

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОЦЕССЫ АНДРОГЕНЕЗА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ПЫЛЬНИКОВ ПШЕНИЦЫ (ОБЗОР)

О. А. Некрасова, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, nekrasova_olesya@rambler.ru, ORCID ID: 0000-0002-4409-4542;

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

ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»,

347740, Ростовская обл., г. Зерноград, ул. Научный городок, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

Это исследование было проведено с целью анализа литературных данных, посвященных изучению ряда факторов, влияющих на процессы андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников пшеницы. *Triticum aestivum* L. является одной из наиболее стабильных продовольственных культур в мире. Важным этапом для селекционеров, работающих с пшеницей, остается увеличение потенциала урожайности с соответствующим качеством зерна и устойчивостью к влиянию неблагоприятных факторов среды. Для того чтобы улучшить и ускорить селекционный процесс, требуется целенаправленный отбор исходного материала с вовлечением доноров по основным лимитирующим признакам и свойствам. Применение современных методов селекции и биотехнологических приемов, которые дают возможность ускоренно получить новый исходный материал с желательными хозяйственно-ценными признаками, в этой связи становится актуальным вопросом. Большую перспективу для таких работ имеет использование методов гаплоидии, а именно получение растений с одинарным набором хромосом из культуры незрелых пыльников пшеницы (андрогенез). По данным исследователей, эффективность метода *in vitro* зависит от многих факторов, таких как влияние генотипа, условий выращивания, период проведения отборов, предварительная обработка, формула питательной среды и условия культивирования. Согласно некоторым критическим обзорам зависимость от генотипа, низкая эффективность и альбинизм создают серьезные ограничения применения метода культуры пыльников. Однако другие исследовательские группы приложили значительные усилия, для того чтобы уменьшить влияние этих негативных факторов. Из-за постоянных улучшений хорошо зарекомендовавший себя метод культивирования пыльников *in vitro* может быть эффективным инструментом для создания сортов и линий пшеницы с заданными признаками и свойствами.

Ключевые слова: андрогенез, культура пыльников, ди гаплоид, *Triticum aestivum* L.

Для цитирования: Некрасова О. А., Калинина Н. В. Факторы, влияющие на процессы андрогенеза при культивировании пыльников пшеницы // Зерновое хозяйство России. 2022. Т. 14, № 3. С. 25–30. DOI: 10.31367/2079-8725-2022-81-3-25-30.



FACTORS AFFECTING THE PROCESSES OF ANDROGENESIS DURING WHEAT ANTHERS CULTIVATION (REVIEW)

O. A. Nekrasova, Candidate of Agricultural Sciences, researcher of the laboratory for cell breeding, nekrasova_olesya@rambler.ru, ORCID ID: 0000-0002-4409-4542;

N. V. Kalinina, junior researcher of the laboratory for cell breeding,

ORCID ID: 0000-0002-2305-4189

Agricultural Research Center "Donskoy",

347740, Rostov region, Zernograd, Nauchny Gorodok, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

The current study was carried out in order to analyze the literature devoted to the researches of a number of factors affecting the processes of androgenesis *in vitro* in wheat anther culture. *Triticum aestivum* L. is one of the most stable food crops in the world. An important step for wheat breeders is to improve the productivity potential with appropriate grain quality and resistance to unfavorable environmental factors. In order to improve and speed up the breeding process, a targeted selection of the initial material is required with the involvement of donors according to the main limiting traits and properties. In this regard, the use of modern breeding methods and biotechnological techniques, which make it possible to quickly obtain a new initial material with desirable economically valuable traits becomes an urgent issue. The use of haploidy methods, namely, the development of plants with a single set of chromosomes from an immature wheat anther culture (androgenesis), has great prospects for such work. According to the researchers, the efficiency of the method *in vitro* depends on many factors, such as influence of a genotype, growing conditions, a selection period, pre-treatment, a nutrient medium formula and cultivation conditions. According to some critical reviews, a genotype dependence, low efficiency, and albinism can pose serious limitations to the application of the anther culture method. However, other research groups have made significant efforts to reduce the impact of these negative factors. Due to continuous improvements, the well-established method of anther culture cultivation *in vitro* can be an effective way to develop wheat varieties and lines with the desired traits and properties.

Keywords: androgenesis, anther culture, dihaploid, *Triticum aestivum* L.

