

Научная статья  
УДК 635.629:58.036.5:638.138.5:58.085  
DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-39-47



## Оценка холодостойкости коллекционных образцов момордики (*Momordica charantia* L.) по прорастанию пыльцы при низкой температуре *in vitro*

Ю. В. Фотев<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

Автор, ответственный за переписку: Юрий Валентинович Фотев, fotev\_2009@mail.ru

**Актуальность.** Момордика (*Momordica charantia* L.) – новая для России овощная и лекарственная культура, высокая требовательность которой к теплу является основным фактором, ограничивающим возможности выращивания в умеренном континентальном климате. Для селекции новых сортов и расширения ее производства необходимы оценка и отбор более холодостойких сортов и форм. Ранее полученные данные говорят о возможности оценки холодостойкости в фазе зрелого мужского гаметофита *in vitro*.

**Материалы и методы.** Материалом исследования служили восемь образцов момордики, включая родительские формы, F<sub>1</sub> гибриды и сорт 'Гоша', выращенных в условиях необогреваемой пленочной теплицы Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, г. Новосибирск (54°49' с. ш. 83°06' в. д.). В качестве критерия холодостойкости использовали выраженное в процентах отношение прорастания пыльцы *in vitro* на 15-процентном растворе полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 (ПЭГ 6000) с добавлением борной кислоты (0,006%) при температуре 10°C в течение 24 ч к прорастанию при 25°C в течение 3 ч.

**Результаты.** Наибольшей холодостойкостью обладали сорт 'Гоша', образец из Японии Okinawa green и гибрид F<sub>1</sub> (Feng Guang × Okinawa green) с показателями 59,7; 53,8 и 48,2% соответственно. Характер наследования холодостойкости пыльцы в F<sub>1</sub> в зависимости от комбинации скрещивания изменялся от промежуточного у двух гибридов [F<sub>1</sub> (Feng Guang × Гоша) и F<sub>1</sub> (Feng Guang × Okinawa green)] до сверхдоминирования (положительного гетерозиса) в гибридной комбинации в F<sub>1</sub> (Feng Guang × Okinawa white).

**Ключевые слова:** низкотемпературный стресс, устойчивость, фаза зрелого мужского гаметофита, ПЭГ 6000, наследование

**Благодарности:** работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану по проекту: АААА-А21-121011290027-6 «Теоретические и прикладные аспекты изучения генофондов природных популяций растений и сохранения растительного разнообразия вне типичной среды обитания (*ex situ*)». Автор благодарит рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

**Для цитирования:** Фотев Ю.В. Оценка холодостойкости коллекционных образцов момордики (*Momordica charantia* L.) по прорастанию пыльцы при низкой температуре *in vitro*. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2022;183(3):39-47. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-39-47

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-39-47

## Assessment of cold resistance in *Momordica charantia* L. accessions according to pollen germination at low temperatures *in vitro*

Yury V. Fotev<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia<sup>2</sup> Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia**Corresponding author:** Yury V. Fotev, fotev\_2009@mail.ru

**Background.** Bitter melon (*Momordica charantia* L.) is a vegetable and medicinal crop new for Russia. Its high heat demand is the main factor limiting the possibilities of its cultivation in a temperate continental climate. Evaluation and selection of more cold-resistant accessions is required for breeding new cultivars and expanding production. Previously obtained data attest to a possibility of assessing cold hardiness in the mature male gametophyte phase *in vitro*.

**Materials and methods.** Eight bitter melon accessions, including parent forms, F<sub>1</sub> hybrids and cv. 'Gosha', were grown in the unheated film greenhouse of the Central Siberian Botanical Garden, Novosibirsk (54°49' N, 83°06' E) for evaluation and selection for cold resistance. The ratio of pollen germination *in vitro* on a 15% polyethylene glycol solution with a molecular weight of 6000 (PEG 6000) with the addition of boric acid (0.006%) at a temperature of 10°C for 24 h to the same indicator at 25°C / 3 h (in %) was used as a criterion of cold resistance.

**Results.** The cultivar 'Gosha', the accession Okinawa green from Japan, and the F<sub>1</sub> hybrid (Feng Guang × Okinawa green) had the highest cold resistance, with the values of 59.7; 53.8 and 48.2%, respectively. The inheritance of cold resistance in F<sub>1</sub>, assessed by the pollen germination index, depending on the crossing combination, changed from intermediate in two hybrids [F<sub>1</sub> Feng Guang × Gosha) and F<sub>1</sub> Feng Guang × Okinawa green)] to overdominant (positive heterosis) in the hybrid F<sub>1</sub> (Feng Guang × Okinawa white).

**Keywords:** bitter melon accessions, low-temperature stress, resistance, mature male gametophyte phase, PEG 6000, inheritance

**Acknowledgements:** the work was carried out within the framework of the state task according to the theme plan for the project: AAAA-A21-121011290027-6 "Theoretical and applied aspects of studying the gene pools of natural plant populations and preserving plant diversity outside a typical habitat (*ex situ*)".

The author thanks the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

**For citation:** Fotev Yu.V. Assessment of cold resistance in *Momordica charantia* L. accessions according to pollen germination at low temperatures *in vitro*. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(3):39-47. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-39-47

## Введение

Среди новых для России теплолюбивых овощных культур, сорта которых включены в Государственный Реестр селекционных достижений РФ, допущенных к использованию, момордика (*Momordica charantia* L., Cucurbitaceae Juss.) заслуживает особого внимания в связи с ценным биохимическим составом (Saeed et al., 2018; Fotev et al., 2019), позволяющим ее позиционировать в качестве функционального продукта питания и лекарственного растения, особенно для больных сахарным диабетом (Akbar, 2020).

