), нафталевой кислотой (НАА), гидролизатом казеина (Ка), индол-3-уксусной кислотой (ИУК), индол-3-масляной кислотой (ИМК), кинетин (К), гибберелловая кислота (ГК), а также без добавления стимулятора роста, pH 5,8.

Для подбора оптимально среды были отобраны 100 зерновок *T. durum* которые изначально были замочены в воде на 4 часа, затем перенесены в чашку Петри с предварительно смоченным бумажным матрасом. После появления coleoptиле пшеницы производилось удаление зародыша из зерновки с последующей стерилизацией в растворе перекиси водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Таблица 1. Варианты питательных сред для культивирования растений *T. durum.*, мл/л

Название среды	2,4-Д	6БАП	НАА	ИУК	ИМК	К	ГК	Ка
MSI 1	0,3			0,1	0,1			0,02
MSI 2		0,3			0,2			0,1
MSI 3			0,3	0,1				0,1
MSI 4	0,1	0,1	0,1			0,2		0,1
MSI 5	0,1		0,1	0,1		0,1		0,1
MSI 6		0,2					0,2	0,01
MSI 7		0,1	0,2		0,2			0,1
MSI 8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,01

Расчет внесения фитогормонов проводили на основании ранее проведённых собственных экспериментов, где отмечалась особая чувствительность растений к гормонам и их дозировкам [13, 14, 15].

При оценке наилучших вариантов питательных сред рассматривали такие параметры, как выживаемость при вводе в условия *in vitro*, образование каллуса, активный рост. Все культуры инкубировались в культуральном боксе, поддерживаемом при температуре 20 °С ± 2 °С, 16 ч/8 ч цикле света/темноты, уровне освещённости 45 ммоль/м, при влажности воздуха 80 %.

Проводили гистологические исследования первичных каллусов. Для этого часть каллуса извлекли, изготовили слайсы из каллуса с последующим окрашиванием толуидиновым синим, в результате которого подсчитывается формирование примордиев в каллусах путём визуального определения затемнений тканей. По количеству примордиев на площадь каллуса в исследовании используется процентное выражение в эмбрионных единицах (EU). Полученные экспланты были высажены в субстрат из вермикулита с добавлением питательной среды Элиса, для адаптации в условиях *ex vitro*.

Культивация растений в открытом грунте проводили на территории учебного хозяйства УО «БГСХА» д. Тушково. По схеме контрольные растения (исходники) и мутантные линии, полученные из данного контроля в одном ряду по 1 м<sup>2</sup>.

Полученные результаты представлены в виде средних значений с расчётом стандартного отклонения.

#### Результаты

Одной из задач является подбор питательной среды, оптимальной для быстрого роста эксплантов в условиях *in vitro*, позволяющей в оптимальные сроки укоренить растения и возобновить рост. Для получения линии с полезным признаком у мутантных растений *T. durum* были использованы сформированные зародыши семян после обработки химическим мутагеном в различных концентрациях. В таблице 2 представлены результаты культивирования растений пшеницы на подобранных питательных средах.

**Таблица 2. Выявление наиболее оптимальной среды для получения эксплантов, регенерантов и каллуса у зародышей *T. durum*.**

Наименование среды	Выживаемость при вводе в условия <i>in vitro</i> , шт.	Образование каллуса, шт	Активный рост растения, шт
MSI 1	38	-	38
MSI 2	20	-	14
MSI 3	84	-	84
MSI 4	41	26	37
MSI 5	57	43	6
MSI 6	40	-	-
MSI 7	73	73	-
MSI 8	53	12	53

Из полученных данных наиболее лучшей питательной средой для получения каллуса является внесение ББАП 0,1 мл/л, NAA 0,2 мл/л и ИМК 0,2 мл/л (MSI 7). Помимо этого, добавление 2,4-Д 0,1 мл/л, NAA 0,1 мл/л, ИУК 0,1 мл/л и К 0,1 мл/л (MSI 5) также способствовало значительному каллусогенезу *T. durum*. В дальнейшем все мутантные растения после обработки N-нитрозо-N-метилмочевина (NEU) высевали в полевых условиях. Во время вегетации

каждое растение оценивали визуально. На стадии молочной спелости у значимых растений отбирали зародыши, стерилизовали и переносили на чистую питательную среду (MSI 7) для получения каллуса и последующей стимуляции образования тканей и органов, а также конечного образования эксплантов. В таблице 3 представлены результаты каллусогенеза у различных мутантов (M1) *T. durum*.

