

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ГАПЛОИДОВ В КЛЕТОЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ (ОБЗОР)

Н. В. Калинина, младший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции,
ORCID ID: 0000-0002-2305-4189;

С. Г. Головкин, младший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции,
ORCID ID: 0000-0002-2857-7210;

Е. В. Ионова, доктор сельскохозяйственных наук, врио зам. директора по науке,
ORCID ID: 0000-0002-2840-6219

ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»,
347740, Ростовская обл., г. Зерноград, Научный городок, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

Цель исследований – выявление роли гаплоидных растений в селекции злаковых культур, анализ методов получения гаплоидов *in vitro*, сравнение эффективности методов традиционной и клеточной селекции озимой пшеницы. В статье рассмотрены биотехнологические методы получения дигаплоидных линий, которые в значительной мере могут ускорить селекционный процесс в 1,5–2 раза и повысить качество получаемой продукции. Установлено, что селекция сельскохозяйственных культур, основанная на внутривидовой гибридизации и отборе, по-прежнему остается длительным и трудоемким процессом (10–12 лет). Дана характеристика таким методам, применяемым в условиях *in vitro*, как андрогенез в культуре изолированных пыльников и микроспор, гиногенез, отдаленная гибридизация с последующей селективной элиминацией хромосом. Представлено, что биотехнологические методы позволят селекционерам работать с необходимыми признаками, а полученные за один этап (год) высокопродуктивные и пластичные линии включать в скрещивания. Показаны основные этапы технологии получения гаплоидных растений в культуре пыльников зерновых культур: выращивание и отбор донорных растений, предобработка различными стрессовыми факторами, выделение пыльников и их культивирование в условиях *in vitro*, индуцирование эмбриогенеза, регенерация растений, удвоение числа хромосом растений-регенерантов. Рассмотрены некоторые факторы, контролируемые индукцию каллусогенеза, эмбриогенеза и регенерацию растений *in vitro* злаков. Таким образом, установлена эффективность клеточной селекции озимой пшеницы по сравнению с традиционными методами селекции.

Ключевые слова: озимая пшеница, клеточная селекция, гаплоид, дигаплоидная линия, андрогенез, гиногенез, отдаленная гибридизация, традиционная селекция.

Для цитирования: Калинина Н. В., Головкин С. Г., Ионова Е. В. Методы получения гаплоидов в клеточной селекции озимой пшеницы (обзор) // Зерновое хозяйство России. 2020. № 6(72). С. 56–63. DOI: 10.31367/2079-8725-2020-72-6-56-63.



THE METHODS OF OBTAINING HAPLOIDS IN THE CELL WINTER WHEAT BREEDING (A REVIEW)

N. V. Kalinina, junior researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0002-2305-4189;

S. G. Golovko, junior researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0002-2857-7210;

E. V. Ionova, Doctor of Agricultural Sciences, acting deputy director on Science,
ORCID ID: 0000-0002-2840-6219

Agricultural Research Center "Donskoy",
347740, Rostov region, Zernograd, Nauchny Gorodok, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

The purpose of the current study was to identify the role of haploid plants in the grain crops' breeding, to analyze the methods of obtaining haploids *in vitro*, and to compare the efficiency of the conventional and cell methods of winter wheat breeding. The current paper has considered the biotechnological methods of obtaining dihaploid lines, which could fasten the breeding process by 1.5–2 times and improve the quality of products. There has been established that the agricultural crops' breeding based on intraspecific hybridization and selection is still a long and labor consuming process (10–12 years). There has been given characteristics of such methods used *in vitro* as androgenesis in the isolated anthers and microspores, gynogenesis, distant hybridization followed by selective elimination of chromosomes. There has been established that biotechnological methods would allow breeders to work with the necessary traits, and the highly productive and adaptable lines obtained in a year should be included in hybridization. There have been shown the main stages of the technology for obtaining haploid plants in anthers of grain crops, namely a growing and selection of donor plants, pretreatment with various stress factors, isolation of anthers and their cultivation *in vitro*, inducing embryogenesis, plant regeneration, doubling the number of chromosomes of regenerant plants. There have been considered some factors controlling the induction of callusogenesis, embryoidogenesis and plant regeneration *in vitro* of cereals. Thus, there has been established an efficiency of cell breeding of winter wheat in comparison with conventional methods of breeding.

Keywords: winter wheat, cell breeding, haploid, dihaploid line, androgenesis, gynogenesis, distant hybridization, conventional breeding.