Культура происходит из тропических регионов Африки, позднее распространилась по странам Юго-Восточной Азии и в Австралии (Schaefer, Renner, 2010). Ее отличительная особенность – высокая требовательность к теплу: оптимальная температура для роста и развития растений – 24–27°C (Desai, Musmade, 1998). Понижения температуры в летний период ниже 18–20°C способны вызвать существенную задержку роста и развития.

Несмотря на тропическое происхождение момордики и теплолюбивость, в силу особой биохимической ценности культуры и актуальности расширения регионов выращивания в последнее время активно исследуется холодостойкость ее сортов. При выращивании молодых растений *M. charantia* – чувствительной к охлаждению селекционной формы Y17 и устойчивой формы Y54 – при низкой температуре (+5°C) включаются защитные механизмы в виде накопления осморегулирующих веществ, таких как аминокислоты, сахара, жирные кислоты, а также идет мобилизация антиоксидантных систем, повышается регуляция уровней экспрессии генов *McSOD1*, *McPDC1* и *McCHS1*, связанных с устойчивостью к холоду, и активность антиоксидантных ферментов (Niu et al., 2020).

Температура около +10°C, вероятно, является биологическим нулем для роста и развития многих теплолюбивых овощных растений. По сведениям, приведенным в рекомендациях для фермеров Индии, прорастание семян момордики полностью прекращается при температуре +8°C и ниже (URL: [https://kvk.icarg.gov.in/API/Content/PPUpload/k0211\\_74.pdf](https://kvk.icarg.gov.in/API/Content/PPUpload/k0211_74.pdf)). Температура +10°C, вероятно, является критическим порогом температуры для прорастания пыльцы разных теплолюбивых культур (Karapanos et al., 2008).

Для отбора холодостойких форм разработаны различные методические подходы, основанные на оценке признаков спорофитного поколения и включающие полевые, лабораторные, лабораторно-полевые, электрофизиологические и другие методы (Lakhanov, 1988). Так, в Сибирском институте физиологии и биохимии растений СО РАН был разработан метод оценки холодостойкости по изменению скорости роста первичного корня в условиях низкой температуры (Rodchenko, Skvortsova, 1981).

Получены убедительные данные о том, что зрелая пыльца у теплолюбивых растений наиболее чувствительна к низкотемпературному стрессу (Zou et al., 2010). Например, по мнению В. В. Виноградовой, «при адаптации томата к низким температурам наиболее эффективна оценка холодостойкости по методу прорастания пыльцы в 15%-ном растворе сахарозы с добавлением 100 мг/л  $H_3BO_3$  (при 6–10°C)» (Vinogradova, 1988, p. 78). Также у томатов обнаружена тесная положительная корреляционная зависимость между устойчивостью к низким температурам микрогаметофита и спорофита (Kil-

chevsky, Pugacheva, 2002). В опытах Лукьянчика и Ломаковой (2013) выявлена положительная корреляционная зависимость между холодостойкостью гаметофитов и спорофитов этой культуры ( $r = 0,64–0,99$ ) с возможностью оценки устойчивости генотипов к пониженной температуре по реакции пыльцы. Получены данные, показывающие, что устойчивость пыльцы к пониженным температурам наследуется по типу сверхдоминирования в сторону увеличения признака (Kilchevsky et al., 2007). В эксперименте E. Domínguez et al. (2005) популяция BC1 межвидового гибрида томата *Lycopersicon esculentum* × *L. pennellii*, полученная на этапах воздействия низкой температурой при формировании пыльцы, а также ее прорастания и роста пыльцевых трубок, имела повышенную способность к прорастанию пыльцы при низких температурах. Появляется все больше свидетельств того, что отбор во время фазы гаметофита в жизненном цикле растения имеет важные эффекты как на эволюцию генов, так и на геном, и, вероятно, имеет важные плейотропные эффекты на спорофит разных видов растений (Beaudry et al., 2020). Оценивая экологический потенциал фитобиоты, S. Rosbakh и P. Poschlod (2016) пришли к выводу, что ограничение прорастания и роста пыльцы видов растений из-за низких температур влияет на климатические границы распространения видов растений, а также, вероятно, на их инвазионный потенциал. Гаплоидные пыльцевые зерна – не просто носители геномов, они служат эволюционно и физиологически активным мостом между диплоидным родительским растением и диплоидным растением-потомком (Nelms, Walbot, 2022).

Максимальный процент прорастания пыльцы момордики и активный рост пыльцевых трубок наблюдали при использовании среды, содержащей 15-процентный раствор сахарозы, борной кислоты (0,006%) и 300 мг нитрата кальция (Rathod et al., 2018). Примерно через 240 минут после посева пыльцевая трубка перестает растягиваться и расти.

Эксперименты, проведенные H. Q. Zhang и A. F. Croes (1982) с пыльцой *Petunia*, показали, что экзогенная сахароза в среде для прорастания пыльцы увеличивает интенсивность ее дыхания. По этой причине желательно полностью или частично заменить сахарозу другим осмотиком. Одним из таких осмотически активных веществ является полиэтиленгликоль (ПЭГ). Это инертный неионный полимер ( $HOCH_2-(CH_2-O-CH_2)_x-CH_2OH$ ), который не метаболизируется в растениях (Steuter et al., 1981). ПЭГ с разной молекулярной массой и в различных концентрациях усиливает рост пыльцевых трубок и улучшает их морфологию у испытанных видов покрытосеменных растений (Read et al., 1993; Shivanna, Sawhney, 1995; etc.). В более ранних исследованиях нами было предложено для оценки энергетических возможностей прорастающей *in vitro* пыльцы момордики использовать раствор полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 (ПЭГ 6000) (Fotev, Belousova, 2013).