**Таблица 3. Получение каллуса у различных мутантов (M1) *T. durum* 1 поколения после обработки мутагеном**

Мутант	Процент образования каллуса	Органогенез в выделенном образце, EU/шт,	Выход эксплантов, шт.
Ириде NEU 12 0,01 %	78	82/8	185
Ириде NEU M 6 0,005 %	76	84/10	186
Розалия NEU 6 0,005 %	83	96/16	193
Розалия NEU M 24 0,005 %	91	91/19	197

Зародыши пшеницы прошли адаптацию и сформировали жизнеспособный каллус. После этого был применен метод прогнозирования получения эксплантов. Наибольшее количество обнаружено у мутантов Розалия NEU 6 0,005 % 96 ед., следующее по количеству Розалия NEU M 24 0,005 % 91 ед. Выход эксплантов по факту незначительно расходился с прогнозируемыми значениями. С одного каллуса Розалия NEU 6 0,005 % (общая площадь 2,3 см) и Розалия NEU M 24 0,005 % (общая площадь 2,7 см), 91,9 % и 89,6 % соответственно). Мутанты растений Ириде также сформировали прогнозируемое количество эксплантов. Каллус на начальных этапах имел меньшие размеры по сравнению с мутантными растениями Розалия. Полученные экспланты были высажены в субстрат из вермикулита с добавлением питательной среды Элиса для адаптации в условиях *ex vitro*. Условия выращивания: использовались те же фитостеллажи с микроклиматом, после адаптации растения высаживались в открытый грунт в деланки 1 м<sup>2</sup>. Также 50 растений выращивали в вегетативных установках для получения данных пластичности фенотипа растений. В таблице 4 представлены морфофизиологические свойства растений пшеницы в лабораторных условиях мутантов (M1).

Фенотипические признаки растений в деланках имели однородность, что формирует предположение о едином фенотипе без повторных мутаций каллусных тканей во время воздействия фитогормонов. Анализ морфофизиологических особенностей растений мутантов *T. durum* в лабораторных условиях, отображённых в таблице 4, позволяет проявиться генотипической специфической реакции. Реакция на мутагенную обработку сильно варьировала в зависимости от генотипа и примененной концентрации препарата:

#### 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки)

- у сорта Ириде вариант NEU 6 (0,005 %) вызвал максимальный ростовой эффект, увеличив высоту растений на 90 %, по сравнению с контролем.

- у сорта Розалия вариант NEU 24 0,005 % показал значительное увеличение высоты растений (на 14 %), но наиболее значимый эффект данного варианта проявился в увеличении массы 1000 семян на 85 % (51,9 г против 28,1 г в контроле), что является крайне важным селекционным признаком.

Обработки привели к появлению мутантных форм с комплексом хозяйственно-полезных свойств:

- повышение продуктивной кустистости (до 1,9 у Розалии NEU 24);

- увеличение числа зерен в колосе (до 19,9 у Розалии NEU 6 против 16,7 в контроле);

- увеличение массы зерна (вариант Розалия NEU 24), что напрямую указывает на потенциальное повышение урожайности;

Для всесторонней оценки хозяйственной ценности полученных мутантов и реализации их истинной продуктивности ключевое значение имеют дальнейшие исследования в полевых условиях. В таблице 5 представлены морфофизиологические свойства растений пшеницы мутантов M1.

**Таблицы 4. Морфофизиологические свойства растений пшеницы в лабораторных условиях мутантов (M1) *T. durum*. (средние показатели)**

Мутант	Высота растений, см.	Продуктивная кустистость, шт./растения	Средне количество зерен в колосе, шт.	Масса 1000 семян, г
Контроль (Ириде)	20,4±4,80	1,0±0,2	10,4±2,7	30,4±1,3
Ириде NEU 12 0,01 %	26,4±1,03	1,6±0,4	14,2±2,3	37,1±2,7
Ириде NEU 6 0,005 %	38,8±0,26	1,1±0,9	14,1±1,9	35,3±2,1
Контроль (Розалия)	37,1±6,94	1,1±0,4	16,7±1,3	28,1±1,8
Розалия NEU 6 0,005 %	21,2±0,17	1,3±0,7	19,9±2,5	36,5±2,6
Розалия NEU 24 0,005 %	42,4±0,11	1,9±0,1	18,4±2,7	51,9±1,8

Примечание: данные представлены в виде средних значений со стандартным отклонением ( $M \pm SD$ ).

