

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕГЕНЕРАНТНЫХ ЛИНИЙ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ *IN VITRO*

Н. Г. Черткова, младший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, tycik17082012@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-4005-9771;

Н. В. Калинина, младший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, kalinina74783@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-2305-4189;

В. Ю. Донцова, младший научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, dontsova.vale4ka@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0003-1083-9881;

Д. М. Марченко, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник отдела селекции и семеноводства озимой пшеницы, wiza101@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-5251-3903
ФГБНУ Аграрный научный центр «Донской»,
347740, Ростовская обл., г. Зерноград, ул. Научный городок, д. 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

Эффективность метода культуры пыльников *in vitro* во многом зависит от отзывчивости сортов и гибридов на индукцию андрогенеза. Цель исследований – провести оценку результативности гаплопродукции регенерантных линий (R_0) озимой мягкой пшеницы, полученных методом культуры пыльников *in vitro* и выращенных в условиях теплицы. Для выполнения указанной цели была поставлена следующая задача: выполнить морфометрическую оценку полученных колосьев (R_0) для определения уровня их фертильности. Работу проводили в лаборатории клеточной селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» в 2021–2022 годах. Объектом исследования послужили 7 гибридных комбинаций озимой пшеницы, которые были отзывчивы на андрогенез *in vitro* в культуре изолированных пыльников. В результате индуцированного андрогенеза на искусственной питательной среде было получено 333 новообразования, представленных каллусами, эмбриоидами и эмбриогенными комплексами. Зеленые растения-регенеранты были проаровизированы в пробирках, расклонированы, дилоидизированы, затем пересажены в почву. Получено 13 гаплоидных линий, из них выжившими после диплоидизации оказались 34 растения. Самая высокая гаплопродукционная способность выявлена у гибридной комбинации F_3 Ростовчанка 7 х Безостая 100. В этой комбинации образовалось 8 зеленых регенерантов, из которых вместе с клонами получено 21 растение (выжили из них 18 шт.). В результате цитометрической оценки всего по гибридным комбинациям идентифицировано 25 дигаплоидных ($2n = 42$) и 16 гаплоидных ($n = 21$) растений пшеницы, в том числе по комбинации Ростовчанка 7 х Безостая 100 – 13 дигаплоидов. В результате структурного анализа и морфометрической оценки колоса выявлена разная степень фертильности андрогенных растений-регенерантов. Установлена перспективность использования в дальнейшей селекционной работе дигаплоидной линии 79.2.1.2 на основе гибридной комбинации F_3 Ростовчанка 7 х Безостая 100 с наибольшими значениями таких элементов продуктивности, как число колосьев, число и масса зерен с колоса.

Ключевые слова: озимая пшеница, растение-регенерант, гаплоид, дигаплоид, гаплопродукция, фертильность.

Для цитирования: Черткова Н. Г., Калинина Н. В., Донцова В. Ю., Марченко Д. М. Оценка результативности получения регенерантных линий озимой мягкой пшеницы в культуре пыльников *in vitro* // Зерновое хозяйство России. 2023. Т. 15, № 1. С. 76–81. DOI: 10.31367/2079-8725-2023-84-1-76-81.



ESTIMATION OF THE EFFICIENCY OF DEVELOPING REGENERATIVE WINTER BREAD WHEAT LINES IN ANTHER CULTURE *IN VITRO*

N. G. Chertkova, junior researcher of the laboratory for cell breeding, tycik17082012@gmail.com, ORCID ID: 0000-0003-4005-9771;

N. V. Kalinina, junior researcher of the laboratory for cell breeding, kalinina74783@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-2305-4189;

V. Yu. Dontsova, junior researcher of the laboratory for cell breeding, dontsova.vale4ka@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0003-1083-9881;

D. M. Marchenko, Candidate of Agricultural Sciences, leading researcher of the department of winter wheat breeding and seed production, wiza101@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-5251-3903
FSBSI Agricultural Research Center "Donskoy",
347740, Rostov region, Zernograd, Nauchny Gorodok street, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

The efficiency of the anther culture method *in vitro* largely depends on the responsiveness of varieties and hybrids to the induction of androgenesis. The purpose of the current study was to estimate the efficiency of haploproduction of regenerated lines (R_0) of winter bread wheat developed by anther culture *in vitro* and grown in a greenhouse. To achieve this goal, there was set a task to conduct a morphometric estimation of the developed heads (R_0) to identify their fertility level. The study was carried out in the laboratory of cell breeding of the FSBSI Agricultural Research Center "Donskoy" in 2021–2022. The objects of the study were 7 hybrid combinations of winter wheat, which were responsive to androgenesis *in vitro* in the culture of isolated anthers. As a result of induced androgenesis on an artificial nutrient medium, there were identified 333 neoplasms, represented by calluses, embryoids and embryogenic complexes. Green regenerated plants were vernalized in test tubes, cloned, diloidized, then planted into soil. There were obtained