В качестве «сортов-классификаторов», использование которых при оценке стрессовых факторов среды было ранее обосновано Г. В. Удовенко (Udovenko, 1988, p. 5), при сравнительной оценке холодостойкости форм момордики целесообразно использовать однолетние травянистые растения, так же, как и момордика, относящиеся к семейству Cucurbitaceae и успешно натурализовавшиеся на просторах Сибири. Наиболее типичными представителями их являются два холодостойких эргазифитофита, в естественном виде произрастающих на

юге Западной Сибири и Дальнем Востоке, – тладианта сомнительная (*Thladiantha dubia* Bunge.) и эхиноцистис лопастной (*Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et A. Gray).

**Цель работы** – оценка и отбор образцов момордики с потенциально высокой холодостойкостью исследованием прорастания их пыльцы при низкой температуре на растворе не участвующего в метаболизме растений осмотика – полиэтиленгликоля (ПЭГ).

### Материал и методы исследования

Для исследования холодостойкости по ростовой реакции пыльцы *in vitro* использовали восемь образцов момордики из «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте» УНУ № USU 440534 Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (ЦСБС СО РАН), растения которых выращивали в условиях пленочной необогреваемой теплицы ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск, 54°49'33" с. ш. 83°06'34" в. д.) из семян, репродуцированных ранее при контролируемом опылении в этих же условиях (табл. 1).

Вместе с сортообразцами момордики также выращивали растения двух эргазиофитофитов из семейства Cucurbitaceae – тладианту сомнительную (*Thladiantha dubia*) и эхиноцистис лопастной (*Echinocystis lobata*).

Исследование проводили в вегетационный период 2021 г. Рассадку момордики трехнедельного возраста высаживали в грунт теплицы 20 мая. Семена эхиноцистиса после двухмесячной стратификации при температуре 5–8°C высевали в кассеты в последней декаде апреля, высаживая рассаду в грунт теплицы одновременно с растениями момордики. Мужские растения тладианты в виде клубней с образовавшейся розеткой листьев выкапывали из открытого грунта непосредственно перед посадкой в грунт теплицы также 20 мая.

В качестве почвогрунта использовали торфяной субстрат на основе верхового торфа с добавлением минеральных удобрений. Агротехнические работы выполняли в соответствии с рекомендациями по выращиванию культуры в Сибири (Fotev, Belousova, 2013). Площадь учетной деланки составляла 5,3 м<sup>2</sup>. Густота посадки – 1,9 раст./м<sup>2</sup>.

В качестве среды для проращивания пыльцы *in vitro* использовали 15-процентный раствор полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 (ПЭГ 6000) производства PanReac AppliChem (EU) с добавлением борной кислоты (0,006%) производства PanReac AppliChem (Ph. Eur, риге, фарм.), приготовленный на дистиллированной воде. Проращивание пыльцы для оценки холодостойкости проводили при температуре 10°C в течение 24 ч, помещая ее на капли раствора на предметных стеклах, размещенных на увлажненной фильтровальной бумаге в стеклянных чашках Петри. В качестве контроля проращивали пыльцу на такой же среде при температуре 25°C в течение 3 ч. Холодостойкость оценивали по отношению показателя прорастания пыльцы при температуре 10°C к аналогичному показателю при 25°C и выражали в процентах. Просмотр проводили не менее чем в 10 полях зрения при помощи микроскопа ZEISS Primo Star при увеличении ×100. Пыльцевое зерно считали проросшим при достижении пыльцевой трубкой длины, составляющей не менее двух диаметров пыльцевого зерна.

Оценка показателя степени доминантности проводилась согласно формуле, предложенной в работе F. C. Petri, J. Frey (1966):

$$hp = (F_1 - MP) / (HP - MP),$$

где  $F_1$  – среднее значение признака у растений  $F_1$ ,  
MP – среднее арифметическое значений признака в обе-

**Таблица 1.** Образцы *Momordica charantia* L., использованные при оценке холодостойкости по прорастанию пыльцы при низкой температуре *in vitro*

**Table 1.** *Momordica charantia* L. accessions used in the assessment of cold resistance according to pollen germination at low temperatures *in vitro*

Образец, гибрид $F_1$ / Accession, $F_1$ hybrid	Число дней от всходов до фазы / Days from germination to the phase of			Масса плода, г / Fruit weight, g	Происхождение / Origin
	цветение / flowering	техническая спелость / harvesting	биологическая спелость / biological ripeness		
Гоша	56	76	89	342,9 ± 59,6	ЦСБС СО РАН
Feng Guang	51	71	88	418,5 ± 49,9	КНР
Okinawa white	69	92	102	638,8 ± 79,2	Япония
Okinawa green	56	80	92	406,4 ± 65,8	Япония
Форма 108	61	86	96	304,3 ± 24,1	КНР
$F_1$ (Feng Guang × Okinawa white)	57	83	92	546,3 ± 33,0	ЦСБС СО РАН
$F_1$ (форма Feng Guang × Гоша)	58	81	95	537,7 ± 56,5	ЦСБС СО РАН
$F_1$ (Feng Guang × Okinawa green)	61	83	97	635,1 ± 46,3	ЦСБС СО РАН

их родительских формах, а НР – значение признака у родителя, характеризующегося максимальной экспрессией признака. Оценка значений степени доминирования:  $hr = 0$  – в случае отсутствия доминирования,  $0 < hr < 1$  – для неполного доминирования,  $hr = 1$  – для полного доминирования,  $hr > 1$  – для гетерозиса (сверх доминирования),  $hr < -1$  – для отрицательного гетерозиса (депрессии),  $-1 < hr < 0$  – для неполного доминирования у формы с меньшим значением признака и  $hr = -1$  – для полного доминирования у формы с меньшим значением признака.

Для оценки холодостойкости по росту первичного корня семена образцов этой культуры ( $n = 20$ ), исследованных по прорастанию пыльцы *in vitro*, выдерживали в термостате при температуре 25°C в течение пяти дней и после появления первичного корня длиной 0,7–1,3 см переносили в условия температуры 10°C. Измерение длины первичного корня проводили электронным штангенциркулем марки Matrix (КНР).