Введение. Пшеница является наиболее важной стабильной продовольственной культурой более чем для одной трети мирового населения. Ее зерно питательно, удобно в хранении и транспортировке, по содержанию ка-

лорий и белков превосходит другие злаковые культуры. Эта культура считается хорошим источником минералов, витаминов группы В и пищевых волокон. Пшеничную муку используют для приготовления хлебобулочных изде-

лий, производства печенья, кондитерских изделий, лапши и др. Пшеницу также применяют как корм для животных, для производства этанола, варки пшеничного пива, в качестве сырья для косметики, пшеничный белок добавляют в заменители мяса (Kumar et al., 2011). Важным этапом для селекционеров, работающих с пшеницей, остается увеличение потенциала урожайности с соответствующим качеством зерна и устойчивостью к влиянию неблагоприятных факторов среды (Некрасов и др., 2018).

Для того чтобы улучшить и ускорить селекционный процесс, требуется целенаправленный отбор исходного материала с вовлечением доноров по основным лимитирующим признакам и свойствам (Некрасова и др., 2017). Применение современных методов селекции и биотехнологических приемов, которые дают возможность ускоренно получить новый исходный материал с желательными хозяйственно-ценными признаками, в этой связи становится актуальным вопросом.

Для проведения таких работ использование методов гаплоидии, а именно получение растений с одинарным набором хромосом из культуры незрелых пыльников пшеницы (андрогенез), открывает большие перспективы (Уразалиев, 2011; Dwivedi et al., 2015).

Культура пыльников имеет много преимуществ в селекционных программах и исследованиях культурных растений. Одним из ее достоинств является получение гомозиготных линий в пределах одного поколения. Быстрое воспроизведение линий дигаплоидов можно комбинировать с отбором, чтобы получить инбредные линии и ускорить выведение новых сортов. Создание дигаплоидов дает возможность быстрого проявления рецессивных аллелей. Кроме того, культура пыльников *in vitro* может сочетаться с другими методами, такими как отбор с помощью маркеров (MAS), анализ QTL, генетическая трансформация или индуцированный мутагенез для достижения желаемых целей селекции и исследований (Wajdzik et al., 2019; Bilchak et al., 2020).

При проведении культивирования пыльников существует ряд трудностей, которые идентичны для большинства злаков – низкий выход эмбрионов и альбинизм. Это заставляет исследователей действовать эмпирически, подбирая оптимальные условия и корректируя их для разных видов и сортов растений. Целью данной работы являлся анализ литературных данных, посвященных изучению ряда факторов, влияющих на процессы андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников пшеницы.

Условия выращивания донорных растений. Качество растений-доноров является одним из самых важных критических факторов, влияющих на эффективность андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников. Здоровые растения-доноры, их побеги и колосья являются первыми важными факторами реализации ускоренного производства дигаплоидов. Два часто применяемых способа (контролируемые усло-

вия в теплице или фитотронной камере; благоприятные полевые условия в питомнике) помогают селекционерам работать в этом направлении. Контролируемые световой и температурный режимы (теплица, фитотронная камера) позволяют выращивать донорские растения в течение всего года (Wang et al., 2019).

Озимым генотипам требуется период яровизации (6–8 недель при 3–4 °C) после прорастания. Как правило, донорные растения выращивают примерно при температуре 18–21/12–15 °C (день/ночь) с 12–18-часовым фотопериодом и 70–80%-й влажности (Broughton et al., 2020). Кроме того, растения-доноры регулярно подкармливают раствором удобрений. Донорские материалы, выращенные в контролируемых условиях, могут быть использованы для методологического усовершенствования и в программах прикладных исследований круглый год.

Некоторые исследователи предпочитают для работы материалы, выращенные в полевых условиях (Lazaridou et al., 2017). Как правило, такие растения-доноры формируют больше побегов с выполненным колосом, крупными пыльниками и микроспорами внутри пыльников. Отобранный материал для производства линий дигаплоидов может быть использован и в практической селекции.

Возраст и физиология. Физиологическое состояние растения-донора оказывает значительное влияние на реакцию микроспор в культуре.

