

ГАПЛОИДИЯ ТРИТИКАЛЕ *IN VITRO* (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Т.И. Дьячук, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0001-7420-0521;
В.Н. Акинина, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0003-3661-9246;
С.В. Жилин, лаборант-исследователь лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0001-6181-5279;
О.В. Хомякова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0002-5218-6076;
Е.К. Барнашова, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0003-0384-9571;
Э.В. Калашникова, младший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0002-3870-0542;
В.П. Окладникова, младший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0003-3071-0188
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока»,
410010, г. Саратов, ул. Тулайкова, 7; e-mail: cell_selection@list.ru

Тритикале ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) – рукотворный вид злака, полученный от скрещивания пшеницы с рожью. На современном этапе тритикале является коммерческой культурой многоцелевого назначения, обладающей огромным потенциалом в качестве продукта питания человека и корма для животных. Посевные площади новой зерновой культуры в 2018 году в мире достигали 4 млн га, производство зерна – около 14 млн т. Происходящие изменения климата, быстрая эволюция патогенов, а также требования современного рынка диктуют необходимость ускоренного создания сортов при одновременном снижении затрат на их получение. Производство удвоенных гаплоидов позволяет сокращать сроки создания гомозиготных линий в среднем на 5–7 лет. Для массового получения гаплоидных растений тритикале *in vitro* используют два метода – культура пыльников/микроспор и отдаленная гибридизация с последующей селективной элиминацией хромосом вида-опылителя. Критическими факторами успеха получения гаплоидов в культуре пыльников являются генотип, условия выращивания донорных растений, стадия развития микроспор, стрессовые воздействия на колосья или пыльники и состав питательных сред. Неразрешенными проблемами метода остаются генотипическая зависимость, высокая частота альбинизма и наличие анеуплоидов в потомствах андрогенных растений. Геном ржи более часто вовлекается в хромосомные преобразования, чем геном пшеницы. Большинство анеуплоидов являются нуллисомиками, чаще всего по 2R и 5R хромосомам. Растения-нуллисомики по 2R и 5R хромосомам имеют меньшее число колосков в колосе и меньшее число зерен на колос. Для получения гаплоидов методом селективной элиминации хромосом при отдаленной гибридизации с наибольшим успехом используют виды, пыльца которых нечувствительна к действию Kt-генов – кукуруза (*Zea mays* L.) и дикая злаковая трава императа цилиндрическая (*Imperata cylindrica* L.). Преимуществами метода являются меньшая генотипическая зависимость, отсутствие альбинозных растений, генетическая стабильность регенерантов и сниженные затраты на получение гаплоидных растений. Продолжительность цветения императы цилиндрической и отсутствие необходимости совмещения сроков цветения родителей обеспечивают экономичность и эффективность использования этого вида при получении гаплоидных растений тритикале. Цель настоящего обзора – охарактеризовать методы массового получения гаплоидных растений тритикале, описать их преимущества и недостатки при использовании в селекционном процессе.

Ключевые слова: тритикале, селекция, гаплоиды, культура пыльников, селективная элиминация хромосом, эмбриокультура.

Для цитирования: Дьячук Т.И., Акинина В.Н., Жилин С.В., Хомякова О.В., Барнашова Е.К., Калашникова Э.В., Окладникова В.П. Гаплоидия тритикале *In vitro* (обзор литературы) // Зерновое хозяйство России. 2022. № 1(79). С. 39–45. DOI: 10.31367/2079-8725-2022-79-1-39-45.



TRITICALE HAPLOIDY IN VITRO (LITERATURE REVIEW)

T.I. Diyachuk, Doctor of Biological Sciences, main researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0001-7420-0521;
V.N. Akinina, Candidate of Biological Sciences, senior researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0003-3661-9246;
S.V. Zhilin, research assistant of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0001-6181-5279;
O.V. Khomyakova, Candidate of Biological Sciences, senior researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0002-5218-6076;
E.K. Barnashova, Candidate of Biological Sciences, researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0003-0384-9571;
E.V. Kalashnikova, junior researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0002-3870-0542;
V.P. Okladnikova, junior researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0003-3071-0188
Federal State Budget Scientific Institution "Federal Agricultural Research Center of South-East",
410010, Saratov, Tulaykov Str., 7; e-mail: cell_selection@list.ru

Triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) is a hybridized grain crop developed from wheat and rye crossings. Today, triticale is a multipurpose commercial grain crop with great potential as a human food and animal feed. The sown area of the new grain crop in the world reached 4 million hectares in 2018, grain production was about 14 million tons. The current climate change, the rapid evolution of pathogens, as well as the requirements of the modern market dictate the necessity for accelerated development of varieties while reducing the cost of their development. The production of double haploids makes it possible to reduce the time required for the development of homozygous lines by an average of 5–7 years. For the mass production of haploid triticale plants *in vitro*, there are used two methods, namely anther/microspore culture and distant hybridization followed by selective chromosome elimination of the pollinator. The most critical factors for the success of developing haploids in anther culture are a genotype, growing conditions of donor plants, a microspore development stage, stress effects on heads or anthers, and a nutrient media. Among the unresolved problems of the method are a genotypic dependence, a high incidence of albinism and a presence of aneuploids in the androgenic plant progeny. The rye genome is more often involved in chromosomal transformations than the wheat genome. Most aneuploids are nullisomics, most often on the 2R and 5R chromosomes. Nullisomic plants for 2R and 5R chromosomes have fewer number of spikelets per head and fewer number of kernels per head. In order to develop haploids by the method of selective chromosome elimination during distant hybridization, there have been successfully used such grain crops whose pollen is insensitive to Kr-genes, as maize (*Zea mays* L.) and wild cereal grass 'Imperata Cylindrical' (*Imperata cylindrical* L.). The advantages of the method are less genotypic dependence, absence of albino plants, genetic stability of regenerants, and reduced costs for developing haploid plants. The length of flowering period of 'Imperata Cylindrical' and the absence of the need to combine the timing of flowering period of the parents ensure the economy and efficiency of using this species when developing haploid triticale plants. The purpose of the current review was to characterize the methods of mass development of haploid triticale plants, to describe their advantages and disadvantages when being used in the breeding process.

Keywords: triticale, breeding, haploids, anther culture, selective chromosome elimination, embryoculture.

Введение. Тритикале (пшенично-ржаной амфидиплоид) – синтетический вид растений, в клетках которого функционируют хромосомы пшеницы и ржи. Новая зерновая культура воплотила в себе экологическую пластичность ржи и потенциал зерновой продуктивности пшеницы. На современном этапе тритикале можно считать жизнеспособной коммерческой культурой многоцелевого назначения, обладающей огромным потенциалом в качестве продукта питания человека и корма для животных. В условиях нарастания аридизации и континентальности климата проявилась высокая конкурентная способность этого вида по сравнению с другими злаками. Мировые площади в 2018 году под новой культурой достигли 4 млн га. По мнению ведущих специалистов, в ближайшем будущем тритикале может стать одной из ведущих кормовых и продовольственных культур (Грабовец и Крохмаль, 2018; Mergoum et al., 2019).

Большинство коммерческих сортов тритикале получены традиционными методами селекции. Одной из главных проблем в улучшении новой зерновой культуры является отсутствие достаточного генетического разнообразия, и большинство сортов генетически схожи (Losert et al., 2017). Происходящие изменения климата, быстрая эволюция патогенов, а также требования современного рынка диктуют необходимость ускоренного создания сортов при одновременном снижении затрат на их получение. Стратегии селекции, направленные на объединение традиционных и современных методов, являются наиболее верными при решении основных проблем в селекции тритикале (Mergoum, 2019). Тритикале, так же как пшеница и ячмень, является самоопылителем и для достижения гомозиготности необходимо 5–7 поколений самоопыления, гарантирующих генетическую чистоту и однообразие потомства. Альтернативой для быстрого достижения гомозиготности служат удвоен-

ные гаплоиды (DH-линии), массовое получение которых стало возможным благодаря развитию методов *in vitro*. Сроки селекции при использовании гаплоидов сокращаются в среднем на 5 лет (Srivastava and Singh, 2018). Метод гаплоидии успешно используется в селекции тритикале в Австралии, Канаде, Дании, Германии, Польше (Wedzony et al., 2015; Srivastava and Singh, 2018). Для массового получения гаплоидов тритикале *in vitro* применяют два метода: культура пыльников и ее разновидность – культура изолированных микроспор и отдаленная гибридизация с последующей селективной элиминацией хромосом вида-опылителя. Цель настоящего обзора – охарактеризовать методы массового получения гаплоидных растений тритикале, описать их преимущества и недостатки при использовании в селекционном процессе.

Андрогенез *in vitro* у тритикале. Андрогенез (микроспоровый эмбриогенез, андроклиния) индуцируется в культуре пыльников и культуре изолированных микроспор. Спорофитный путь развития микроспор в отличие от гаметофитного характеризуется формированием эмбриоподобных структур (спорофитов) и регенерации из них гаплоидных растений. Важным преимуществом метода являются высокие потенциальные возможности, обусловленные наличием нескольких тысяч микроспор в пыльнике. Критическими факторами, влияющими на эффективность эмбриогенеза, являются генотип донорного растения, стадия развития микроспор на момент отбора, тип и интенсивность применяемого стресса, минеральный состав питательных сред, тип и концентрация регуляторов роста и других биологически активных компонентов питательной среды (Wedzony et al., 2015).