Статистическую обработку данных проводили с применением программ Excel 2019 и Minitab 14. Средние значения признаков (M) представлены со стандартной ошибкой выборочной средней ( $M \pm SEM$ ).

### Результаты и обсуждение

В таблице 2 показаны результаты проращивания пыльцы образцов момордики, гладианты и эхиноцисти-са при температуре 10°C и 25°C на 15-процентном рас-

творе полиэтиленгликоля (ПЭГ 6000). При низкой температуре (10°C) пыльца всех образцов момордики (кроме Okinawa white) формировала пыльцевые трубки *in vitro*, число проросших зерен колебалось от  $5,2 \pm 0,2$  до  $32,9 \pm 2,8\%$ . На рисунке 1 показано прорастание пыльцы момордики сорта 'Гоша' *in vitro* на растворе ПЭГ 6000 в режиме 10°C/24 ч.

Наибольшей холодостойкостью на стадии прорастания пыльцы, как по числу проросших пыльцевых зерен при 10°C, так и по отношению показателя их прорастания при низкой температуре к этому показателю в условиях оптимальной температуры, обладали селектированный в ЦСБС СО РАН сорт 'Гоша', образец Okinawa green и гибрид  $F_1$  (Feng Guang  $\times$  Okinawa green). Нужно отметить, что показавший относительно высокую холодостойкость (53,8%) японский образец Okinawa green имел невысокий, почти вдвое более низкий по сравнению с сортом 'Гоша', показатель прорастания пыльцы при 25°C (19,5%) и характеризовался также довольно слабым (10,5%) ростом пыльцевых трубок при низкой температуре.

Образец Okinawa white, пыльца которого не прорастала при низкой температуре *in vitro*, может быть использован в качестве дифференцирующего сорта-классификатора, носителя признака «низкая холодостойкость».

Интересно, что ранее в условиях открытого грунта Тульской области при сравнительном испытании разных сортов момордики был сделан вывод о высоком адаптационном потенциале сорта 'Гоша', включая засухоустойчивость, относительно других образцов (Gribova, 2014).

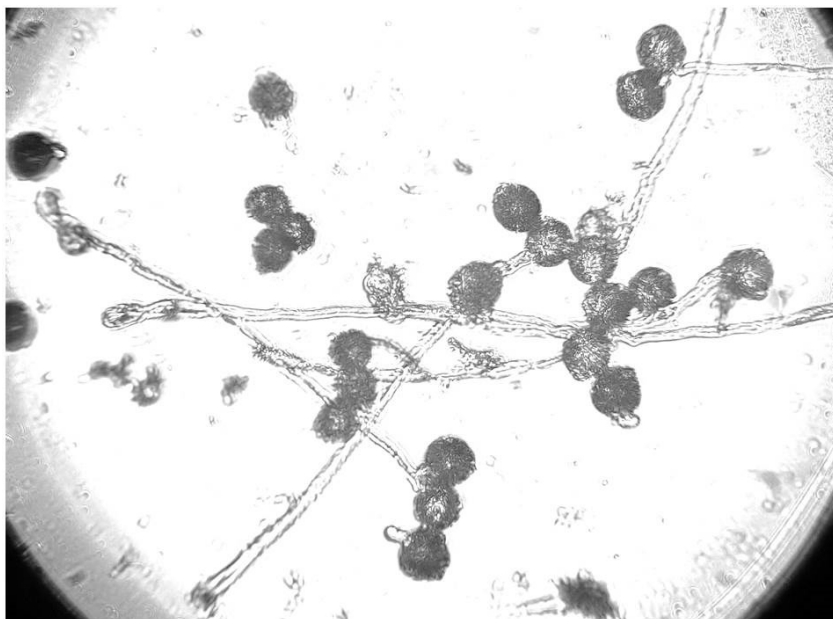
**Таблица 2. Результаты проращивания пыльцы образцов *Momordica charantia* L., *Thladiantha dubia* Bunge и *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et A. Gray *in vitro* на 15-процентном растворе ПЭГ 6000 при разной температуре**

**Table 2. Results of *in vitro* pollen germination of *Momordica charantia* L., *Thladiantha dubia* Bunge and *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et A. Gray on a 15% PEG 6000 solution at different temperatures**

Вид / Species	Образец / Accession	Количество проросшей пыльцы (%) при температуре / Pollen germination (%) at the temperature of		Холодостойкость, %* / Cold resistance, %	Степень доминантности, % / Degree of dominance, %
		25°C, 3 ч/3 h	10°C, 24 ч/24 h		
<i>M. charantia</i>	Гоша	37,5 $\pm$ 0,8	22,40 $\pm$ 2,6	59,7	
<i>M. charantia</i>	Feng Guang	31,2 $\pm$ 2,1	5,2 $\pm$ 0,2	16,7	
<i>M. charantia</i>	Okinawa white	38,6 $\pm$ 0,7	0	0	
<i>M. charantia</i>	$F_1$ (Feng Guang $\times$ Okinawa white)	53,2 $\pm$ 0,3	11,6 $\pm$ 2,1	21,8	1,61
<i>M. charantia</i>	Okinawa green	19,5 $\pm$ 6,2	10,50 $\pm$ 0,8	53,8	
<i>M. charantia</i>	$F_1$ (Feng Guang $\times$ Okinawa green)	68,2 $\pm$ 3,2	32,9 $\pm$ 2,8	48,2	0,69
<i>M. charantia</i>	$F_1$ (форма Feng Guang $\times$ Гоша)	26,7 $\pm$ 2,9	7,60 $\pm$ 2,5	28,5	-0,45
<i>M. charantia</i>	форма 108	74,6 $\pm$ 12,1	11,35 $\pm$ 2,5	15,3	
<i>Th. dubia</i>		31,05 $\pm$ 4,0	48,3 $\pm$ 3,4	155,5	
<i>E. lobata</i>		62,5 $\pm$ 12,5	75,3 $\pm$ 2,5	120,5	