Возраст пыльника и пыльцы является существенным фактором, определяющим высокую частоту получения эмбриогенеза. Кругловой Н.Н. и Никоновым В.И. (2018) был проведен тщательный сравнительный анализ морфогенеза пыльника. Обнаружено, что развитие пыльников отличается у разных линий и сортов. Ускоренными темпами пыльник формируется при быстром прохождении всех фаз у скороспелых образцов, что особенно важно в засушливых климатических условиях.

Результаты работы этих ученых способствовали выделению в процессе развития пыльника пшеницы ряда критических периодов и стадий, которым соответствует определенный этап фенологических изменений растения. Для биотехнологических исследований в культуре пыльников и микроспор у растений пшеницы должны быть следующие фенотипические признаки: кончик колоса, который находится в трубке, должен располагаться на конкретном для каждого генотипа расстоянии от основания флагового листа до основания предпоследнего листа (фенофаза стеблевания на VII этапе органогенеза).

Совместными исследованиями лабораторий биотехнологии Saaten Union Biotec в Германии и КазНИИЗР в Казахстане на основе морфологических наблюдений и цитологического контроля было установлено, что оптимальной стадией развития микроспор является фаза, в которую влажище

второго листа от флагового расположено посередине колоса, а окраска пыльника темно-зеленого цвета (Уразалиев и др., 2015).

Данные о высокой эффективности культуры пыльников, слабо отзывчивых на андрогенез *in vitro* генотипов при совместном культивировании с завязями, отражены в работе A. Castillo с соавторами (2015). Генотип завязи и стадия развития значительно влияли на эмбриогенез и выход зеленых растений. Зрелые завязи из цветков, содержащих микроспоры на поздней двухъядерной стадии, увеличивали количество эмбриоидов и зеленых растений на 25–46% по сравнению с незрелыми (извлеченными из цветков с микроспорами на средней поздней одноядерной стадии).

Стадия развития пыльцы. Стадия развития пыльцевого зерна в пыльниках играет решающую роль в определении андрогенеза. По данным Kanbar et al. (2020), незрелые пыльники, содержащие одноядерную пыльцу в момент первого митоза, являются идеальной стадией для индукции андрогенеза. Существует мнение (Круглова и Никонов, 2018; Дьячук и др., 2019), что при формировании тканей *in vitro* по спорофитному пути критическим этапом развития пыльника является стадия вакуолизированной или сильно вакуолизированной микроспоры. Именно сильно вакуолизированная микроспора способна переключить программу развития с гаметофитного на спорофитный путь развития благодаря ее хорошо выраженной полярности. Такая отличительная черта проявляется как во внутреннем, так и во внешнем строении, т.е. со стороны наружного полюса, обращенного к тапетуму, располагается вакуоль, а со стороны внутреннего полюса, напротив поры прорастания, находится ядро.

Влияние генотипа. Одним из лимитирующих факторов успешного практического применения биотехнологии андроклиной гаплоидии являются генотипические особенности донорного растения. В этой связи для решения задач, поставленных перед селекционерами, важным моментом становится выявление генотипов, сочетающих в себе высокую отзывчивость в культуре *in vitro* изолированных пыльников с заданными хозяйственно ценными признаками для условий конкретного региона возделывания (Сельдиминова и Никонов, 2021).

Наследование отзывчивости определяется преимущественно аддитивными эффектами участка хромосомы. В то же время и неаддитивные эффекты, и цитоплазматические влияния также наблюдались и подтверждались в культуре пыльников (Abd El-Fatah et al., 2020).

C. Lantos с соавторами (2019) сообщают о влиянии гетерозисных и аддитивных эффектов генов в культуре пыльников пшеницы, которые могут быть полезны с точки зрения практической селекции. Привлечение отзывчивых генотипов (как минимум один зеленый проросток/колос) для скрещивания может увеличить количество произведенных линий дигаметоидов.

Из-за сильной зависимости от генотипа многие исследователи предполагают, что исходный материал для андрогенеза следует скрещивать с хорошо регенерирующими сортами. Поскольку это не всегда возможно, альтернативным решением является корректировка методологии отдельно для генотипов пшеницы. На первом этапе необходимо проанализировать различия между ними в реакции на содержание гормонов в питательной среде, воздействующей на микроспоры при андрогенезе (Weigt et al., 2020).