Важной вехой в истории развития технологий получения гаплоидов, основанных на культивировании пыльников (микроспор), стало открытие роли стрессов как триггера пере-

ключения микроспор на спорофитный путь развития (Touraev et al., 1997; Zur et al., 2008; Wurschum et al., 2014). Различные стрессовые факторы применяются отдельно или в комбинации для индукции микроспорового эмбриогенеза (высокие или низкие температуры, углеводное и азотное голодание, колхицин, высокий осмос). Качество и уровень стресса (интенсивность, концентрация, доза) влияют на успех индукционной фазы, но снижают жизнеспособность клеток и качество эмбриоподобных структур, увеличивают частоту альбиносных растений (Wedzony et al., 2015). Эффективным приемом для индукции спорофитного развития микроспор у тритикале, так же как и у других злаков, являются воздействия на колосья или пыльники донорных растений пониженными положительными температурами (ППТ) (Wurshum et al., 2014; Wedzony et al., 2015). Низкотемпературные обработки приводят к различным морфологическим, цитологическим и физиологическим преобразованиям в клетках растений. Они замедляют процессы деградации, изменяют цитоскелет, активизируют Ca^{2+} пути, а также стимулируют экспрессию белков теплового шока. Накоплены факты, показывающие, что низкие температуры являются скорее антистрессовым агентом, «закаливающим» фактором, который приводит к различным цитологическим и физиологическим изменениям в культуре изолированных микроспор и пыльников тритикале. В результате активизируется система клеточной защиты к другим стрессам на основе феномена «перекрестной устойчивости» (Zur et al., 2008).

Увеличение интенсивности стресса приводит к повышенной продукции реактивных форм кислорода (РФК – ионы кислорода, свободные радикалы и перекиси) и оксидативному стрессу. Установлено, что необходимыми условиями для успешной индукции микроспорового эмбриогенеза тритикале являются как определенный уровень продукции РФК, так и антиоксидантная система защиты клеток (Zur et al., 2021). Важным условием эффективной индукции микроспорового эмбриогенеза является специфический гомеостаз регуляторов роста и правильный баланс между содержанием эндогенных гормонов и их экзогенных аналогов в составе питательных сред (Kohli et al., 2013). В культуре пыльников тритикале после воздействия ППТ обнаружены различные белки, причастные к компетенции микроспор, отзывчивости на стресс и индукцию микроспорового эмбриогенеза. Увеличилось количество белков, типичных для защиты от окислительного стресса, шаперонов и др. Функциональная классификация обнаруженных белков показала, что большую их часть составляют белки метаболизма (47%), стрессовые (28%) и запасные (9%) белки (Krzewska et al., 2017).

Существуют различные ограничения, влияющие на эффективность метода и его рутинное использование в селекционных программах. Влияние генотипа на эффективность

получения гаплоидных растений отмечено в различных исследованиях. Генетическая зависимость всех стадий получения гаплоидных растений создает дополнительные трудности при использовании метода в селекции, в связи с необходимостью предварительной оценки гибридов на отзывчивость при культивировании пыльников. Индукция андрогенеза, регенерация растений и соотношение зеленых растений к альбиносным контролируются независимыми генетическими факторами. Локусы количественных признаков (QTLs), связанные с фазой индукции андрогенеза, обнаружены на хромосомах 6B и 4R (Gonzalez et al., 2005). Выявлены 7 QTLs, контролирующих индукцию андрогенеза на хромосомах 4R, 5A, 5R и 7R. QTLs, связанные с регенерацией растений, обнаружены на хромосомах 1B, 1R, 3R, 4R, 5A, 5R и 7R (Krzewska et al., 2012). QTLs, контролирующие формирование альбиносных растений, расположены на хромосомах субгеномов B и R (3B, 4B, 4R, 5R 7R) (Krzewska et al., 2015).

Средняя эффективность метода, оцененная по количеству зеленых растений на 100 культивируемых пыльников, составила 5,2 (для 90 донорных линий с варьированием от 1 до 18 (Krzewska et al., 2012); 10,87 (для 8 различных генотипов с варьированием 2,48–20,88 (Lantos et al., 2014). Самая высокая эффективность, 55 зеленых растений на донорный колос, выявлена у высоко отзывчивого сорта “Bogo” в культуре изолированных микроспор (Oleszezuk et al., 2004).

Одной из важных проблем получения гаплоидных растений злаков методом андрогенеза *in vitro* является формирование хлорофиллдефектных (альбиносных) растений (Игнатова, 2011; Krzewska et al., 2015). Выход альбиносных растений в культуре пыльников тритикале зависит от генотипа и условий выращивания донорных растений, при этом их частота составляет 10–90%. В то же время в культуре пыльников мягкой пшеницы этот показатель варьировал от 0 до 35% (Игнатова, 2011). В культуре изолированных микроспор частота альбиносных регенерантов выше, чем в культуре изолированных пыльников. Состав питательных сред и комбинация стрессовых воздействий могут изменять соотношение зеленых/альбиносных регенерантов. Частота альбинизма снижается в два раза при обработке пыльников маннитолом и повышенными температурами 32 °C (Lantos et al., 2014).