\* – «холодостойкость» – отношение показателя прорастания пыльцы при температуре 10°C к аналогичному показателю при 25°C, в %

\* – “cold resistance” – the ratio of the pollen germination rate at a temperature of 10°C to the same indicator at 25°C, %



**Рис. 1.** Прорастание пыльцы *Momordica charantia* L. сорта 'Гоша' *in vitro* на растворе ПЭГ 6000 при температуре 10°C/24 ч (увеличение ×100)

**Fig. 1.** *In vitro* pollen germination of *Momordica charantia* L. (cv. 'Gosha') on a PEG 6000 solution at a temperature of 10°C/24 h (×100)

В другом опыте в Тульской области этот же сорт показал урожайность в среднем на 28,9% больше по сравнению с другими испытанными сортами (Gribova, Medvedeva, 2015).

Характер наследования холодостойкости пыльцы в  $F_1$  в зависимости от комбинации скрещивания изменялся от промежуточного (неполного доминирования) у двух гибридов [ $F_1$  (форма Feng Guang × сорт Гоша) и  $F_1$  (Feng Guang × Okinawa green)] до сверхдоминирования (положительного гетерозиса) в гибридной комбинации Feng Guang × Okinawa white. Интересно, что у томата холодостойкость пыльцы также может наследоваться по типу сверхдоминирования (Kilchevsky et al., 2007). Более того, у огурца, как и момордика, относящегося к семейству Cucurbitaceae, обнаружен один доминантный ген *Ch*, контролирующий холодостойкость при прорастании семян (Kozik, Wehner, 2008).

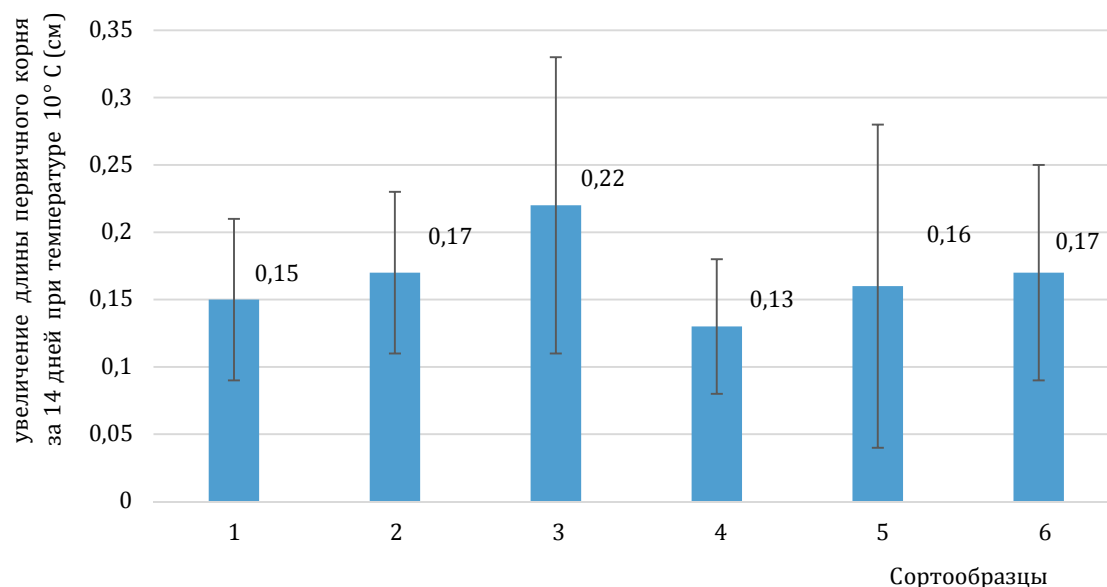
Самые высокие показатели холодостойкости пыльцы отмечены у видов-эргазиофитов, в естественном виде способных произрастать в сибирских условиях – тладианты и эхиноциста. Отмечено минимальное торможение роста их пыльцевых трубок при низкой температуре в течение 24-часового периода, а также высокая выравненность (однородность) «популяции пыльцевых зерен» в цветках этих видов. Пыльца образцов момордики нередко, напротив, характеризовалась формированием небольшого числа как коротких, так и очень длинных пыльцевых трубок, превышающих диаметр пыльцевого зерна в 10–20 раз, хотя точный замер их длины не был проведен. По данным Д. Ю. Швеца и Б. Р. Кулуева (Shvets, Kuluev, 2017), тладианта (*Th. dubia*) отличается своей устойчивостью к низким температурам, демонстрируя нижний температурный предел выживания при  $-18^{\circ}\text{C}$ , а семена *E. lobata* способны прорасти в диапазоне температур  $+5...+10^{\circ}\text{C}$  (Bagi, Böszörményi, 2008).

Представляется интересным сопоставление прорастания пыльцы и роста первичного корня момордики при низкой температуре. Удлинение первичного корня про-

ростков за 14 дней проращивания при  $10^{\circ}\text{C}$  составило лишь 0,13–0,22 см в зависимости от сортообразца при отсутствии статистически значимых различий между ними (рис. 2). В дальнейшем на проростках был отмечен интенсивный рост грибной и бактериальной микробиоты. Вероятно, дифференцирующая температура для отбора по росту первичного корня при низкой температуре выбранных образцов этой культуры находится выше  $10^{\circ}\text{C}$ . При  $25^{\circ}\text{C}$  скорость роста первичного корня значительно выше – 0,2–0,6 см/день и зависит от времени с момента закладки семян на проращивание. Таким образом, соответствия между показателями холодостойкости испытанных образцов в виде изменения длины первичного корня и прорастания пыльцы при температуре  $10^{\circ}\text{C}$  не обнаружено.