Предобработка пыльников. Согласно литературным данным предварительная стрессовая обработка пыльников играет ключевую роль в перепрограммировании микроспор на путь спорофитов, что практически означает индукцию эмбриогенеза *in vitro*. Также исследователи сообщили о многих факторах стресса, которые применяли для индукции андрогенеза, включая холод, тепло, голодание, колхицин, осмотический шок, диметилсульфоксид (ДМСО) и др. (Echávarri and Cistué, 2016). Однако наиболее часто применяемыми стресс-факторами являются низкие, высокие температуры и голодание, отдельно или в комбинациях. Оптимальное воздействие и сочетание стрессов (холод, жара и др.) играет важную роль в индукции андрогенеза, потому что слишком легкие или чрезмерные нагрузки могут снизить эффективность. Повышенные стрессы могут снизить не только регенерацию, но и увеличить частоту появления проростков-альбиносов. Для этого применяемые методы обработки стрессом были проанализированы непосредственно на побегах или изолированных пыльниках. Предварительная холодовая обработка донорских побегов – это простейший способ перепрограммирования микроспор. По данным H.M. Wang (2019), андрогенез микроспор *in vitro* можно индуцировать длительной предварительной холодовой обработкой (2–5 °C, 10 дней – 4 недели) донорских побегов. В то же время и короткая предварительная обработка холодом (3–8 дней, 4–6 °C) также может использоваться для индукции андрогенеза (Sen, 2017). Более того, андрогенез *in vitro* успешно индуцируется голоданием (самостоятельно или в сочетании с химическими обработками) изолированных пыльников (Echávarri and Cistué, 2016). В работе B. Echávarri и L. Cistué (2016) указано, что применение маннитола и колхицина увеличивало количество зеленых ростков и дигаметоидных растений в зависимости от генотипа, а комбинация маннита и предварительной обработки ДМСО способствовала образованию большего количества эмбриоидов, зеленых проростков и растений дигаметоидов по сравнению с голоданием, применяемым отдельно.

По мнению C. Lantos и J. Pauk (2016), термическая обработка (3 дня, 32 °C) изолированных пыльников, часто применяемая как стресс-фактор, повышает эффективность индукции андрогенеза.

Состав питательной среды. Очень важным фактором, влияющим на андрогенез, является

состав питательной среды. В частности, определенную роль играют концентрация и сочетание гормонов. В разных экспериментах применяют добавление следующих составляющих: макро- и микроэлементы, витамины, аминокислоты, активированный уголь, различные экстракты. Для культивирования изолированных пыльников используют модифицированную базовую среду Мурасиге и Скуга (MS) (1962) с добавлением регуляторов роста, среды B-5 (Gamborg et al., 1968), MN6 (Chu, 1978) и др.

Также разработаны две картофельные среды: Potato-I (P-1) и Potato-II (P-2). В каждой такой среде основной частью был картофельный экстракт, также в качестве добавок использовали некоторые определенные неорганические и органические химические вещества. В P-1 не добавляли неорганические соли (кроме железа) и витамины. В P-2 только половинная концентрация шести основных неорганических солей синтетической среды W14 и один витамин (тиамин).

J.W. Ouyang с коллегами (2004) модифицировали синтетическую среду W14, используя 5%-й экстракт картофеля в качестве добавки, но в то же время они уменьшили количество каждого ингредиента среды W14 до трех четвертей от исходной концентрации. Их результаты показали, что эффективность этой среды, содержащей картофельный экстракт, была намного выше, чем эффективность исходного ее состава.

По данным Н.В. Лавровой (2006), эффективность любой синтетической индукционной среды для культуры пыльников пшеницы может быть улучшена путем добавления глюкозы, сахарозы либо мальтозы.

В то же время в исследованиях И.В. Любушкиной и др. (2020) применение мальтозы как источника углеводов оказалась неэффективной, поскольку образования каллусов и эмбриоидов в культуре пыльников не было установлено.

Тип и концентрация регуляторов роста (гормонов) в индукционной питательной среде играют важную роль в изменении пути развития микроспор с гаметофитного на спорофитный. В работе R. Orlowska с соавторами (2020) было показано, что использование физиологически активных веществ (ауксины, цитокинины) изменяет рост каллуса и скорость регенерации растений. Индукция деления клеток микроспор и пролиферации клеток в пробир-

ке достигается за счет ауксинов (2,4-Д, нафтилуксусной кислоты и индол-3-уксусной кислоты). В зависимости от концентрации в среде 2,4-Д может действовать как стрессор, способствующий изменению пути развития пыльцы, или как компонент, необходимый для развития эмбриоида.