Анеуплоидия в потомствах андрогенетических растений тритикале является распространенным явлением (Wedzony et al., 2015; Kwiatek et al., 2020). Большинство анеуплоидов – гипоплоиды и включают линии нуллисомки, телосомки и транслокации. Среди 42-х хромосомных растений идентифицированы нулли-тетрасомки, а также генотипы с другими абберациями, включая транслокации. При анализе вовлечения индивидуальных хромосом в анеуплоидию установлено, что геном ржи более часто вовлекается в хромосомные преобразования,

чем геном пшеницы. Большинство кариотипированных C_0 растений были нуллисомиками, чаще всего по 2R и 5R хромосомам. В пшеничном геноме 1В хромосома чаще других подвергалась преобразованиям (Oleszezuk et al., 2011; Kwiatek et al., 2020). Существенно, что частота нуллисомиков по 2R хромосоме была схожей у большинства гибридов, в то же время нуллисомики по 5R хромосоме наиболее часто встречались у трудно отзывчивых генотипов. Более того, частота таких анеуплоидных линий увеличивалась в зависимости от продолжительности культивирования до 70%. Поскольку анеуплоидия чаще встречается у слабо отзывчивых генотипов, авторы предполагают, что отсутствие 5R хромосомы влияет на эффективность андрогенеза или регенерацию зеленых растений. Нуллисомия по хромосомам 2R и 5R вызывает изменения в морфологии колоса растений тритикале. Колосья имеют меньшую длину, что связано с редукцией числа колосков в колосе и уменьшением числа зерен в колосе (Kwiatek et al., 2020). Эпигенетические изменения также оказывают влияние на фенотипические проявления потомств ДН-линий. Изменения уровня метилирования ДНК – дополнительный фактор, влияющий на фенотипическую нестабильность ДН-линий. Уровень метилирования ДНК у ДН-линий, полученных в культуре пыльников сорта “Vogo” был существенно ниже, чем у исходных растений. Однако после двух циклов самоопыления уровень метилирования ДНК восстанавливался (Machczynska et al., 2014). Генотипирование ДН-линий тритикале с помощью ДНК-маркеров выявило высокую частоту клонов, а также генетически гетерогенные растения, что снижает эффективность использования метода в селекции (Oleszezuk et al., 2014).

Метод селективной элиминации хромосом при отдаленной гибридизации. Альтернативным методом получения гаплоидов тритикале является отдаленная гибридизация с последующей селективной элиминацией хромосом вида-опылителя. Метод имеет ряд преимуществ по сравнению с культурой пыльников, главные из которых – отсутствие альбиносных растений, генетическая стабильность ДН-линий. Важнейшим проявлением несовместимости родительских геномов в отдаленных скрещиваниях является кариотипическая нестабильность гибридов. Хромосомы одного из родителей, чаще всего отцовские, частично или полностью элиминируют из гибридного ядра. В результате в развивающемся зародыше остается только гаплоидный набор хромосом материнского родителя. Элиминация может сопровождаться структурными перестройками хромосом элиминирующего генома, вызывающими нарушение в расхождении хромосом в митозе с последующим формированием микроядер. Согласно современным представлениям, селективная элиминация хромосом связана с утратой одного из видов гистонового белка H3(CENH3) в центромере. Инактивацию

центромеры вызывает именно утрата гистона CENH3, а не сайленсинг соответствующего гена (Sanie et al., 2011).

Барьеры несовместимости, проявляющиеся на постгамной стадии, ингибируют 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 *in vitro* является основополагающим принципом технологии “*embryo rescue*” («спасения» незрелых зародышей), обеспечивающей получение жизнеспособных растений в отдаленных скрещиваниях. Обработка опыленных цветков раствором 2,4-Д или Дикамба (100 мг/л) способствует росту и развитию зародышей *in planta* (Gosal and Wani, 2018). Изоляция зародышей проводится через 14–21 день после опыления в зависимости от генотипа и условий выращивания растений.

Поиск подходящих опылителей, не чувствительных к генам-ингибиторам скрещиваемости (Kr-генам), позволил повысить эффективность метода и его применение в селекционных программах. Формирование зародышей с последующей регенерацией растений наблюдалось при опылении растений гибридов тритикале пылью сорго и африканского проса (Pratap et al., 2005). Скрещивания тритикале × кукуруза приводят к селективной элиминации хромосом кукурузы и получению гаплоидных растений тритикале. Метод рекомендуется использовать в селекционных программах для получения гаплоидов у генотипов, слабо отзывчивых в культуре пыльников (Wedzony et al., 2015). Проведено сравнительное изучение эффективности скрещиваний с кукурузой линий «традиционных» тритикале и линий с 2D и 4D замещениями хромосом (Inagaki et al., 1997). У замещенных линий частота формирования эмбрионов была выше, что подтверждает роль хромосом D-генома в генетической основе тритикале. Существенным недостатком использования в качестве опылителя кукурузы является несовпадение сроков цветения родительских видов. Для синхронизации периода цветения родителей требуется посев кукурузы в несколько сроков, что существенно увеличивает затраты на получение гаплоидных растений (Wedzony et al., 2015).

Как и при получении гаплоидов пшеницы, выявлена эффективность применения в качестве опылителя дикой злаковой травы *Imperata cylindrica* (L.) ($2n = 2x = 20$) (Kishore et al., 2011). Использование этого вида для получения гаплоидов пшеницы и тритикале имеет ряд преимуществ по сравнению с кукурузой – продолжительность цветения, отсутствие необходимости ежегодного посева опылителя, нечувствительность к действию генов-ингибиторов скрещиваемости пшеницы (Kishore et al., 2011). Сравнение эффективности этих опылителей у гибридов тритикале × пшеница по-

казало преимущества этого вида в сравнении с кукурузой как по частоте формирования зародышей (25,48 и 20%), так и регенерации растений (34,17 и 15,10%). В скрещиваниях линий тритикале, содержащих замещения хромосом, с *Imperata cylindrica*, подтверждена роль хромосом D-генома (главным образом, 7D) в формировании гаплоидных зародышей (Mukai et al., 2015).