Полевые испытания мутантных форм (M1) твердой пшеницы способствовали формированию ценных селекционных признаков, которые не могли быть в полной мере реализованы в условиях лабораторного опыта.

Наблюдалось комплексное улучшение элементов продуктивности. У варианта Розалия NEU 24 0,005 % зафиксирован рекордный показатель массы 1000 семян, составивший 78,4 г, что на 75 % превышает значения контроля. Параллельно у данной формы отмечено существенное увеличение количества зерен в колосе (до 29,34 шт.) и продуктивной кустистости (2,8). Аналогичная положительная динамика, хотя и менее

выраженная, наблюдалась у мутантов на основе сорта Ириде, где варианты NEU 12 и NEU 6 также достоверно превосходили контроль по всем изучаемым параметрам.

**Таблицы 5. Морфофизиологические свойства растений пшеницы в полевых условиях мутантов (M1) *T. durum***

Мутант	Высота растений, см.	Продуктивная кустистость, шт./растения	Количество зерен в колосе, шт.	Масса 1000 семян, г
Контроль (Ириде)	42,1±2,4	1,2±0,1	18,21±1,6	38,5±1,6
Ириде NEU 12 0,01 %	75,6±2,9	1,7±0,4	23,88±1,1	42,6±0,6
Ириде NEU 6 0,005 %	84,5±1,4	1,7±0,6	23,75±1,7	45,5±0,1
Контроль (Розалия)	98,3±3,7	2,3±0,1	20,11±1,6	44,7±1,9
Розалия NEU 6 0,005 %	59,1±1,01	2,4±0,1	28,94±2,4	56,0±2,0
Розалия NEU 24 0,005 %	105,7±1,3	2,8±0,7	29,34±1,5	78,4±1,3

Примечание: данные представлены в виде средних значений со стандартным отклонением ( $M \pm SD$ ).

В таблице 6 представлены результаты проявления устойчивости к грибковым и бактериальным заболеваниям у мутантов M1. В полевых условиях особое значение имеет существенное снижение поражений для листовых заболеваний. По бурой ржавчине у сорта Ириде лучший вариант (NEU 12 0,01 %) показал снижение поражения на 30,5%, по фузариозу – на 18,6 %, по мучнистой росе – на 6,9 %. У сорта Розалия максимальный эффект достигнут в варианте NEU 24 0,005 %: снижение поражения бурой ржавчиной на 2,9 %, фузариозом на 6,0%, мучнистой росой на 12,6 %. Особого внимания заслуживает снижение поражения септориозом на 4,4 % у данного сорта.

**Таблицы 6. Устойчивость грибковым и бактериальным заболеваниям у мутантов (M1) *T. durum*, %**

Мутант	Головная пыльная ( <i>Ustilago tritici</i> )*	Бурая ржавчина ( <i>Puccinia recondita</i> )	Фузариоз грибы рода ( <i>Fusarium spp.</i> )	Септориоз гриб рода ( <i>Septoria Spp.</i> )	Мучнистая роса ( <i>Blumeria graminis</i> )	Офиоболезные корневые гнили грибы рода ( <i>Ophiobolus Spp.</i> )*
Контроль (Ириде)	1%	40,6%	24,3%	15,3%	16,1%	5%
Ириде NEU 12 0,01 %	0%	10,1%	5,7%	11,2%	9,2%	0%
Ириде NEU 6 0,005 %	0%	14,2%	20,4%	7,3%	11,8%	0%
Контроль (Розалия)	4%	20,7%	15,6%	16,1%	24,1%	2%
Розалия NEU 6 0,005 %	1%	24,3%	11,7%	13,8%	14,9%	4%
Розалия NEU 24 0,005 %	0%	17,8%	9,6%	11,7%	11,5%	0%

Примечание: \* – процент растений, зараженных из 100 шт.

Наиболее выраженный положительный эффект отмечен в отношении таких опасных заболеваний, как пыльная головня и офиоболезные корневые гнили.