Взаимодействие между ауксином и цитокинином особенно важно для контроля нескольких процессов развития, таких как формирование и развитие меристем, которые необходимы для формирования всего растительного организма (Su et al., 2011).

В работе Кругловой Н.Н. (2018) установлено, что индукция определенного пути морфогенеза *in vitro* определяется главным образом балансом между содержанием эндогенного (в эксплантах) и экзогенного (в составе питательной среды) ауксина ИУК. Показана принципиальная возможность регуляции путей морфогенеза *in vitro* каллусов путем подбора для каждого генотипа адекватного для индукции конкретного пути баланса эндогенного и экзогенного ауксинов.

Проявление альбинизма. Каждый из вышеперечисленных факторов может вызвать такое сложное явление, как альбинизм. В последнее время альбинизм все еще рассматривают как один из основных факторов, препятствующих андрогенезу *in vitro* культуре пыльников пшеницы. Существуют данные, что соотношение проростков-альбиносов может уменьшаться шаг за шагом путем оптимизации вышеперечисленных факторов, кроме влияния генотипа. Методы получения дигаплоидов и хорошо зарекомендовавшие себя протоколы можно эффективно применять в селекции пшеницы и исследовательских программах (Orlowska et al., 2020).

Заключение. На отзывчивость пыльников, культивируемых *in vitro*, оказывают влияние многие взаимодействующие факторы: условия выращивания донорных растений, генотип, физиологическое состояние растения-донора, стадия развития микроспоры, предобработка пыльников, состав питательной среды. Для повышения эффективности получения гаплоидов и дигаплоидов необходимо проводить комплексное изучение, позволяющее оценить структурные особенности и физиологические механизмы процесса репрограммирования клеток пыльника и отзывчивости их на условия культивирования.

Библиографические ссылки

1. Дьячук Т.И., Хомякова О.В., Акинина В.Н., Кибкало И.А., Поминов А.В. Микроспоровый эмбриогенез *in vitro* – роль стрессов // Вавиловский журнал селекции и генетики. 2019. 23(1). С. 86–94. DOI: 10.18699/VJ19.466.
2. Круглова Н.Н., Никонов В.И. Морфометрический критерий оптимальной стадии развития пыльника при биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы // Вестник БГАУ. 2018. № 4. С. 34–39. DOI: 10.31563/1684-7628-2018-48-4-34-39.
3. Лаврова Н.В. Практические аспекты андрогенеза *in vitro* озимой мягкой пшеницы // Известия ТСХА. 2006. Вып. 4. С. 108–114.
4. Любушкина И.В., Поморцев А.В., Полякова М.С., Арбузова Г.А., Войников В.К., Анапияев Б.Б. Влияние инициальных сред и длительности холодовой предобработки на эффективность андрогенеза в культуре изолированных пыльников озимой пшеницы сорта Иркутская // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология». 2020. Т. 34. С. 20–32. DOI: 10.26516/2073-3372.2020.34.20.