Все растения, полученные методом селективной элиминации хромосом, являются гаплоидными. Для удвоения числа хромосом растения подвергаются процедуре диплоидизации *in vivo* (концентрация колхицина 500 мг/л с добавлением 4% DMSO), успех диплоидизации составляет 64,5% (Slusarkiewicz et al., 2017). Применяется процедура удвоения числа хромосом *in vitro* на начальных этапах культивирования (концентрация 1 mM в течение 24 часов или 0,3 mM в течение 48 часов) (Wurschum et al., 2012).

Заключение. Для внедрения ДН-технологий в селекционный процесс требуются воспроизводимые и экономичные методы производства гаплоидных растений. Массовое получение гаплоидных растений тритикале основано на двух методах – культуре пыльников (изолированных микроспор) *in vitro* и селек-

тивной элиминации хромосом при отдаленной гибридизации. Неразрешенными проблемами метода культуры пыльников *in vitro* являются генотипическая зависимость, высокая частота альбинизма и анеуплоидия в потомствах растений-регенерантов. При получении гаплоидов методом селективной элиминации хромосом наибольший успех обеспечивают виды, пыльца которых нечувствительна к действию генов-ингибиторов скрещиваемости (Kr-генов). Выявлена высокая эффективность получения гаплоидных растений при опылении тритикале пыльцой кукурузы (*Zea mays* L.) и дикой злаковой травы *Imperata cylindrica* L. Положительный эффект на формирование и дифференциацию гаплоидных зародышей оказывают хромосомы D-генома мягкой пшеницы. Использование пыльцы *Imperata cylindrica* L. имеет преимущества перед пыльцой кукурузы благодаря продолжительности цветения, отсутствию необходимости ежегодного посева опылителя и более продолжительной жизнеспособности. Поиск других видов-опылителей, нечувствительных к генам-ингибиторам скрещиваемости и эффективных по частоте формирования зародышей и регенерации растений, может привести к созданию генотип-независимых гаплоидных технологий и их практическому использованию.

Библиографические ссылки

1. Грабовец А.И., Крохмаль А.В. Тритикале. Ростов-на-Дону: ООО «Издательство «Юг», 2019. 240 с.
2. Игнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*. Одесса: Астропринт, 2011. 224 с.
3. Gonzalez J.M., Muniz L.M., Jouve N. Mapping of QTLs for androgenetic response based on a molecular genetic map of $\times$ *Triticosecale* Wittmack // Genome. 2005. Vol. 48. Pp. 999–1009.
4. Gosal S.S., Wani S.H. Cell and tissue culture approaches in relation to crop improvement // Biotechnologies of Crop Improvement. 2018. Vol. 1. Pp. 1–42. DOI: 10.1007/978-3-319-78283-6_1.
5. Inagaki M.N., Nagamine T., Mujeeb-Kazi A. Use of pollen storage and detached pollen culture in wheat polyploid production through wide crosses // Cereal Research Com. 1997. Vol. 25. Pp. 7–13.
6. Kishore N., Chaudhari K.K., Chahota R.F. Relative efficiency of the maize-and *Imperata cylindrica*-mediated chromosome elimination approaches for induction of haploids in wheat-rye derivatives // Plant Breed. 2011. Vol. 130. Pp. 192–194.
7. Kohli A., Sreenivasulu N., Lakshmanan P, Kumar P.P. The phytohormone crosstalk paradigm takes centre stage in understanding how plants respond to abiotic stress // Plant Cell Rep. 2013. Vol. 32. Pp. 945–957. DOI: 10.1007/s00299-013-1461-y.
8. Krzewska M., Czyczyło-Mysza I., Dubas E., Golebiowska-Pikania G., Golemić E., Stojalowski S., Chrupek M., Zur I. Quantitative trait loci associated with androgenetic responsiveness in triticales ($\times$ *Triticosecale* Wittm.) // Plant Cell Rep. 2012. Vol. 31. Pp. 2099–2108. DOI: 10.1007/s 00299-012-1320-2.
9. Krzewska M., Czyczyło-Mysza I., Dubas E., Golebiowska-Pikania G., Zur I. Identification of QTLs associated with albino plant formation and some new facts concerning green versus albino ratio determinants in triticales ($\times$ *Triticosecale* Wittm.) anther culture // Euphytica. 2015. Vol. 206. Pp. 263–278. DOI: 10.1007/s10681-015-1509-x.
10. Krzewska M., Golebiowska-Pikania G., Dubas E., Gawin M., Zur I. Identification of proteins related to microspore embryogenesis responsiveness in anther cultures of winter triticales ($\times$ *Triticosecale* Wittm.) // Euphytica. 2017. Vol. 213. Pp. 1-17. DOI: 10.1007/s10681-017-1978-1.
11. Kwiatek M., Banaszak Z., Skowrońska R., Kurasiak-Popowska D., Mikotajczyk S., Niemann J., Tomkowiak A., Weigt D., Nawracata J. Spike morphology alternations in androgenetic progeny of hexaploid triticales ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) caused by nullisomy of 2R and 5R chromosomes // In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. 2020. Vol. 56. Pp. 150–158. DOI: 10.1007/s11627-019-10021-7.
12. Lantos C., Bona L., Boda K., Pauk J. Comparative analysis of *in vitro* anther-and isolated microspore culture in hexaploid Triticales ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) for androgenesis parameters // Euphytica. 2014. Vol. 197. Pp. 27–37. DOI: 10.1007/s10681-013-1031-y.
13. Losert D., Mauer H.P., Marulanda J., Wurschum T. Phenotypic and genotypic analyses of diversity and breeding progress in European triticales ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) // Plant Breed. 2017. Vol. 136. Pp. 18–27. DOI: 10.1111/pbr.12433.
14. Machczynska J., Orłowska R., Mankowski D.R., Zimny J., Bednarek P.T. DNA methylation changes in triticales due to *in vitro* culture plant regeneration and consecutive reproduction // Plant Tissue Organ Cult. 2014. DOI: 10.1007/s11240-014-0533-1.