#### Обсуждение

Проведённые исследования позволили разработать эффективную методику микроклонального размножения *Triticum durum* Desf., интегрированную в схему индуцированного мутагенеза. Ключевым этапом являлся подбор питательной среды, так как реакция эксплантов злаков на гормональный состав существенно варьирует [12]. В экспериментах наилучшей средой для каллусогенеза оказалась MSI 7 (6-БАП, НАА, ИМК). Высокая эффективность данной комбинации объясняется синергическим действием ауксинов (НАА, ИМК) и цитокинина (6-БАП), что, согласно литературным данным, стимулирует дедифференцировку клеток незрелых зародышей и индукцию эмбриогенного каллуса [13]. Интересно, что среда MSI 3, не содержащая ауксинов в высокой концентрации, но включающая кинетин и гибберелловую кислоту, оказалась оптимальной для последующей регенерации (органогенеза), что подтверждает необходимость смены гормонального баланса при переходе от каллусогенеза к органогенезу [7].

Применение метода гистологического прогнозирования с окрашиванием толудиновым синим позволило с высокой точностью (до 92 %) предсказать выход эксплантов. Такой подход, основанный на идентификации меристематических очагов (эмбриогенных единиц), ранее был успешно апробирован на рисе [8]. Результаты на *T. durum* подтверждают универсальность этого метода для злаковых культур. Выявленная корреляция между площадью меристематических зон и регенерационным потенциалом каллуса позволяет проводить раннюю отбраковку регенерационноспособных линий, что значительно экономит ресурсы и время.

Обработка мутагеном NEU привела к появлению широкого спектра морфофизиологических изменений, что согласуется с данными о мутагенных свойствах нитрозосоединений [14, 15]. Сравнение лабораторных и полевых данных демонстрирует ключевую роль условий выращивания в реализации фенотипа. Так, у мутанта Розалия NEU 24 0,005 % масса 1000 семян в лаборатории составила 51,9 г, тогда как в поле достигла 78,4 г. Это превышает не только контрольный сорт, но и средние показатели многих районированных сортов яровой твёрдой пшеницы [16], что подчёркивает огромный селекционный потенциал данной линии. Столь значительная прибавка может быть связана с мутационным изменением генов, контролирующих накопление крахмала и запасных белков в эндосперме [10].

Помимо этого выявляется разнонаправленность действия мутагена в зависимости от генотипа. У сорта Ириде максимальный ростовой эффект (высота растений 84,5 см в поле) достигнут при концентрации NEU 0,005 % (вариант 6) в то время, как у сорта

«Розалия» та же концентрация (вариант 6) привела к снижению высоты растений на 40 % относительно контроля, но стимулировала увеличение озерненности колоса. Это свидетельствует о генотипической специфичности реакции на химический мутагенез, что необходимо учитывать при планировании селекционных программ [11].

Одним из наиболее ценных практических результатов является повышение устойчивости мутантов к грибным патогенам. Полное отсутствие поражения пыльной головней (*Ustilago tritici*) и офиоболезными гнилями (*Ophiobolus spp.*) у большинства мутантных линий может быть следствием индуцированных мутаций в генах, ответственных за синтез фитоалексинов или компонентов клеточной стенки, либо за запуск реакций сверхчувствительности [17]. Снижение восприимчивости к бурой ржавчине и фузариозу у линии Ириде NEU 12 0,01 % также является важным селекционным достижением, так как эти заболевания ежегодно наносят значительный урон урожаю в климатических условиях Беларуси [18]. Можно предположить, что мутагенная обработка затронула регуляторные гены, контролирующие устойчивость к широкому спектру патогенов, что привело к появлению форм с групповой устойчивостью [19].

Питательные среды с добавлением фитогормонов MSI 1, MSI 2, MSI 3, MSI 6 способствовали росту растений без образования каллуса, при этом во всех вариантах кроме MSI 3 рост не продуцировался, растения замирали в одной стадии развития, но не погибали, через некоторое времени рост возобновлялся. Кроме того, некоторые гормоны стимулировали и рост растения и каллусогенез одновременно (MSI 4, MSI 5 и MSI 8). На основании полученных данных эффективнее всего для активного каллусогенеза *T. durum* следует применять питательную среду MSI 7, а для возобновления регенерантов (органогенеза) из каллуса – среду MSI 3.

При выводе растений в условия *ex vitro*, несмотря на ограничения, связанные с искусственным освещением и невозможностью полной реализации генетического потенциала мутантных форм, продемонстрировали высокую воспроизводимость и однородность результатов внутри вариантов опыта. Это подтверждает стабильность индуцированных изменений и позволяет считать выявленные закономерности достоверными.