Введение. Зерновые культуры являются особенно важной группой сельскохозяйственных растений из-за их экономического и про-

довольственного значения в мире. Увеличение и стабилизация производства качественного зерна в значительной степени зависит от соз-

дания высокопродуктивных сортов, соответствующих классам сильных и ценных пшениц. Для эффективности и ускорения селекционного процесса селекционные программы требуют наличия разнообразного исходного материала и правильного его использования (Павлючук и др., 2013). Создание новых высокоурожайных сортов, сочетающих достаточно высокую и стабильную продуктивность, экологическую пластичность и устойчивость к комплексу стрессовых биотических и абиотических факторов среды, является постоянной задачей селекции. В решении данных вопросов актуальным является вовлечение в селекционный процесс биотехнологических методов, а именно использование гапло-биотехнологии, обусловленной преимуществом проведения эффективного отбора среди гомозиготных линий уже в первом поколении. Метод диплоидизированных гаплоидов может быть применен не только как один из способов создания ценного исходного материала, но и как прямой путь ускоренного выведения новых сортов, отвечающих требованиям современного производства (Давыдова, 1990).

Необходимость проведения таких работ связана с тем, что в процессе длительной селекции, ориентированной на высокую продуктивность и качество, произошло сильное, по сравнению с дикорастущими сородичами, обеднение генофонда культурных растений по генам, контролирующим признаки устойчивости к биотическим (вредителям и возбудителям болезней) и разным абиотическим факторам. Например, сорта мягкой пшеницы, в том числе возделываемые в разных регионах, стали однотипными по основным генам, ответственным за устойчивость к грибным патогенам. Развитие вирулентных патотипов грибов приводит к быстрому их распространению и масштабному поражению сортов (Першина, 2014). Кроме того, изменения климата, воздействие техногенных и антропогенных факторов приводят к изменениям условий выращивания культур, что требует создания сортов, устойчивых ко многим абиотическим стрессам, в том числе к засухе, затоплению, высоким и низким температурам, засолению и т. п. (Першина, 2014).

В мировой практике широкое распространение имеют гибриды F_1 , которые отличаются от сортов высокой выравненностью и урожайностью (Шмыкова и др., 2015). Создание гибридов требует использования гомозиготных родительских линий, получение которых традиционными методами – трудоемкий и длительный процесс (10–12 лет). В традиционной селекции отбор проводится по одному колосу или одному растению, а на проявление признака в сложной гибридной популяции оказывают влияние как внутривидовые взаимоотношения между растениями, так и различные эффекты взаимодействия генов, что делает отбор малоэффективным. Потомства диплоидизированных гаплоидов, представляющие линию и состоящие из нескольких растений,

легче оценивать и отбирать (Шмыкова и др., 2015; Уразалиев, 2015). Для решения этой проблемы большое значение имеет альтернативный метод создания гомозиготных линий из удвоенных гаплоидов (Wedzony et al., 2009).

Методы получения гаплоидов. Явление гаплоидии широко известно и играет большую роль в решении прикладных задач селекции. При гаплоидии возникают растения, имеющие в соматических клетках такое же количество хромосом, как и в гаметных клетках своего вида. Гаплоидные растения могут получаться спонтанно в природе, а также их можно получить экспериментально. Спонтанное возникновение гаплоидных растений наблюдается при естественном переопылении, фоновом облучении, резких перепадах температуры. Степень спонтанного возникновения гаплоидных растений очень низка, поэтому используют определенные технологии. Гаплоидные технологии способствуют: быстрому проявлению рецессивных признаков, так как у гаплоидных растений каждый ген представлен единственным аллелем; получению за сравнительно короткое время гомозиготных константных гаплоидных линий, сохраняющих в генотипе признаки родительских форм; уменьшению объема популяции для выделения растений с целевой комбинацией генов, так как у гаплоидов менее сложное генетическое расщепление. Это значительно облегчает отбор ценных генотипов и позволяет сократить сроки создания новых сортов (Дьячук и др., 2019; Уразалиев, 2015).

Опубликованы данные о получении дигаплоидов более 300 изучаемых видов растений (Germana, 2011). Удвоенные гаплоиды, полученные *in vitro*, могут применяться не только в практической селекции, но и в генетической инженерии, а также клеточной селекции растений. По некоторым данным (Weyen, 2009) несколько сот тысяч дигаплоидных линий пшеницы производится ежегодно в мире. Большинство новых зарегистрированных сортов ячменя в Германии созданы с использованием гаплоидной технологии и не менее 50% площадей в 2006–2007 гг. засевались сортами ярового и озимого ячменя, полученного с использованием гаплоидной технологии.

Гаплоидия предоставляет эффективный инструмент исследований для изучения индуцированного мутагенеза и генетической трансформации. Платформа дигаплоидной технологии предлагает быстрый способ получения действительно гомозиготной линии, которая помогает ускорить селекционные программы сельскохозяйственных культур, где однородность является абсолютно необходимым параметром для быстрого развития сельскохозяйственных культур (Уразалиев, 2015). Гаплоидные растения и полученные гомозиготные линии используются в нескольких областях фундаментальных исследований, в таких как цитогенетика, молекулярная генетика, эволюция культур, биотехнология растений и тра-

диционная селекция растений (Touraev et al., 2009).

Для эффективного использования гаплоидов в селекционных программах, они должны удовлетворять следующим критериям: эффективности получения дигаплоидных линий для любых генотипов, линии должны отражать спектр генетической изменчивости гибрида и быть генетически стабильны (Wedzony et al., 1986). Существуют различные методы получения гаплоидных растений, однако их массовое получение стало возможным с развитием методов культивирования растительных тканей *in vitro* (Дьячук и др., 2019).