15. Mergoum M., Sapkota S., ElFatih A., Naraghi S.M., Pirseyedi S., Alami M.S., and AbuHammad W. Triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) Breeding // J.M. Al-Khayri et al (eds.). *Advances in Plant Breeding Strategies: Cereals*. Springer Nature Switzerland. 2019. Pp. 405–451. DOI: 10.1007/978-3-030-23108-8_11.
16. Mukai Y., Okamoto G., Kiryu S. et al. The D-genome plays a critical role in the formation of haploid *Aegilops tauschii* through *Imperata cylindrica* mediated uniparental chromosome elimination // *Nucleus*. 2015. Vol. 58(3). Pp. 199–206.
17. Oleszezuk S., Sova S., Zimny J. Direct embryogenesis and green plant regeneration from isolated microspores of hexaploid triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) cv. Bogo // *Plant Cell Rep*. 2004. Vol. 22. Pp. 885–893. DOI: 10.1007/s00299-004-0796-9.
18. Oleszezuk S., Rabiza-Swidet J., Lukaszewski A.J. Aneuploidy among androgenic progeny of hexaploid triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) // *Plant Cell Rep*. 2011. Vol. 30. Pp. 575–586.
19. Oleszezuk S., Tyrka M., Zimny J. The origin of clones among androgenetic regenerants of hexaploid triticale // *Euphytica*. 2014. Vol. 198. Pp. 325–336. DOI:10.1007/s10681-014-1109-1.
20. Pratap A., Sethi G.S., Chaudhary H.K. Relative efficiency of different Graminea genera for haploid induction in triticale and triticale $\times$ wheat hybrids through the chromosome elimination technique // *Plant Breeding*. 2005. Vj1.124. P. 147–153.
21. Sanie M, Pickering R, Kumke K et al. Loss of centromeric histone H3(CENH3) from centromeres precedes uniparental chromosome elimination in interspecific barley hybrids // *Proc. Nat.Acad. Sci*. 2011. Vol. 108. Pp. 498–505. DOI:10.1073/pnas.1103190108.
22. Slusarekiewicz-Jarzina A., Pudelska H., WoznaJ., Pniewski T. Improved production of doubled haploids of winter and spring triticale hybrids via combination of colchicines treatments of anthers and regenerated plants // *J. Appl. Genetics*. 2017. Vol. 58. Pp. 287–295. DOI: 10.1007/s13353-016-0387-9.
23. Srivastava P, Singh N.B. Acceleration wheat breeding: doubled haploids and rapid generation advance // Gosal S.S., Wani S.H.(eds.). *Biotechnologies of Crop Improvement*. 2018. Vol. 1. Pp. 437–461. DOI: 10.1007/978-3-319-78283-6_3.
24. Touraev A., Vicente O. and Heberle-Bors E. Initiation of embryogenesis by stress // *Trends Plant Science*. 1997. Vol. 2(8). Pp. 297–303.
25. Wedzony M., Zur I., Krzewska M., Dubas E., Szechynska-Hebda M. and Wasek I. Doubled Haploids in Triticale // Eudes F. (ed.). *Triticale*. Springer International Publishing Switzerland. 2015. Pp. 111–128. DOI 10.1007/978-3-319-22551-7_6.
26. Wurschum T., Tucker M.R., Reif J., Maurer H.P. Improved efficiency of doubled haploid generation in hexaploid triticale by *in vitro* chromosome doubling // *BMC Plant Biology*. 2012. Vol. 12. P. 109. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/12/109>.
27. Wurschum T., Tucker M.R., Maurer H.P. Stress influence efficiency of microspore embryogenesis and green plant regeneration in hexaploid triticale // *In vitro Cell Dev. Biol*. 2014. Vol. 50. Pp. 143–148. DOI: 10.1007/s11627-013-9539-3.
28. Zur I., Dubas E., Golemić E., Szechynska-Hebda M., Janowiak F., Wędzony M. Stress-induced changes important for effective androgenic induction in isolated microspore culture of triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittm.) // *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2008. Vol. 94. Pp. 319–328. DOI 10.1007/s11240-008-9360-6.
29. Zur I., Dubas E., Krzewska M., Kopec P., Nowicka A., Surowka E., Gawronska K., Golebiowska G., Juzon K., Malaga S. Triticale and barley microspore embryogenesis induction requires both reactive oxygen species generation and efficient system of antioxidative defence // *Plant cell, Tissue and Organ Culture*. 2021. 145. Pp.347–366. DOI: 10.1007/s11240-021-02012-7.