Таким образом, результаты проращивания пыльцы момордики *in vitro* при низкой температуре свидетельствуют о том, что это достаточно чувствительный метод оценки потенциальной холодостойкости разных генотипов этой культуры. Есть три следствия при интерпретации результатов проведенных опытов. Первое состоит в возможности проведения отбора более холодостойких по этому признаку форм среди коллекционных образцов и внутри популяций с последующей оценкой характера его наследования. Второе предполагает использование образцов, формирующих при низкой температуре даже относительно небольшое количество длинных пыльцевых трубок, для опыления в термоконтролируемых условиях. Третье следствие заключается в необходимости исследования связи холодостойкости пыльцы с устойчивостью спорофитного поколения на разных этапах онтогенеза.

Можно предположить, что отбирая наиболее холодостойкие генотипы на стадии прорастания пыльцы момордики при низкой температуре *in vivo*, например в кликамере, можно в перспективе существенно повысить устойчивость спорофитного поколения *M. charantia* к низкотемпературным стрессам.



**Рис. 2.** Рост первичного корня образцов *Momordica charantia* L. за 14 дней выдерживания проростков (n = 20) при температуре 10°C, см:

1 – ‘Гоша’; 2 – Feng Guang; 3 – Okinawa white; 4 – Okinawa green; 5 – форма 108; 6 – F<sub>1</sub> (Feng Guang × Okinawa green)

**Fig. 2.** Growth of the primary root of *Momordica charantia* L. accessions for 14 days of keeping the seedlings at a temperature of 10°C, cm:

1 – ‘Gosha’; 2 – Feng Guang; 3 – Okinawa white; 4 – Okinawa green; 5 – form 108; 6 – F<sub>1</sub> (Feng Guang × Okinawa green)

### Заключение

Наибольшей холодостойкостью на стадии прорастания пыльцы *in vitro* на растворе ПЭГ 6000, как по числу проросших пыльцевых зерен при 10°C, так и по отношению показателя их прорастания при низкой температуре к показателю при оптимальной температуре, обладали сорт момордики ‘Гоша’, образец из Японии Okinawa green и гибрид F<sub>1</sub> (Feng Guang × Okinawa green). Данные образцы могут быть использованы в качестве сортов-классификаторов по признаку «холодостойкость в фазе зрелого мужского гаметофита».

Характер наследования холодостойкости пыльцы в F<sub>1</sub> в зависимости от комбинации скрещивания изменялся от промежуточного (неполного доминирования) у двух гибридов [F<sub>1</sub> (Feng Guang × Гоша) и F<sub>1</sub> (Feng Guang × Okinawa green)] до сверхдоминирования (положительного гетерозиса) в гибридной комбинации Feng Guang × Okinawa white.

В условиях низкой температуры удлинение первичного корня проростков момордики за 14 дней проращивания при 10°C составило 0,13–0,22 см в зависимости от образца при отсутствии статистически значимых различий между ними.

Самые высокие показатели холодостойкости пыльцы отмечены у видов-эргазиофитов из семейства Cucurbitaceae, в естественном виде способных произрастать в сибирских условиях – эхиноцистиса и тладианты – с показателями прорастания пыльцы этих видов в режиме 10°C/24 ч в 1,2–1,5 раза превышающими аналогичные показатели при температуре 25°C в течение 3 ч.

Исходя из результатов исследования, можно предположить, что отбирая наиболее холодостойкие генотипы на стадии прорастания пыльцы момордики при низкой температуре *in vivo*, например в климатекамере, можно

в перспективе существенно повысить устойчивость спорофитного поколения *Momordica charantia* к низкотемпературным стрессам.

### References / Литература

- Akbar S. *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). In: *Handbook of 200 Medicinal Plants*. Cham: Springer; 2020. p.1195-1219. DOI: 10.1007/978-3-030-16807-0\_128
- Bagi I., Böszörményi A. Wild cucumber (*Echinocystis lobata* Torr. et Gray). In: Z. Botta-Dukát, L. Balogh (eds). *The most important invasive plants in Hungary*. Vácrátót; 2008. p.103-114.
- Beaudry F.E.G., Rifkin J., Barrett S.C.H., Wright S.I. Evolutionary genomics of plant gametophytic selection. *Plant Communications*. 2020;1(6):100-115. DOI: 10.1016/j.xplc.2020.100115
- Bitter melon: [site]. Available from: [https://kvk.icar.gov.in/API/Content/PPupload/k0211\\_74.pdf](https://kvk.icar.gov.in/API/Content/PPupload/k0211_74.pdf) [accessed February 26, 2022].
- Desai U.T., Musmade A.M. Pumpkins, squashes and gourds. In: D.K. Salunkhe, S.S. Kadam (eds). *Handbook of vegetable science and technology: production, composition, storage and processing*. New York: Marcel Dekker; 1998. p.273-298.
- Domínguez E., Cuartero J., Fernández-Muñoz R. Breeding tomato for pollen tolerance to low temperatures by gametophytic selection. *Euphytica*. 2005;142:253-263. DOI: 10.1007/s10681-005-2042-0
- Fotev Yu.V., Belousova V.P. *Momordica*. In: I.Yu. Koropachinsky, A.B. Gorbunov (eds). *Introduction of non-traditional fruit, berry and vegetable plants in Western Siberia*. Novosibirsk: Geo; 2013. p.194-207. [in Russian] (Фотев Ю.В., Белоусова В.П. Момордика. В кн.: *Интродукция нетрадиционных плодовых, ягодных и овощных растений в Западной Сибири* / под ред. И.Ю. Коропачинского, А.Б. Горбунова. Новосибирск: Гео; 2013. С.194-207).