Основными и наиболее изученными методами биотехнологии, повышающими эффективность селекционного процесса, ускоряющими получение гаплоидов и дигаплоидов, являются: андрогенез в культуре изолированных пыльников и микроспор, гиногенез, отдаленная гибридизация с последующей селективной элиминацией хромосом (Дьячук и др., 2019; Уразалиев, 2013).

Андрогенез – однополое размножение, при котором растение возникает из микроспоры или пыльцевого зерна без участия яйцеклетки (Картель и др., 1999). При использовании данного метода у растений изолируют пыльники, содержащие микроспоры, и переносят на среду культивирования, часть из них выживает и развивается (Спивак и др., 2015).

Уникальность метода культуры пыльников состоит в том, что на сегодняшний день это единственный способ закрепить ценный ге-

терозисный эффект гибридов 1-го поколения (Круглова, 2009).

Большое количество исследований в области гаплоидных технологий проводятся с зерновыми культурами. Однако злаки являются достаточно сложными объектами в получении гаплоидов, это прежде всего касается пшеницы. Для многих злаковых важнейшей проблемой получения гаплоидов в культуре пыльников остается высокая доля альбиносных регенерантов. Кроме того, применение гаплоидных биотехнологий сдерживается такими ограничениями, как зависимость от генотипа, низкая частота регенерации растений и низкая фертильность после дигаплоидизации. Для получения достаточного количества гаплоидов необходимо учитывать факторы, непосредственно влияющие на андрогенез и регенерацию растений в культуре пыльников: условия выращивания донорных растений, генотип, способы и продолжительность предобработки соцветий или пыльников, стадия развития пыльника и микроспор, состав питательных сред, условия культивирования.

Универсальная для зерновых культур технология получения гаплоидных растений в культуре пыльников отсутствует. Тем не менее она включает следующие основные этапы: выращивание и отбор донорных растений, предобработку различными стрессовыми факторами, выделение пыльников и их культивирование в условиях *in vitro*, индуцирование эмбриогенеза, регенерацию растений, удвоение числа хромосом растений-регенерантов (рис. 1).

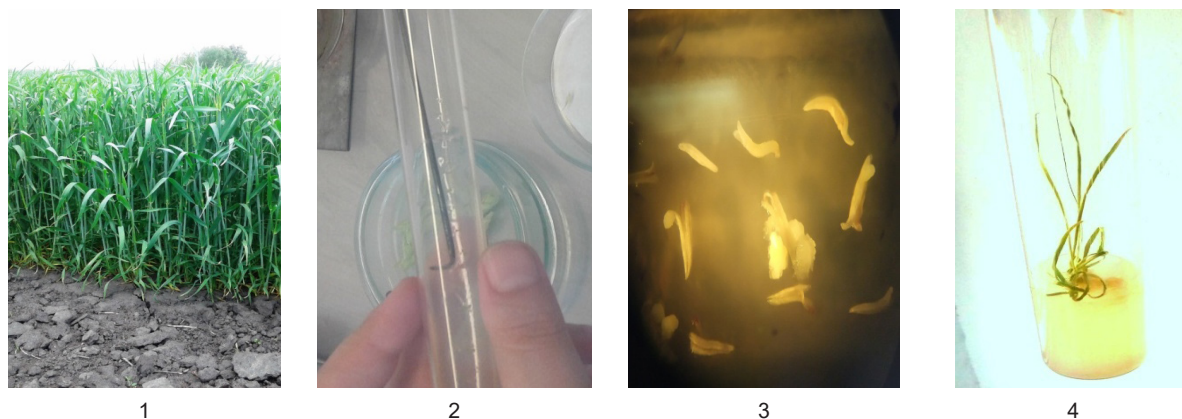


Рис. 1. Этапы получения гаплоидных растений в культуре пыльников озимой пшеницы:

- 1 – морфологическая оценка и отбор донорных растений в полевых условиях;
- 2 – инокуляция пыльников на питательную среду *in vitro*; 3 – формирование эмбриоподобных структур;
- 4 – образование растения-регенеранта

Fig. 1. Stages of obtaining haploid plants in the anthers of winter wheat:

- 1 – morphological estimation and selection of donor plants in the field;
- 2 – inoculation of anthers on a nutrient medium *in vitro*; 3 – formation of embryo-like structures;
- 4 – formation of a regenerant plant

Принцип метода культуры пыльников основан на биологическом феномене андроклинии (андрогенеза), который заключается в том, что, подвергая гаметы химическому и/или физическому стрессу, возможно переключить

их путь развития с гаметофитного на спорофитный. Если индукция эмбриогенеза прошла успешно, гаметная клетка начинает делиться, образуя зародыш, из которого в последствие развивается растение, несущее гаплоидный

набор хромосом, так же как и исходная гамета. Удвоение хромосом гаплоидных растений позволяет быстро получить дигаплоидное растение, являющееся гомозиготным по всем генам.