5. Некрасов Е.И., Марченко Д.М., Рыбась И.А., Иванисов М.М., Гричаникова Т.А., Романюкина И.В. Изучение урожайности и элементов ее структуры у сортов озимой мягкой пшеницы по предшественнику подсолнечник // Зерновое хозяйство России. 2018. № 6(60). С. 46–49. DOI: 10.31367/2079-8725-2018-60-6-46-49.
6. Некрасова О.А., Костылев П.И., Некрасов Е.И. Изучение типов наследования массы 1000 зерен у гибридов F2 мягкой озимой пшеницы // Зерновое хозяйство России. 2017. № 1 (49). С. 20–23.
7. Сельдиминова О.А., Никонов В.И. Факторы, влияющие на отзывчивость в культуре *in vitro* изолированных пыльников злаков // Экобиотех. 2021. Том 4. № 2. С. 107–120. DOI: 10.31163/2618-964X-2021-4-2-107-120.
8. Уразалиев К.Р. Гаплоидные технологии в селекции растений // Биотехнология. Теория и практика. 2015. № 3. С. 33–44.
9. Abd El-Fatah B. E. S., Sayed M. A., El-Sanussy S. A. Genetic analysis of anther culture response and identification of QTLs associated with response traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Mol. Biol. Rep. 2020. V. 47. № 12. P. 9289–9300. DOI: 10.1007/s11033-020-06007-z.
10. Bilichak A., Sastry-Dent L., Sriram S., Simpson M., Samuel P., Webb S., Jiang F., Eudes F. Genome editing in wheat microspores and haploid embryos mediated by delivery of ZFN proteins and cell-penetrating peptide complexes // Plant Biotechnology Journal. 2020. № 18. P. 1307–1316. DOI: 10.1111/pbi.13296.
11. Broughton S., Castello M., Liu L., Killen J., Hepworth A., O'leary R. The effect of Caffeine and Triflurain on chromosome doubling in wheat anther culture // Plants. 2020. № 9. 105 p. DOI: 10.3390/plants9010105.
12. Castillo A., Sánchez-Díaz R., Vallés M. Effect of ovary induction on bread wheat anther culture: ovary genotype and developmental stage, and candidate gene association // Front Plant Sci. 2015. № 6. 402 p. DOI: 10.3389/fpls.2015.00402.
13. Dwivedi S. L., Britt A. B., Tripathi L., Sharma S., Upadhyaya H. D., Ortiz R. Haploids: constraints and opportunities in plant breeding // Biotechnol. Adv. 2015. V. 33, № 6. P. 812–829. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.001.
14. Echávarri B., Clstué L. Enhancement in androgenesis efficiency in barley (*Hordeum vulgare* L.) and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by the addition of dimethyl sulfoxide to the mannitol pretreatment medium // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2016. № 125. P. 11–22.
15. Kanbar O. Z., Lantos C., Kiss E., Pauk J. Androgenic responses of winter wheat combinations in *in vitro* anther culture // Genetika-Belgrade. 2020. № 52. P. 337–350. DOI: 10.2298/GENSR2001335K.
16. Lantos C., Pauk J. Anther culture as an effective tool in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding // Russian Journal of Genetics. 2016. № 52. P. 794–801.
17. Lantos C., Purgel S., Ács K., Langó B., Bóna L., Boda K., Békés F., Pauk J. Utilization of *in vitro* anther culture in spelt wheat breeding // Plants. 2019. № 8. 436 p. DOI: 10.3390/plants8100436.
18. Orłowska R., Pachota K. A., Machczynska J., Nledziela A., Makowska K., Zimny J., Bednarek P. T. Improvement of anther cultures conditions using the Taguchi method in three cereal crops // Electronic Journal of Biotechnology. 2020. № 43. P. 8–15.
19. Ouyang J. W., Liang H., Zhang C., Zhao T. H., Jia S. E. The effect of potato extract used as additive in anther culture medium on culture responses in *Triticum aestivum* (L.) // Cereal Research Communications. 2004. № 32. P. 501–508.
20. Kumar P., Yadava R., Gollen B., Kumar S., Kant R., Yadav S. // Nutritional Contents and Medicinal Properties of Wheat // A Review. Life Sciences and Medicine Research. Volume 2011: LSMR-22. P. 1–10.
21. Lazaridou A., Peysakhovich, A., Baroni M. Multi-agent cooperation and the emergence of (natural) language // in International Conference on Learning Representations (ICLR 2017) (Toulon). 2017.
22. Sen A. Retrotransposon insertion variations in doubled haploid bread wheat mutants // Plant Growth Regulation. 2017. № 81. P. 325–333.
23. Su Ying-Hua, Liu Yu-Bo, Zhang Xian-Sheng. Auxin – Cytokinin Interaction Regulates Meristem Development // Mol. Plant. 2011. 4(4). P. 616–625. DOI: 10.1093/mp/ssr007.
24. Wang H. M., Enns J. L., Brost J. M., Orr T. D., Ferrie A. Improving the efficiency of wheat microspore culture evaluation of pretreatments, gradients, and epigenetic chemicals // Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2019. № 139. P. 589–599.
25. Wajdzik K., Golebiowska G., Dyda M., Gawronska K., Rapacz M., Wedzony M. The QTL mapping of the important breeding traits in winter triticale (X *Triticosecale* Wittm.) // Cereal Research Communications. 2019. № 47. P. 395–408. DOI: 10.1556/0806.47.2019.24.
26. Weigt D., Kiel A., Siatkowski I., Zyprych-Walczyk J., Tomkowiak A., Kwiatak M. Comparison of androgenic response of spring and winter wheat // Plants. 2020. № 9. 49 p. DOI: 10.3390/plants9010049.