References

1. Grabovec A.I., Krohmal' A.V. *Tritikale [Triticale]*. Rostov-na-Donu: OOO «Izdatel'stvo «YUg», 2019. 240 s.
2. Ignatova S.A. *Kletochnye tekhnologii v rastenievodstve, genetike i selekcii vozdeleyvaemykh rastenij: zadachi, vozmozhnosti, razrabotki sistem in vitro [Cell technologies in plant production, genetics and plant breeding: tasks, opportunities, systems in vitro]*. Odessa: Astroprint, 2011. 224 s.
3. Gonzalez J.M., Muniz L.M., Jouve N. Mapping of QTLs for androgenetic response based on a molecular genetic map of $\times$ *Triticosecale* Wittmack // *Genome*. 2005. Vol. 48. Pp. 999–1009.
4. Gosal S.S., Wani S.H. Cell and tissue culture approaches in relation to crop improvement // *Biotechnologies of Crop Improvement*. 2018. Vol. 1. Pp. 1–42. DOI: 10.1007/978-3-319-78283-6_1.
5. Inagaki M.N., Nagamine T., Mujeeb-Kazi A. Use of pollen storage and detached pollen culture in wheat polyploid production through wide crosses // *Cereal Research Com*. 1997. Vol. 25. Pp. 7–13.
6. Kishore N., Chaudhari K.K., Chahota R.F. Relative efficiency of the maize-and *Imperata cylindrica*-mediated chromosome elimination approaches for induction of haploids in wheat-rye derivatives // *Plant Breed*. 2011. Vol. 130. Pp. 192–194.
7. Kohli A., Sreenivasulu N., Lakshmanan P, Kumar P.P. The phytohormone crosstalk paradigm takes centre stage in understanding how plants respond to abiotic stress // *Plant Cell Rep*. 2013. Vol. 32. Pp. 945–957. DOI: 10.1007/s00299-013-1461-y.
8. Krzewska M., Czyczylo-Mysza I., Dubas E., Golebiowska-Pikania G., Golemić E., Stojalowski S., Chrupek M., Zur I. Quantitative trait loci associated with androgenetic responsiveness in triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittm.) // *Plant Cell Rep*. 2012. Vol. 31. Pp. 2099–2108. DOI: 10.1007/s 00299-012-1320-2.
9. Krzewska M., Czyczyto-Mysza I., Dubas E., Golebiowska-Pikania G., Zur I. Identification of QTLs associated with albino plant formation and some new facts concerning green versus albino ratio determinants in triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittm.) anther culture // *Euphytica*. 2015. Vol. 206. Pp. 263–278. DOI: 10.1007/s10681-015-1509-x.