Успешная индукция андрогенеза в культуре пыльников зависит от состояния развития микроспор пыльника донорного растения. По отношению к злакам достоверно установлено, что такой инициальной клеткой является микроспора в сильновакуолизированной одноядерной стадии развития (Круглова, 1999; Суханов и др., 1981). Способность такой микроспоры к смене программы развития на спорофитную определяется ее цитологическими особенностями: интерфазным состоянием, структурным сходством с зиготой растений и высоким уровнем транскрипционной активности ядра (Круглова, 1999; Сельдиминова и др., 2014).

Морфофизиологические признаки, служащие для предварительной оценки донорных растений пшеницы на содержание пыльников с сильновакуолизированными одноядерными микроспорами в зависимости от методики, таковы: побеги, у которых влагалище предпоследнего листа (последний лист флаговый) находится на уровне центральной части колоса (± 1 см) (Суханов и др., 1981), или растение находится в фазе стеблевания на VII этапе органогенеза (Куперман, 1977), кончик колоса в листовой обертке располагается строго на 1/4 расстояния от основания флагового листа (последний лист) до основания предпоследнего листа. Данный признак у каждого сорта и линии будет своим (Круглова, 2009).

Предварительное стрессовое воздействие на пыльники рассматривается многими авторами как принципиальная необходимость индукции андрогенеза. Наибольшее применение получила обработка донорных растений пониженными положительными температурами (2–4 °C) в течение 2–7 дней, а иногда и 2–3 недель. Действию пониженных температур подвергают побеги, соцветия и изолированные пыльники, введенные в культуру. Часто холодовой стресс сочетают с осмотическим стрессом (голоданием) (Круглова, 2009).

У злаков при воздействии холодной обработки микроспоры свободно выпадают в полость гнезда пыльника, в связи с чем блокируется поступление питательных веществ и наступает голодание микроспор. Гаметофитное развитие микроспор в условиях голодания блокируется и включается спорофитное (Дьячук и др., 2019; Акинина и др., 2020).

Состав питательных сред, включая органические и неорганические компоненты и регуляторы роста, также относится к числу основных факторов, влияющих на андрогенез пшеницы и других культур. Хорошо известно, что решающую роль в морфогенезе растений играют регуляторы роста. Влияние экзогенных регуляторов роста в составе питательной среды на индукцию андрогенеза и последующую регенерацию растений в культуре *in vitro*

изучено достаточно хорошо (Круглова, 1999). Данные же о роли эндогенных регуляторов роста в формировании и развитии эмбриоидов крайне немногочисленны. Методологический подход, состоящий в выявлении и использовании оптимальных концентраций ауксинов, расценивается как важнейший фактор, определяющий индукцию каллусогенеза, эмбриогенеза и регенерации в культуре пыльников злаков (Сельдиминова и др., 2014).

Эффективность данного метода оценивается по частоте получения жизнеспособных зеленых растений, из которых в конечном счете будут получены необходимые для дальнейшей работы дигаплоидные линии (Першина и др., 2013). Согласно проведенным исследованиям при изучении большого числа сортов и гибридов мягкой пшеницы 40–70% генотипов способны к регенерации растений с частотой 0,4–3,6% (Голованова, 2014). Это обусловлено тем, что каждый из основных этапов андрогенеза: образование эмбриоидов, индукция к регенерации, развитие зеленых и альбиносных проростков – находится под влиянием ядерного генома и цитоплазмы. Однако определяющим является влияние генотипа на способность пыльников к андрогенезу (Першина и др., 2013).

Метод изолированных микроспор является одним из наиболее перспективных, его плюсы заключаются в том, что микроспоры могут быть выделены в больших количествах, обеспечивая большое количество потенциально эмбриогенных одиночных гаплоидных клеток. Прямой доступ к единственной клетке и формирование истинного эмбриоида делают культуру микроспор идеальной системой для исследования эмбриогенеза *in vitro*, аспектов биологии развития растений (Reynolds, 1997). Проблема данного метода в довольно большом проценте выхода бесхлорофильных проростков (альбиносов), которая значительно влияет на результаты селекционных программ за счет снижения частоты регенерации зеленых проростков (Kasha et al., 2001).

Гиногенез – получение гаплоидов в культуре женского гаметофита (Bohanec, 2009.). Это может быть достигнуто при культивировании *in vitro* различных неопыленных частей цветка, таких как семязпочки, завязи или целые бутонны. У растений с мужской стерильностью культивирование неоплодотворенных семязпочек является единственной возможностью получения гаплоидов. Женский гаметофит может быть источником получения гаплоидов и у растений с низким морфогенетическим потенциалом каллусной ткани, либо если каллусная ткань или пыльца регенерирует растения-альбиносы. Гиногенез чаще применяется в селекции лука и сахарной свеклы. У таких растений, как, например, ячмень и рис, индукция зеленых растений намного выше при гиногенезе по сравнению с андрогенезом (Yang et al., 1982).