- Fotev Y.V., Syso A.I., Shevchuk O.M. Introduction in Siberia (Russia) of new vegetable species with a high biochemical value. In: *Current Challenges in Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology*. Novosibirsk; 2019. p.12-14. DOI: 10.18699/ICG-PlantGen2019-01
- Gribova O.A. Estimation of physiological indicators of drought resistance of *M. charantia* breeding material as a way to study adaptive capabilities during introduction in Tula Province (Otsenka fiziologicheskikh pokazateley zasukhoustoychivosti selektsionnogo materiala *M. charantia*, kak sposob izucheniya adaptatsionnykh vozmozhnostey pri introduktsii v Tul'skoy oblasti). In: *Proceedings of the Youth Scientific Seminar "Ecologist: the Profession of the Future"; November 18–20, 2014; Kemerovo (Sbornik materialov molodezhnogo nauchnogo seminar "Ekolog – professiya budushchego", 18–20 noyabrya 2014 g.; g. Kemerovo)*. Kemerovo; 2014. [in Russian] (Грибова О.А. Оценка физиологических показателей засухоустойчивости селекционного материала *M. charantia*, как способ изучения адаптационных возможностей при интродукции в Тульской области. В кн.: *Сб. матер. молодежного научного семинара «Эколог – профессия будущего»; 18–20 ноября 2014 г.; г. Кемерово*. Кемерово; 2014). URL: [http://science.kuzstu.ru/wp-content/Events/Conference/Other/2014/eko/eko\\_2014/pages/Articles/Gribova.pdf](http://science.kuzstu.ru/wp-content/Events/Conference/Other/2014/eko/eko_2014/pages/Articles/Gribova.pdf) [дата обращения: 15.04.2022].
- Gribova O.A., Medvedeva N.V. Influence of reproduction methods on photosynthetic productivity of *Momordica charantia* L. when introduced in Tula Province (Vliyaniye sposobov razmnzheniya na fotosinteticheskuyu produktivnost *Momordica charantia* L. pri introduktsii v Tul'skoy oblasti). In: *Fundamental and Applied Problems of Modern Experimental Plant Biology: Proceedings of the All-Russian Scientific Conference with International Participation and School for Young Scientists Dedicated to the 125th Anniversary of the K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology of the RAS (November 23–27, 2015) (Fundamentalnye i prikladnye problemy sovremennoy eksperimentalnoy biologii rasteniy: Sbornik materialov Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem i shkoly dlya molodykh uchennykh, posvyashchennoy 125-letiyu Instituta fiziologii rasteniy im. K.A. Timiryazeva RAN [23–27 noyabrya 2015 g.]*. Moscow; 2015. p.191-194. [in Russian] (Грибова О.А., Медведева Н.В. Влияние способов размножения на фотосинтетическую продуктивность *Momordica charantia* L. при интродукции в Тульской области. В кн.: *Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений: Сборник материалов Всероссийской научной конференции с международным участием и школы для молодых ученых, посвященной 125-летию Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (23–27 ноября 2015 г.)*. Москва; 2015. С.191-194). URL: [http://www.ofr.su/assets/files/Sbornik\\_125yrs\\_IFR.pdf](http://www.ofr.su/assets/files/Sbornik_125yrs_IFR.pdf) [дата обращения: 22.06.2022].
- Karapanos I.C.; Mahmood S.; Thanopoulos C. Fruit set in solanaceous vegetable crops as affected by floral and environmental factors. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*. 2008;2(1):88-105.
- Kilchevsky A.V., Antropenko N.Yu., Pugacheva I.G. Study of the inheritance of productivity and cold resistance of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian Series*. 2007;(4):68-72. [in Russian] (Кильчевский А.В., Антропенко Н.Ю., Пугачева И.Г. Изучение наследования урожайности и холодостойкости томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Весті Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі. Серыя Аграрных Навук*. 2007;(4):68-72).
- Kilchevsky A.V., Pugacheva I.G. Gamete selection of tomato for cold resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2002;(4):35-39 [in Russian] (Кильчевский А.В., Пугачева И.Г. Гаметная селекция томата на холодоустойчивость. *Известия Национальной Академии наук Беларуси*. 2002;(4):35-39).
- Kozik E.U., Wehner T.C. A single dominant gene *Ch* for chilling resistance in cucumber seedlings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2008;133(2):225–227. DOI: 10.21273/JASHS.133.2.225
- Lakhanov A.P. Assessment of cold resistance of field crops (Otsenka kholodostoykosti polevykh kultur). In: Udovenko G.V. (ed.) *Diagnostics of plant resistance to stressors: a methodological guide (Diagnostika ustoychivosti rasteniy k stressovym vozdeystviyam: metodicheskoye rukovodstvo)*. Leningrad: VIR; 1988. p.62-75. [in Russian] (Лакханов А.П. Оценка холодостойкости полевых культур. В кн.: *Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: методическое руководство / под ред. Г.В. Удовенко*. Ленинград: ВИР; 1988. С.62-75).
- Lukyanich I.D., Lomakova O.O. Methods of gamete selection for assessing the cold resistance of some varieties of tomatoes (Metody gametnoy selektsii dlya otsenki kholodostoykosti nekotorykh sortov tomatov). In: *Cell Biology and Plant Biotechnology (Kletchnaya biologiya i biotekhnologiya rasteniy)*. Minsk: Belarusian State University; 2013. p.100. [in Russian] (Лукьянич И.Д., Ломакова О.О. Методы гаметной селекции для оценки холодостойкости некоторых сортов томатов. В кн.: *Клеточная биология и биотехнология растений*. Минск: БГУ; 2013. С.100). URL: <http://elib.bsu.by/handle/123456789/33866> [дата обращения: 22.06.2022].
- Nelms B., Walbot V. Gametophyte genome activation occurs at pollen mitosis I in maize. *Science*. 2022;375(6579):424-429. DOI: 10.1126/science.abl7392
- Niu Y., Liu Z., He H., Han X., Qi Z., Yang Y. Gene expression and metabolic changes of *Momordica charantia* L. seedlings in response to low temperature stress. *PLoS ONE*. 2020;15(5):e0233130. DOI: 10.1371/journal.pone.0233130
- Petr F.C., Frey J. Genotypic correlation, dominance, and heritability of quantitative characters in oats. *Crop Science*. 1966;6(3):259-262. DOI: 10.2135/cropsci1966.0011183X000600030013x
- Rathod V., Behera T.K., Munshi A.D., Durgesh K., Jat G.S., Boopala Krishnan B.G., Sharma N. Pollen viability and in vitro pollen germination studies in *Momordica* species and their intra and interspecific hybrids. *International Journal of Chemical Studies*. 2018;6(6):32-40.
- Read S.M., Clarke A.E., Bacic A., Stimulation of growth of cultured *Nicotiana tabacum* W38 pollen tubes by poly(ethylene glycol) and Cu (II) salts. *Protoplasma*. 1993;177(1-2):1-14. DOI: 10.1007/BF01403393
- Rodchenko O.P., Skvortsova R.G. Evaluation of breeding material for resistance to low temperatures (Otsenka selektsionnogo materiala na ustoychivost k nizkim temperaturam). Irkutsk; 1981. [in Russian] (Родченко О.П., Скворцова Р.Г. Оценка селекционного материала на устойчивость к низким температурам. Иркутск; 1981).
- Rosbakh S., Poschod P. Minimal temperature of pollen germination controls species distribution along a temperature gradient. *Annals of Botany*. 2016;117(7):1111-1120. DOI: 10.1093/aob/mcw041
- Saeed F., Afzaal M., Niaz B., Arshad M.U., Tufail T., Hussain M.B., Javed A. Bitter melon (*Momordica charantia*): a natural