Важным фактором, определяющим уровень урожайности сельскохозяйственных культур, является устойчивость растений к патогенам. Способность противостоять заболеваниям напрямую влияет на формирование элементов продуктивности и конечную урожайность. Устойчивость к патогенам является ключевым компонентом продуктивности растений, поскольку непосредственно влияет на сохранность фотосинтетического аппарата, эффективность накопления ассимилятов и формирование репродуктивных органов. Во всех опытных вариантах, за исключением Розалия NEU 6 0,005 %, наблюдалось полное

отсутствие поражения этими патогенами (0 % заражений) в то время, как в контроле уровень поражения достигал 1...5 %. Это свидетельствует об индукции мутагеном высокой устойчивости к почвенным и семенным патогенам.

Сочетание индуцированного мутагенеза с последующим микрклональным размножением отобранных форм позволяет не только сохранить уникальные генотипы, но и быстро нарастить их количество для полевых испытаний. Это существенно ускоряет селекционный процесс по сравнению с классическими методами отбора, особенно при работе с рецессивными мутациями [20]. Разработанная методика может быть рекомендована для включения в программы по созданию адаптированных к местным условиям высокопродуктивных сортов твёрдой пшеницы.

#### Заключение

Проведённые комплексные исследования подтвердили высокую эффективность применения индуцированного мутагенеза в сочетании с биотехнологическими методами для селекции твёрдой пшеницы в условиях северо-востока Республики Беларусь. Разработанная методика микрклонального размножения позволила сохранить и размножить ценные мутантные формы с уникальными хозяйственно-полезными признаками.

Экспериментально установлено, что оптимальной питательной средой для каллусогенеза у *Triticum durum* является среда MSI 7 с добавлением 6-БАП (0,1 мл/л), NAA (0,2 мл/л) и ИМК (0,2 мл/л), обеспечивающая до 91 % образования каллуса. Для последующего органогенеза наиболее эффективной показала себя среда MSI 3. Разработанный метод гистологического прогнозирования образования экплантов с расчетом эмбриогенных единиц (EU) показал высокую надёжность с точностью до 89,6...91,9 %.

Мутагенная обработка NEU позволила получить формы с комплексом ценных признаков. Наибольший интерес представляют мутанты:

Розалия NEU 24 0,005 % с рекордной массой 1000 семян (78,4 г в полевых условиях), повышенной продуктивной кустистостью (2,8) и устойчивостью к заболеваниям

Ириде NEU 6 0,005 % с увеличенной высотой растений (84,5 см) и улучшенными показателями продуктивности

Полевые испытания подтвердили стабильность индуцированных изменений и полную реализацию генетического потенциала мутантных форм. Отмечено комплексное улучшение элементов продуктивности и повышение устойчивости к основным патогенам, особенно к пыльной головне и офиоболезным корневым гнилям.

Полученные результаты демонстрируют перспективность использования разработанного биотехнологического подхода для ускорения селекционного процесса создания новых высокопродуктивных

сортов твёрдой пшеницы, адаптированных к условиям Республики Беларусь.

#### Литература

1. Овэс Е. В., Гаитова Н. А., Шишкина О. А. Сохранение сортовых ресурсов картофеля в полевой и *in vitro* коллекциях Федерального исследовательского центра картофеля имени АГ Лорха // Биотехнология и селекция растений. 2022. Т. 5. №. 1. С. 28-41.
2. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // *Physiologia Plantarum*. 1962. No. 15. P. 473-497. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
3. Development of highly *in vitro* callogenesis and regeneration system for some salt tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivars of Bangladesh / M. Al-Forkan, M.A. Rahim et al. // *Biotechnology*. 2005. Vol. 4. P. 230-234. doi:10.3923/biotech.2005.230.234
4. Development of highly *in vitro* callogenesis and regeneration system for some salt tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivars of Bangladesh / M. Al-Forkan, M.A. Rahim et al. // *Biotechnology*. 2005. Vol. 4. P. 230-234. doi:10.3923/biotech.2005.230.234
5. Response of immature and mature embryos of modern Egyptian commercial durum (*Triticum durum* Desf.) and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) for *in vitro* culture / Shaheen G. et al. // *Journal of Modern Research*. 2024. No. 2. P. 83-91. doi:10.21608/jmr.2024.266687.1121
6. Benlioglu B., Ozgen M. *In vitro* selection of drought tolerant regenerants in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) // *Applied Ecology and Environmental Research*. 2021. No. 3. P. 1813-1825. doi:10.15666/aeer/1903\_18131825
7. Vitti A. Exploring the agronomic traits, antioxidant and antifungal properties of *Hermetia illucens* frass extract in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) // *BMC Plant Biology*. 2025. No. 1. P. 1075.
8. Круглова Н. Н., Титова Г. Е., Сельдимирова О. А. Каллусогенез как путь морфогенеза *in vitro* у злаков // *Онтогенез*. 2018. Т. 49. №. 5. С. 273-288.
9. Histo-morphological analysis of rice callus cultures reveals differential regeneration response with varying media combinations / B. Ijaz, C. Sudiro et al. // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2019. No. 55. P. 569–580. doi: 10.1007/s11627-019-09974-6
10. Налётов И. В., Заяц В. С. Гомеозис кукурузы сахарной под воздействием экологических факторов среды Сахаровские чтения 2024 года: экологические проблемы XXI века. Минск: ИВЦ Минфина, 2024. Ч. 2. С. 34-36.
11. Efferth, T. Biotechnology applications of plant callus cultures / T. Efferth // *Engineering*. 2019. Vol. 5. No. 1. P. 50-59. doi:10.1016/j.eng.2018.11.006
12. Налетов И. В., Дуктова Н. А, Заяц В. С. Изменение количества фотосинтетических пигментов в листьях пшеницы твердой при воздействии химических мутагенов // *Технологические аспекты возделывания сельскохозяйственных культур. сборник статей по*