Отдаленная гибридизация – получение дигаплоидных растений методом опыления

пыльцой растений других видов с селективной элиминацией хромосом чужеродного вида-опылителя в комбинации с обработкой фитогормонами и последующей регенерацией целого растения из эмбриоида (Hussain et al., 2012). В экспериментальных условиях скрещивания между разными видами используют для интрогрессии в геном культурных растений отдельных хромосом или их сегментов от других культурных видов либо дикорастущих сорочидей с целью создания адаптивных и продуктивных форм для селекции (Степочкин и др., 2012). Эффективность создания жизнеспособных и фертильных генотипов при отдаленной гибридизации определяется результатами взаимодействия между чужеродными ядерными и цитоплазматическими геномами, функционирующими в одном организме (Степочкин и др., 2012). Одним из основных преимуществ метода селективной элиминации хромосом в сравнении с культурой пыльников у злаков являются отсутствие альбиносных растений и генетическая стабильность дигаплоидных линий (Devaux et al., 2005). Несовместимость, проявляющаяся на постгамной стадии, ингибирует нормальное развитие гибридных семян. Одно из проявлений постгамной несовместимости –

отсутствие развития эндосперма, приводящее к голоданию зародыша и его последующей гибели. Своевременная изоляция зародыша и его культивирование на искусственной питательной среде обеспечивают получение жизнеспособных растений в отдаленных скрещиваниях (Дьячук и др., 2019).

В качестве видов-опылителей при получении гаплоидов пшеницы методом отдаленной гибридизации возможно использование пыльцы луковичного ячменя, кукурузы, африканского проса, сорго.

Скрещивание пшеницы с луковичным ячменем ограничивается небольшим числом отзывчивых генотипов из-за чувствительности пыльцы к генам – ингибиторам скрещиваемости. Более успешная индукция гаплоидов у большинства пшеничных генотипов, в том числе у трудно отзывчивых в культуре пыльников *in vitro*, достигнута при использовании в качестве опылителя кукурузы – около 50% гаплоидных зародышей (Дьячук и др., 2019).

Заклучение. При сравнении эффективности схем традиционной и клеточной селекции озимой пшеницы показаны очевидные преимущества гаплоидной технологии (рис. 2) (Шумилина, 2015).

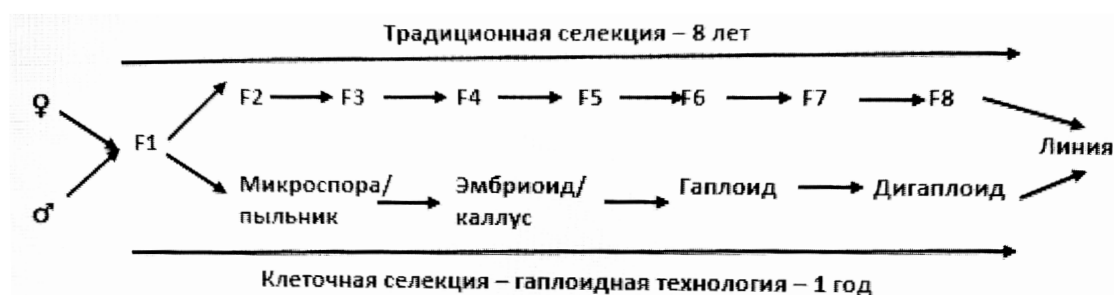


Рис. 2. Сравнительная схема классической селекции и гаплоидной технологии культурных растений
Fig. 2. Comparative scheme of the conventional breeding and haploid technology of agricultural plants

В целях сокращения циклов размножения предпочтительнее получать дигаплоиды от гибридов 1-го поколения (F_1). Кроме того, использование F_1 гибридов для получения гаплоидов позволяет выделить наилучший генотип и зафиксировать его путем удвоения хромосом. Ускорение селекционного процесса, благодаря применению гаплоидных технологий, позволит сократить время создания новых сортов растений на 4–6 лет, ускорить сортосмену, сэкономить денежные средства на создание сорта.

Усовершенствования, приводящие к более или менее эффективным технологиям, изданы многими авторами (Germana, 2011). Вышеописанные методы получения гаплоидов используются повсеместно в селекции и программах исследования во всем мире. Но необходимо проводить дальнейшие исследования,

чтобы преодолеть зависимость от генотипа, альбинизм и низкую фертильность. Поскольку методы получения гаплоидов становятся более эффективными, необходимо взаимодействовать с другими исследовательскими лабораториями и активно внедряться в селекционные программы научно-исследовательских институтов.

В России незначительное число лабораторий занимаются разработкой методик получения гаплоидных растений. Изменение генотипа, различный отклик генотипов к условиям культивирования и роста затрудняют разработку единой методики культивирования, подходящей для всех генотипов. Тем не менее существующие в настоящее время системы эффективны для большинства генотипов зерновых культур и могут быть использованы в практической селекции.