References

1. D'yachuk T. I., Khomyakova O. V., Akinina V. N., Kibkalo I. A., Pominov A. V. Mikrospоровый эмбриогенез *in vitro* – роль стрессов [Microspore embryogenesis *in vitro*, the role of stress] // Vavilovskii zhurnal selektsii i genetiki. 2019. 23(1). S. 86–94. DOI: 10.18699/VJ19.466.
2. Kruglova N. N., Nikonov V. I. Morfometricheskii kriterii optimal'noi stadii razvitiya pyl'nika pri biotekhnologicheskikh issledovaniyakh yarovoi myagkoi pshenitsy [Morphometric criterion of the optimal anther development stage in biotechnological study of spring common wheat] // Vestnik BGAU. 2018. № 4. S. 34–39. DOI: 10.31563/1684-7628-2018-48-4-34-39.
3. Lavrova N. V. Prakticheskie aspekty androgeneza *in vitro* ozimoi myagkoi pshenitsy [Practical aspects of androgenesis *in vitro* of winter common wheat] // Izvestiya TSKhA. 2006. Vyp. 4. S. 108–114.
4. Lyubushkina I. V., Pomortsev A. V., Polyakova M. S., Arbuzova G. A., Voinikov V. K., Anapiyaev B. B. Vliyaniye initsial'nykh sred i dlitel'nosti kholodovoi predobrabotki na effektivnost' androgeneza v kul'ture izolirovannykh pyl'nikov ozimoi pshenitsy sorta Irkutskaya [The effect of initial media and duration of cold

pretreatment on the androgenesis efficiency in the culture of isolated anthers of the winter wheat variety 'Irkutskaya' // Izvestiya Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Biologiya. Ekologiya. 2020. T. 34. S. 20–32. DOI: 10.26516/2073-3372.2020.34.20.

5. Nekrasov E.I., Marchenko D.M., Rybas' I. A., Ivanisov M.M., Grichanikova T.A., Romanyukina I.V. Izuchenie urozhnosti i elementov ee struktury u sortov ozimoi myagkoi pshenitsy po predshestvenniku podsolnechnik [The study of productivity and yield structure elements of the winter common wheat varieties sown after sunflower] // Zernovoe khozyaistvo Rossii. 2018. № 6(60). S. 46–49. DOI: 10.31367/2079-8725-2018-60-6-46-49.

6. Nekrasova O.A., Kostylev P.I., Nekrasov E.I. Izuchenie tipov nasledovaniya massy 1000 zeren u gibridov F2 myagkoi ozimoi pshenitsy [The study of inheritance types of 1000-grain weight in F2 hybrids of winter common wheat] // Zernovoe khozyaistvo Rossii. 2017. № 1 (49). S. 20–23.

7. Sel'dimirova O. A., Nikonov V.I. Faktory, vliyayushchie na otzyvchivost' v kul'ture *in vitro* izolirovannykh pyl'nikov zlakov [Factors affecting the responsiveness *in vitro* of isolated anthers of grain crops] // Ekobiotekh. 2021. T. 4, № 2. S. 107–120. DOI: 10.31163/2618-964X-2021-4-2-107-120.

8. Urzaliyev K. R. Gaploidnye tekhnologii v selektsii rastenii [Haploid technologies in plant breeding] // Biotehnologiya. Teoriya i praktika. 2015. № 3. S. 33–44.

9. Abd El-Fatah B. E. S., Sayed M.A., El-Sanussy S.A. Genetic analysis of anther culture response and identification of QTLs associated with response traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Mol. Biol. Rep. 2020. V. 47, № 12. P. 9289–9300. DOI: 10.1007/s11033-020-06007-z.

10. Bilichak A., Sastry-Dent L., Sriram S., Simpson M., Samuel P., Webb S., Jiang F., Eudes F. Genome editing in wheat microspores and haploid embryos mediated by delivery of ZFN proteins and cell-penetrating peptide complexes // Plant Biotechnology Journal. 2020. № 18. P. 1307–1316. DOI: 10.1111/pbi.13296.