материалам XXI Международной научно-практической конференции. Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, БГСХА. Горки. 2023. С. 162-165.

13. Налетов И. В., Заяц В. С. Активность различных форм белка мутантных образцов яровой пшеницы твёрдой *Triticum durum desf* // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. 2023. №. 3. С. 139-141.

14. Налетов И. В. Содержание запасных белков в мутантных формах яровой пшеницы твёрдой *Triticum durum Desf.* // Настоящее и будущее биотехнологии растений Материалы Международной научной конференции, посвященной 65-летию деятельности Отдела биохимии и биотехнологии растений ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск 2023 год. Минск, 2023. С. 82.

15. Заяц В. С., Юницкий А. Э., Налетов И. В. Метод выращивания каллусных тканей зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum L.*) с целью получения флавоноидов и гиперцицинов // Сборник материалов VI международной научно-практической online-offline конференции «Биотехнология: достижения и перспективы развития» г. Пинск, 30 ноября – 1 декабря 2023. С. 87-89.

16. Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь. Минск, 2024. 275 с.

17. Chauhan H., Desai S. A., Khurana P. Comparative analysis of the differential regeneration response of various genotypes of *Triticum aestivum*, *Triticum durum* and *Triticum dicoccum* // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2007. Vol. 91. No. 3. P. 191-199.

18. Грибные патогены зерновых колосовых культур: биология, распространение, вредоносность, методы учета, сбора и хранения биоматериала. Создание искусственных инфекционных фонов: Научно-практические рекомендации / Г. В. Волкова, Я. В. Яхник, О. А. Кудинова и др. Краснодар: Издательство ООО «Просвещение-Юг». 2024. 98 с.

19. Evaluation of drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum L.*) using in vivo and in vitro techniques / E. Farshadfar, B. Jamshidi, K. Cheghamirza, et al. // Annals of Biological Research. 2012 Vol. 3 No. 1 P. 465-476.

20. Benlioglu B., Ozgen M. In vitro selection of drought tolerant regenerants in durum wheat (*Triticum durum desf.*) // Appl Ecol Environ Res. 2021. Vol. 19. No. 3. P. 1813-1825.

## References

1. Oves E. V., Gaitova N. A., Shishkina O. A. Conservation of potato varietal resources in field and in vitro collections of the A. G. Lorch Federal Potato Research Center // Biotechnology and Plant Breeding. 2022. Vol. 5. No. 1. P. 28-41.