Библиографические ссылки

1. Акинина В. Н., Дьячук Т. И., Жилин С. В., Калашникова Э. В. Методы культуры ткани *in vitro* для создания исходного материала для селекции тритикале в Поволжье // Зерновое хозяйство России. 2020. № 1(67). С. 64–68. DOI: 10.31367/2079-8725-2020-67-1-64-68.

2. Голованова И. В. Экспериментальная гаплоидия у мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: XIII Междунар. науч.-практ. конференция. Барнаул, 2014. С. 60–63.
3. Давыдова Н. В. Оценка исходного материала, используемого в селекции яровой пшеницы // Методы интенсификации селекционного процесса. Одесса, 1990. С. 1–4.
4. Дьячук Т. И., Хомякова О. В., Акинина В. Н., Кибкало И. А., Поминов А. В. Микроспоровый эмбриогенез *in vitro* – роль стрессов // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. № 23(1). С. 86–94. DOI: 10.18699/VJ19.466.
5. Дьячук Т. И., Акинина В. Н., Хомякова О. В., Калашникова Э. В. Отдаленная гибридизация как метод получения гаплоидных растений у злаков // Биотехнология и селекция растений. 2019. № 2(2). С. 44–52. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-2-44-52.
6. Картель Н. А., Макеева Е. Н., Мезенко А. М. Генетика: энциклопедический словарь. Минск: Тэхналогія, 1999. 448 с.
7. Круглова Н. Н. Инновационная биотехнология андроклиной гаплоидии яровой мягкой пшеницы: эмбриологический подход // Аграрная Россия. 2009. № 9. С. 34–38.
8. Круглова Н. Н. Периодизация развития пыльника злаков как методологический аспект изучения андрогенеза *in vitro* // Изв. РАН. Серия биол. 1999. № 3. С. 275–281.
9. Куперман Ф. М. Морфофизиология растений. М.: Изд-во МГУ, 1977. 256 с.
10. Павлючук С. И., Браткова Л. Г. Андрогенез озимой пшеницы и тритикале в культуре пыльников ГНУ СНИИСХ РАСХН // Сб. науч. трудов Ставропольского НИИ животноводства и кормопроизводства. 2013. С. 213–216.
11. Першина Л. А., Осадчая Т. С., Бадаева Е. Д., Белан И. А., Россеева Л. П. Изучение особенностей андрогенеза в культуре пыльников сортов и перспективной формы яровой мягкой пшеницы Западносибирской селекции, различающихся наличием или отсутствием пшенично-чужеродных транслокаций // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17, № 1. С. 40–48.
12. Першина Л. А. Хромосомная инженерия растений – направление биотехнологии // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 18, № 1. С. 138–146.
13. Сельдиминова О. А., Круглова Н. Н. Андроклиный эмбриогенез *in vitro* злаков // Успехи современной биологии. 2014. Т. 134, № 5. С. 476–487.
14. Степочкин П. И., Пономаренко В. И., Першина Л. А., Осадчая Т. С., Трубачеева Н. В. Использование отдаленной гибридизации для создания селекционного материала озимой пшеницы // Достижения науки и техники АПК: ежемесячный теоретический и научно-практический журнал. 2012. № 6. С. 37–38.
15. Уразалиев К. Р. Гаплоидные технологии в селекции растений // Биотехнология. Теория и практика. 2015. № 3. С. 33–43. DOI: 10.11134/btp.3.2015.4.
16. Уразалиев К. Р., Орсини Х. М., Абекова А. М., Базылова Т. А., Даниярова А. К. Ускорение селекции пшеницы с использованием дигаплоидов, полученных методом культуры микроспор // KazNU Bulletin. Ecology series. 2013. № 2/2. С. 11–16.
17. Шмыкова Н. А., Химич Г. А., Коротцева И. Б., Домблides Е. А. Перспективы получения растений семейства *Cucurbitaceae* L. // Овощи России. 2015. № 3–4. С. 28–31.
18. Шумилина Д. В. Гаплоидия как метод ускоренной селекции с/х растений // Russian Agricultural Science Review. 2015. Т. 6, № 6-2. С. 22–24.
19. Bohanec B. Doubled Haploids via Gynogenesis // Advanced in haploid production in higher plants / ed. A. Touraev, B. P. Foster, E. M. Jain // SpringerScience + BusinessMedia B. V. 2009. Pp. 47–65.
20. Devaux P., Pickering R. Haploids in the improvement of Poaceae // in: Biotechnology in Agriculture and Forestry. 2005. № 56. Pp. 215–242. DOI: 10.1007/3-54026889-8_11.
21. Germana M. A. Anther culture for haploid and doubled haploid production // Plant Cell Tiss Org Cult. 2011. Vol. 104. Pp. 283–300.
22. Hussain B., Muhammad A. K., Qurban A., Shadab S. Double Haploid Production in Wheat Through Microspore Culture And Wheat X Maize Crossing System: An Overview // International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences. 2012. Vol. 6(5). Pp. 332–344.
23. Kasha K. J., Simion E., Oro R., Yao Q. A., Hu T. C., Carlson A. R. An improved *in vitro* technique for isolated microspore culture of barley // Euphytica. 2001. Vol. 120. Pp. 379–385.
24. Reynolds T. L. Pollen embryogenesis // Plant Mol. Biol. 1997. Vol. 33. Pp. 1–10.
25. Touraev A., Forster B. P., Jain S. M. Advances in haploid production in higher plants // SpringerScience + BusinessMedia B. V. 2009. 347 p.
26. Wedzony M., Foster B. P., Zur I., Golemić E., Szechynska-Hebda M., Dubas E., Gotebiowska G. Progress in doubled haploid technology in higher plants // Advanced in haploid production in higher plants / ed. A. Touraev, B. P. Foster, E. M. Jain // SpringerScience + BusinessMedia B. V. 2009. Pp. 1–35.
27. Weyen J. Barley and wheat doubled haploids in breeding // Advanced in haploid production in higher plants / ed. A. Touraev, B. P. Foster, E. M. Jain // SpringerScience + BusinessMedia B. V. 2009. Pp. 179–189.
28. Yang H. Y., Zhou C. *In vitro* induction of haploid plants from unpollinated ovaries and ovules // Theor Appl Genet. 1982. Vol. 63(2). Pp. 97–104.