11. Broughton S., Castello M., Liu L., Killen J., Hepworth A., O'leary R. The effect of Caffeine and Triflurain on chromosome doubling in wheat anther culture // Plants. 2020. № 9. 105 r. DOI: 10.3390/plants9010105.

12. Castillo A., Sánchez-Díaz R., Vallés M. Effect of ovary induction on bread wheat anther culture: ovary genotype and developmental stage, and candidate gene association // Front Plant Sci. 2015. № 6. 402 r. DOI: 10.3389/fpls.2015.00402.

13. Dwivedi S. L., Britt A. B., Tripathi L., Sharma S., Upadhyaya H. D., Ortiz R. Haploids: constraints and opportunities in plant breeding // Biotechnol. Adv. 2015. V. 33, № 6. P. 812–829. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.001.

14. Echávarri B., Clstué L. Enhancement in androgenesis efficiency in barley (*Hordeum vulgare* L.) and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by the addition of dimethyl sulfoxide to the mannitol pretreatment medium // Plant Cell., Tissue and Organ Culture. 2016. № 125. P. 11–22.

15. Kanbar O. Z., Lantos C., Kiss E., Pauk J. Androgenic responses of winter wheat combinations in *in vitro* anther culture // Genetika-Belgrade. 2020. № 52. P. 337–350. DOI: 10.2298/GENSR2001335K.

16. Lantos C., Pauk J. Anther culture as an effective tool in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding // Russian Journal of Genetics. 2016. № 52. P. 794–801.

17. Lantos C., Purgel S., Ács K., Langó B., Bóna L., Boda K., Békés F., Pauk J. Utilization of *in vitro* anther culture in spelt wheat breeding // Plants. 2019. № 8. 436 r. DOI: 10.3390/plants8100436.

18. Orlowska R., Pachota K. A., Machczynska J., Nledziela A., Makowska K., Zimny J., Bednarek P. T. Improvement of anther cultures conditions using the Taguchi method in three cereal crops // Electronic Journal of Biotechnology. 2020. № 43. P. 8–15.

19. Ouyang J. W., Liang H., Zhang C., Zhao T. H., Jia S. E. The effect of potato extract used as additive in anther culture medium on culture responses in *Triticum aestivum* (L.) // Cereal Research Communications. 2004. № 32. P. 501–508.

20. Kumar R., Yadava R., Gollen V., Kumar S., Kant R., Yadav S. // Nutritional Contents and Medicinal Properties of Wheat // A Review. Life Sciences and Medicine Research. Volume 2011: LSMR-22. R. 1–10.

21. Lazaridou A., Peysakhovich A., Baroni M. Multi-agent cooperation and the emergence of (natural) language // in International Conference on Learning Representations (ICLR 2017) (Toulon). 2017.

22. Sen A. Retrotransposon insertion variations in doubled haploid bread wheat mutants // Plant Growth Regulation. 2017. № 81. P. 325–333.

23. Su Ying-Hua, Liu Yu-Bo, Zhang Xian-Sheng. Auxin – Cytokinin Interaction Regulates Meristem Development // Mol. Plant. 2011. 4(4). P. 616–625. DOI: 10.1093/mp/ssr007.

24. Wang H. M., Enns J. L., Brost J. M., Orr T. D., Ferrie A. Improving the efficiency of wheat microspore culture evaluation of pretreatments, gradients, and epigenetic chemicals // Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2019. № 139. P. 589–599.

25. Wajdzik K., Golebiowska G., Dyda M., Gawronska K., Rapacz M., Wedzony M. The QTL mapping of the important breeding traits in winter triticale (X *Triticosecale* Wittm.) // Sereal Research Communications. 2019. № 47. P. 395–408. DOI: 10.1556/0806.47.2019.24.

26. Weigt D., Kiel A., Siatkowski I., Zyprych-Walczak J., Tomkowiak A., Kwiatek M. Comparison of androgenic response of spring and winter wheat // Plants. 2020. № 9. 49 r. DOI: 10.3390/plants9010049.

Поступила: 29.04.22; доработана после рецензирования: 11.05.22; принята к публикации: 12.05.22.

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. Некрасова О. А. – концептуализация и проектирование исследования, сбор данных, анализ данных и интерпретация, подготовка рукописи; Калинина Н. В. – анализ данных и интерпретация.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.