- healthy vegetable. *International Journal of Food Properties*. 2018;21(1):1270-1290. DOI: 10.1080/10942912.2018.1446023
- Schaefer H., Renner S.S. A three-genome phylogeny of *Momordica* (Cucurbitaceae) suggests seven returns from dioecy to monoecy and recent long-distance dispersal to Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2010;54(2):553-560. DOI: 10.1016/j.ympev.2009.08.006
- Shivanna K.R., Sawhney V.K., Polyethylene glycol improves the *in vitro* growth of *Brassica* pollen tubes without loss in germination. *Journal of Experimental Botany*. 1995;46(11):1771-1774. DOI: 10.1093/jxb/46.11.1771
- Simon E.W., Minchin A., McMenamin M.M., Smith J.M. The low temperature limit for seed germination. *New Phytologist*. 1976;77(2):301-311. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1976.tb01519.x
- Shvets D.Yu., Kuluev B.R. *Thladiantha dubia*: biology, habitat, distribution area and practical application. *Doklady Bashkirskogo universiteta = Reports of the Bashkir University*. 2017;2(5):725-735. [in Russian] (Швец Д.Ю., Кулуев Б.Р. Тладианта сомнительная: биология, ареал распространения, практическое применение. *Доклады Башкирского университета*. 2017;2(5):725-735).
- Steuter A.A., Mozafar A., Goodin J.R., Water potential of aqueous polyethylene glycol. *Plant Physiology*. 1981;67(1):64-67. DOI: 10.1104/pp.67.1.64
- Udovenko G.V. General requirements to methods and principles for diagnosing plant resistance to stresses (Общие требования к методам и принципам диагностики устойчивости растений к стрессам). In: Udovenko G.V. (ed.) *Diagnos-*
- tics of plant resistance to stressors: a methodological guide (Diagnostika ustoychivosti rasteniy k stressovym vozdeystviyam: metodicheskoye rukovodstvo)*. Leningrad: VIR; 1988. p.5-10. [in Russian] (Удовенко Г.В. Общие требования к методам и принципам диагностики устойчивости растений к стрессам. В кн.: *Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: методическое руководство* / под ред. Г.В. Удовенко. Ленинград: ВИР; 1988. С.5-10).
- Vinogradova V.V. Evaluation of cold resistance of vegetable and cucurbitaceous crops (Otsenka kholodostoykosti ovoshchnykh i tykvennykh kultur). In: Udovenko G.V. (ed.) *Diagnosics of plant resistance to stressors: a methodological guide (Diagnostika ustoychivosti rasteniy k stressovym vozdeystviyam: metodicheskoye rukovodstvo)*. Leningrad: VIR; 1988. p.75-85. [in Russian] (Виноградова В.В. Оценка холодостойкости овощных и тыквенных культур. В кн.: *Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: методическое руководство* / под ред. Г.В. Удовенко. Ленинград: ВИР; 1988. С.75-85).
- Zhang H.Q., Croes A.F. A new medium for pollen germination *in vitro*. *Acta Botanica Neerlandica*. 1982;31(1-2):113-119. DOI: 10.1111/j.1438-8677.1982.tb01597.x
- Zou C, Jiang W, Yu D. Male gametophyte-specific WRKY34 transcription factor mediates cold sensitivity of mature pollen in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*. 2010;61(14):3901-3914. DOI: 10.1093/jxb/erq204

#### Информация об авторе

**Юрий Валентинович Фотев**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, 630090 Россия, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101, Новосибирский государственный аграрный университет, 630039 Россия, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, fotev\_2009@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0299-3689>

#### Information about the author

**Yury V. Fotev**, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 101 Zolotodolinskaya St., Novosibirsk 630090, Russia, Novosibirsk State Agrarian University, 160 Dobrolyubova St., Novosibirsk 630039, Russia, fotev\_2009@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0299-3689>

Статья поступила в редакцию 05.03.2022; одобрена после рецензирования 20.06.2022; принята к публикации 06.09.2022. The article was submitted on 05.03.2022; approved after reviewing on 20.06.2022; accepted for publication on 06.09.2022.