References

1. Akinina V. N., D'yachuk T. I., Zhilin S. V., Kalashnikova E. V. Metody kul'tury tkani *in vitro* dlya sozdaniya iskhodnogo materiala dlya selekcii tritikale v Povolzh'e [Cultivation technique of tissues *in vitro* to develop an initial material for triticale breeding in the Volga region] // Zernovoe hozyajstvo Rossii. 2020. № 1(67). S. 64–68. DOI: 10.31367/2079-8725-2020-67-1-64-68.

2. Golovanova I. V. Eksperimental'naya gaploidiya u myagkoj pshenicy *Triticum aestivum* L. [Experimental haploidy in bread wheat *Triticum aestivum* L.] // Problemy botaniki Yuzhnoj Sibiri i Mongolii: XIII Mezhdunar. nauch.-prakt. konferenciya. Barnaul, 2014. S. 60–63.
3. Davydova N. V. Ocenka iskhodnogo materiala, ispol'zuemogo v selekcii yarovoj pshenicy [Estimation of the source material used in spring wheat breeding] // Metody intensifikacii selekcionnogo processa. Odessa, 1990. S. 1–4.
4. D'yachuk T. I., Homyakova O. V., Akinina V. N., Kibkalo I. A., Pominov A. V. Mikrosporovyy embriogenez *in vitro* – rol' stressov [Microspore embryogenesis *in vitro*, the role of stress] // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii. 2019. № 23(1). S. 86–94. DOI: 10.18699/VJ19.466.
5. D'yachuk T. I., Akinina V. N., Homyakova O. V., Kalashnikova E. V. Otdalennaya gibrizatsiya kak metod polucheniya gaploidnyh rastenij u zlakov [Distant hybridization as a method of obtaining haploid plants in cereals] // Biotehnologiya i selekciya rastenij. 2019. № 2(2). C. 44–52. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-2-44-52.
6. Kartel' N. A., Makeeva E. N., Mezenko A. M. Genetika: enciklopedicheskij slovar' [Genetics: an encyclopedic dictionary]. Minsk: Tekhnologiya, 1999. 448 s.
7. Kruglova N. N. Innovacionnaya biotehnologiya androklinoj gaploidii yarovoj myagkoj pshenicy: embriologicheskij podhod [Innovative biotechnology of androclinic haploidy of spring bread wheat: embryological approach] // Agrarnaya Rossiya. 2009. № 9. S. 34–38.
8. Kruglova N. N. Periodizatsiya razvitiya pyl'nika zlakov kak metodologicheskij aspekt izucheniya androgeneza *in vitro* [Periodization of the anther development of cereals as a methodological aspect of the study of androgenesis *in vitro*] // Izv. RAN. Seriya biol. 1999. № 3. S. 275–281.
9. Kuperman F. M. Morfofiziologiya rastenij [Morphophysiology of plants]. M.: Izd-vo MGU, 1977. 256 s.
10. Pavlyuchuk S. I., Bratkova L. G. Androgenoz ozimoj pshenicy i tritikale v kul'ture pyl'nikov GNU SNIISKH RASKHN [Androgenesis of winter wheat and triticale in the anthers of the SSIA of the RAAS] // Sb. nauch. trudov Stavropol'skogo NII zhivotnovodstva i kormoproizvodstva. 2013. S. 213–216.
11. Pershina L. A., Osadchaya T. S., Badaeva E. D., Belan I. A., Rosseeva L. P. Izuchenie osobennostej androgeneza v kul'ture pyl'nikov sortov i perspektivnoj formy yarovoj myagkoj pshenicy Zapadnosibirskoj selekcii, razlichayushchihsia nalichiem ili otsutstviem pshenichno-chuzherodnyh translokacij [The study of the peculiarities of androgenesis in the anther culture of varieties and promising forms of spring bread wheat of the West Siberian breeding, differing in the presence or absence of wheat-alien translocations] // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii. 2013. T. 17, № 1. S. 40–48.
12. Pershina L. A. Hromosomnaya inzheneriya rastenij – napravlenie biotehnologii [Chromosomal engineering of plants is a direction of biotechnology] // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii. 2014. T. 18, № 1. S. 138–146.
13. Sel'dimirova O. A., Kruglova N. N. Androklinoj embriogenez *in vitro* zlakov [Androclinoj embryogenesis *in vitro* of cereals] // Uspekhi sovremennoj biologii. 2014. T. 134, № 5. S. 476–487.