2. T. Murashige, F. Skoog A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture //

Physiologia Plantarum. 1962. No. 15. P. 473-497. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

3. Development of highly in vitro callogenesis and regeneration system for some salt tolerant rice (*Oryza sativa L.*) cultivars of Bangladesh / M. Al-Forkan, M.A. Rahim et al. // Biotechnology. 2005. 4. P. 230-234. doi:10.3923/biotech.2005.230.234

4. Shaheen G. Response of immature and mature embryos of modern Egyptian commercial durum (*Triticum durum Desf.*) and bread wheat (*Triticum aestivum L.*) for in Vitro culture // Journal of Modern Research. 2024. No. 2. P. 83-91. doi:10.21608/jmr.2024.266687.1121

5. In vitro selection of drought tolerant regenerants in durum wheat (*Triticum durum desf.*) / B. Benlioglu, M. Ozgen // Applied Ecology and Environmental Research. 2021. No. 3. P. 1813-1825. doi: 10.15666/aer/1903\_18131825

6. Vitti A. Exploring the agronomic traits, antioxidant and antifungal properties of *Hermetia illucens* frass extract in durum wheat (*Triticum durum Desf.*) // BMC Plant Biology. 2025. No. 1. P. 1075.

7. Kruglova N. N., Titova G. E., Seldimirova O. A. Callusogenesis as a pathway of in vitro morphogenesis in cereals // Ontogenesis. 2018. Vol. 49. No. 5. P. 273-288.

8. Histo-morphological analysis of rice callus cultures reveals differential regeneration response with varying media combinations / B. Ijaz, C. Sudiro et al. // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2019. No. 55. P. 569-580. doi: 10.1007/s11627-019-09974-6.

9. Naletov I. V., Zayats V. S. Homeosis of sweet corn under the influence of environmental factors. Sakharov Readings of 2024: Environmental Problems of the 21st Century. Minsk: Institute of Plant Genetics and Information Technology of the Ministry of Finance, 2024. Part 2. P. 34-36.

10. Налетов И.В., Заяц В.С. Гомеозис кукурузы сахарной под воздействием экологических факторов среды Сахаровские чтения 2024 года: экологические проблемы XXI века. Минск: ИВЦ Минфина, 2024. Ч. 2. С. 34-36.

11. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures // Engineering. 2019. Vol. 5. No. 1. P. 50-59. doi: 10.1016/j.eng.2018.11.006

12. Naletov, I.V. N.A. Duktova, V.S. Zayats Change in the amount of photosynthetic pigments in durum wheat leaves under the influence of chemical mutagens // Technological aspects of agricultural crop cultivation. Collection of articles based on the materials of the XXI International Scientific and Practical Conference. Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, Belarusian State Agricultural Academy. Gorki 2023. Gorki, 2023. P. 162-165.

13. Naletov I. V. Activity of various protein forms of mutant samples of spring hard wheat *Triticum durum desf* / I.V. Naletov, V.S. Zayats // Bulletin of the Belarusian State Agricultural Academy. 2023. No. 3. P. 139-141.

14. Naletov I. V. Content of storage proteins in mutant forms of spring hard wheat *Triticum durum Desf.* //

The present and future of plant biotechnology. Proceedings of the International Scientific Conference dedicated to the 65th anniversary of the Department of Plant Biochemistry and Biotechnology of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 2023. P. 82.

15. Zayats V. S. Method of growing callus tissues of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) to obtain flavonoids and hypericins / V. S. Zayats, A. E. Yunitskiy, I. V. Naletov // Collection of materials of the VI international scientific and practical online-offline conference "Biotechnology: achievements and development prospects" Pinsk, November 30 – December 1, 2023. – С. 87-89.

16. State Register of Varieties and Tree and Shrub Species of the Republic of Belarus. Minsk, 2024. 275 p.

17. Chauhan H., Desai S. A., Khurana P. Comparative analysis of the differential regeneration response of various genotypes of *Triticum aestivum*, *Triticum durum*

and *Triticum dicoccum* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2007. Vol. 91. No. 3. P. 191-199.

18. Fungal pathogens of cereal crops: biology, distribution, harmfulness, methods of recording, collecting and storing biomaterial. Creation of artificial infectious backgrounds: Scientific and practical recommendations / G. V. Volkova, Ya. V. Yakhnik, O. A. Kudinova et al.. Krasnodar: Publishing house OOO "Prosveshchenie-Yug", 2024. 98 p.

19. Evaluation of drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using in vivo and in vitro techniques / E. Farshadfar, B. Jamshidi, K. Cheghamirza, et al. // *Annals of Biological Research*. 2012. Vol. 3 No. 1 P. 465-476.

20. Benlioglu B., Ozgen M. In vitro selection of drought tolerant regenerants in durum wheat (*Triticum durum* desf.) // *Appl Ecol Environ Res*. 2021. Vol. 19. No. 3. P. 1813-1825. [http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1903\\_18131825](http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1903_18131825).