10. Krzewska M., Golebiowska-Pikania G., Dubas E., Gawin M., Zur I. Identification of proteins related to microspore embryogenesis responsiveness in anther cultures of winter triticale (*x Triticosecale* Wittm.) // *Euphytica*. 2017. Vol. 213. Pp. 1–17. DOI: 10.1007/s10681-017-1978-1.
11. Kwiatek M., Banaszak Z., Skowroniska R., Kurasia-Popowska D., Mikotajczyk S., Niemann J., Tomkowiak A., Weigt D., Nawracata J. Spike morphology alternations in androgenetic progeny of hexaploid triticale (*x Triticosecale* Wittmack) caused by nullisomy of 2R and 5R chromosomes // *In vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2020. Vol. 56. Pp. 150–158. DOI: 10.1007/s11627-019-10021-7.
12. Lantos C., Bona L., Boda K., Pauk J. Comparative analysis of *in vitro* anther- and isolated microspore culture in hexaploid triticale (*x Triticosecale* Wittmack) for androgenesis parameters // *Euphytica*. 2014. Vol. 197. Pp. 27–37. DOI: 10.1007/s10681-013-1031-y.
13. Losert D., Mauer H.P., Marulanda J., Wurschum T. Phenotypic and genotypic analyses of diversity and breeding progress in European triticale (*x Triticosecale* Wittmack) // *Plant Breed.* 2017. Vol. 136. Pp. 18–27. DOI: 10.1111/pbr.12433.
14. Machczynska J., Orlowska R., Mankowski D.R., Zimny J., Bednarek P.T. DNA methylation changes in triticale due to *in vitro* culture plant regeneration and consecutive reproduction // *Plant Tissue Organ Cult.* 2014. DOI: 10.1007/s11240-014-0533-1.
15. Mergoum M., Sapkota S., Elfatih A., Naraghi S.M., Pirseyedi S., Alami M.S., and AbuHammad W. Triticale (*x Triticosecale* Wittmack) Breeding // J.M. Al-Khayri et al (eds.). *Advances in Plant Breeding Strategies: Cereals*. Springer Nature Switzerland. 2019. Pp. 405–451. DOI: 10.1007/978-3-030-23108-8_11.
16. Mukai Y., Okamoto G., Kiryu S. et al. The D-genome plays a critical role in the formation of haploid *Aegilops tauschii* through *Imperata cylindrica* mediated uniparental chromosome elimination // *Nucleus*. 2015. Vol. 58(3). Pp. 199–206.
17. Oleszezuk S., Sova S., Zimny J. Direct embryogenesis and green plant regeneration from isolated microspores of hexaploid triticale (*x Triticosecale* Wittmack) cv. Bogo // *Plant Cell Rep.* 2004. Vol. 22. Pp. 885–893. DOI: 10.1007/s00299-004-0796-9.
18. Oleszezuk S., Rabiza-Swidet J., Lukaszewski A.J. Aneuploidy among androgenic progeny of hexaploid triticale (*x Triticosecale* Wittmack) // *Plant Cell Rep.* 2011. Vol. 30. Pp. 575–586.
19. Oleszezuk S., Tyrka M., Zimny J. The origin of clones among androgenetic regenerants of hexaploid triticale // *Euphytica*. 2014. Vol. 198. Pp. 325–336. DOI: 10.1007/s10681-014-1109-1.
20. Pratap A., Sethi G.S., Chaudhary H.K. Relative efficiency of different Gramineae genera for haploid induction in triticale and triticale x wheat hybrids through the chromosome elimination technique // *Plant Breeding*. 2005. V. 124. P. 147–153.
21. Sanie M., Pickering R., Kumke K et al. Loss of centromeric histone H3(CENH3) from centromeres precedes uniparental chromosome elimination in interspecific barley hybrids // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2011. Vol. 108. Pp. 498–505. DOI: 10.1073/pnas.1103190108.
22. Slusarekiewicz-Jarzina A., Pudelska H., Wozna J., Pniewski T. Improved production of doubled haploids of winter and spring triticale hybrids via combination of colchicines treatments of anthers and regenerated plants // *J. Appl. Genetics*. 2017. Vol. 58. Pp. 287–295. DOI: 10.1007/s13353-016-0387-9.
23. Srivastava P., Singh N.B. Acceleration wheat breeding: doubled haploids and rapid generation advance // Gosai S.S., Wani S.H. (eds.). *Biotechnologies of Crop Improvement*. 2018. Vol. 1. Pp. 437–461. DOI: 10.1007/978-3-319-78283-6_3.
24. Touraev A., Vicente O. and Heberle-Bors E. Initiation of embryogenesis by stress // *Trends Plant Science*. 1997. Vol. 2(8). Pp. 297–303.
25. Wedzony M., Zur I., Krzewska M., Dubas E., Szechynska-Hebda M. and Wasek I. Doubled Haploids in Triticale // Eudes F. (ed.). *Triticale*. Springer International Publishing Switzerland. 2015. Pp. 111–128. DOI 10.1007/978-3-319-22551-7_6.
26. Wurschum T., Tucker M.R., Reif J., Maurer H.P. Improved efficiency of doubled haploid generation in hexaploid triticale by *in vitro* chromosome doubling // *BMC Plant Biology*. 2012. Vol. 12. P. 109. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/12/109>.
27. Wurschum T., Tucker M.R., Maurer H.P. Stress influence efficiency of microspore embryogenesis and green plant regeneration in hexaploid triticale // *In vitro Cell Dev. Biol.* 2014. Vol. 50. Pp. 143–148. DOI: 10.1007/s11627-013-9539-3.
28. Zur I., Dubas E., Golemić E., Szechynska-Hebda M., Janowiak F., Wędzony M. Stress-induced changes important for effective androgenic induction in isolated microspore culture of triticale (*x Triticosecale* Wittm.) // *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2008. Vol. 94. Pp. 319–328. DOI 10.1007/s11240-008-9360-6.
29. Zur I., Dubas E., Krzewska M., Kopec P., Nowicka A., Surowka E., Gawronska K., Golebiowska G., Juzon K., Malaga S. Triticale and barley microspore embryogenesis induction requires both reactive oxygen species generation and efficient system of antioxidative defence // *Plant cell, Tissue and Organ Culture*. 2021. 145. Pp. 347–366. DOI: 10.1007/s11240-021-02012-7.

Поступила: 6.07.21; принята к публикации: 20.10.21.

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. Дьячук Т.И., Акинина В.Н., Хомякова О.В. – концептуализация проблемы; Жилин С.В., Барнашова Е.К., Калашникова Э.В., Окладникова В.П. – сбор, подготовка и обработка информации, подготовка рукописи.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.