14. Stepochkin P. I., Ponomarenko V. I., Pershina L. A., Osadchaya T. S., Trubacheeva N. V. Ispol'zovanie otdalynnoj gibrizatsii dlya sozdaniya selekcionnogo materiala ozimoj pshenicy [The use of distant hybridization to develop winter wheat breeding material] // Dostizheniya nauki i tekhniki APK: ezhemesyachnyj teoreticheskij i nauchno-prakticheskij zhurnal. 2012. № 6. S. 37–38.
15. Urazaliev K. R. Gaploidnye tekhnologii v selekcii rastenij [Haploid technologies in plant breeding] // Biotehnologiya. Teoriya i praktika. 2015. № 3. S. 33–43. DOI: 10.11134/btp.3.2015.4.
16. Urazaliev K. R., Orsini H. M., Abekova A. M., Bazylova T. A., Daniyarova A. K. Uskorenie selekcii pshenicy s ispol'zovaniem digaploidov, poluchennyh metodom kul'tury mikrospor [Acceleration of wheat breeding using dihaploids obtained by microspores] // KazNU Bulletin. Ecology series. 2013. № 2/2. S. 11–16.
17. Shmykova N. A., Himich G. A., Korotceva I. B., Domblides E. A. Perspektivy polucheniya rastenij semejstva *Cucurbitaceae* L. [Prospects for developing plants of the *Cucurbitaceae* L. family] // Ovoshchi Rossii. 2015. № 3-4. S. 28–31.
18. Shumilina D. V. Gaploidiya kak metod uskorennoj selekcii s/h rastenij [Haploidy as a method of accelerated breeding of agricultural plants] // Russian Agricultural Science Review. 2015. T. 6, № 6-2. S. 22–24.
19. Bohanec B. Doubled Haploids via Gynogenesis // Advanced in haploid production in higher plants / ed. A. Touraev, B. P. Foster, E. M. Jain // SpringerScience + BusinessMedia B. V. 2009. Pp. 47–65.
20. Devaux P., Pickering R. Haploids in the improvement of Poaceae // in: Biotechnology in Agriculture and Forestry. 2005. № 56. Pp. 215–242. DOI: 10.1007/3-54026889-8_11.
21. Germana M. A. Anther culture for haploid and doubled haploid production // Plant Cell Tiss Org Cult. 2011. Vol. 104. Pp. 283–300.
22. Hussain B., Muhammad A. K., Qurban A., Shadab S. Double Haploid Production in Wheat Through Microspore Culture And Wheat X Maize Crossing System: An Overview // International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences. 2012. Vol. 6(5). Pp. 332–344.
23. Kasha K. J., Simion E., Oro R., Yao Q. A., Hu T. C., Carlson A. R. An improved *in vitro* technique for isolated microspore culture of barley // Euphytica. 2001. Vol. 120. Pp. 379–385.
24. Reynolds T. L. Pollen embryogenesis // Plant Mol. Biol. 1997. Vol. 33. Pp. 1–10.
25. Touraev A., Forster B. P., Jain S. M. Advances in haploid production in higher plants // SpringerScience + BusinessMedia B. V. 2009. 347 p.
26. Wedzony M., Foster B. P., Zur I., Golemiak E., Szechynska-Hebda M., Dubas E., Gotebiowska G. Progress in doubled haploid technology in higher plants // Advanced in haploid production in higher plants / ed. A. Touraev, B. P. Foster, E. M. Jain // SpringerScience + BusinessMedia B. V. 2009. Pp. 1–35.
27. Weyen J. Barley and wheat doubled haploids in breeding // Advanced in haploid production in higher plants / ed. A. Touraev, B. P. Foster, E. M. Jain // SpringerScience + BusinessMedia B. V. 2009. Pp. 179–189.

28. Yang H. Y., Zhou C. *In vitro* induction of haploid plants from unpollinated ovaries and ovules // Theor Appl Genet. 1982. Vol. 63(2). Pp. 97–104.

Поступила: 02.10.20; принята к публикации: 20.10.20.

Критерии авторства. Авторы статьи подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторский вклад. ИONOBA E. B. – концептуализация проблемы; КАЛИНИНА Н. В., ГОЛОВКО С. Г. – сбор, подготовка и обработка информации, подготовка рукописи.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.