13 haploid lines, after diploidization only 34 plants survived. The highest haploproductive capacity was established in the hybrid combination F_3 'Rostovchanka 7xBezostaya 100'. In this combination, there were formed 8 green regenerants, 21 plants of which were developed together with clones, 18 of which survived. The cytometric estimation has shown, that 25 dihaploid ($2n = 42$) and 16 haploid ($n = 21$) wheat plants have been identified by hybrid combinations, including 13 dihaploids from the combination 'Rostovchanka 7xBezostaya 100'. As a result of the structural analysis and morphometric estimation of the head there has been found a different fertility degree of androgenic regenerated plants. There have been established prospects of using the dihaploid line '79.2.1.2' in further breeding work based on the hybrid combination F_3 'Rostovchanka 7xBezostaya 100' with the highest values of such yield elements as 'number of heads', 'number and weight of grains per head'.

Keywords: winter wheat, regenerated plant, haploid, dihaploid, haploproduction, fertility.

Введение. Пшеница – это одна из важнейших сельскохозяйственных культур во всем мире. Миллионы людей употребляют пшеницу в качестве основного продукта питания. Выведение новых сортов с более высокими качественными и количественными показателями занимает порядка 10 лет. В последнее время в селекции озимой пшеницы применяют современные биотехнологические методы, которые позволяют ускорить процесс выведения сорта. Эти технологии, в частности культура пыльников *in vitro*, дают возможность получить дигаплоидные линии на основе гаплоидных растений при удвоении числа хромосом. Полученные дигаплоидные линии уникальны, и в повторных генерациях возможно отобрать генотипы с нужными признаками и детально их изучить (Осадчая и др., 2016; Grauda et al., 2016).

Результативность метода культуры пыльников *in vitro* во многом зависит от отзывчивости сортов и гибридов на индукцию андрогенеза. Таким образом, зависимость от генотипа не позволяет обеспечить предсказуемость результатов и подталкивает исследователей на поиски возможной активации морфогенетической компетентности гибридных комбинаций пшеницы в условиях *in vitro* (Круглова и др., 2017; Khumalo et al., 2022).

Одним из вариантов повышения эффективности гаплопродукции является получение не единичных проростков из эмбриоподобных структур или каллусов, а кластеров, источниками которых являются эмбриогенные комплексы. Преимущество их заключается в том, что из них регенерируют целые семьи растений. Растения из одного кластера могут быть как генетически идентичными, так и гетерогенными (Bustos et al., 2013; Круглова и др., 2022).

При использовании дигаплоидных растений экспрессия рецессивных аллелей не блокируется и не маскируется доминантными аллелями, что позволяет получить более точную картину разнообразия, присутствующего в гаметических клетках (Scagliusi, 2014). Однако для растений-регенерантов, полученных из клеток гамет в условиях *in vitro*, характерно проявление гаметоклональной изменчивости. К таким проявлениям относится возникновение альбиносных растений. Мутации в ядерном геноме и цитогенетическая изменчивость приводят к стерильности или снижению фертильности дигаплоидных растений. Удвоение числа хромосом у регенерантных проростков обеспечивает восстановление их

фертильности, поэтому для создания дигаплоидных линий актуально отбирать растения после изучения завязываемости семян в колосе и цитологической оценки (Осадчая и др., 2016; Петраш и др., 2022).

Цель исследований – оценить результативность гаплопродукции регенерантных линий (R_0) озимой мягкой пшеницы, полученных методом культуры пыльников *in vitro* и выращенных в условиях теплицы. Для выполнения указанной цели была поставлена следующая задача: провести морфометрическую оценку полученных колосьев (R_0) для определения уровня их фертильности.

Материалы и методы исследований.

Объектом исследования послужили 7 гибридных комбинаций F_3 озимой мягкой пшеницы селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» лаборатории интенсивного и полунтенсивного типа: 586/13 х Алексеич, Ростовчанка 7 х Безостая 100, 1585/16 х Княгиня Ольга, Гигант х Краса Дона, Вольница х Герда, Капитан х Амбар, Капитан х Вольный Дон. Они были отзывчивы на андрогенез *in vitro* в культуре изолированных пыльников (то есть сформировали эмбриогенные структуры, из которых получены зеленые растения-регенеранты). Зеленые регенеранты выращивали по общепринятой методике (Методические рекомендации по получению гаплоидных растений мягкой пшеницы в культуре пыльников, 1989). Растения с хорошо развитой корневой системой яровизировали в пробирках в бытовом холодильнике 40–50 дней при температуре 4 °C (Акинина и др., 2020). Потом они были перенесены в световую комнату на стеллажи на 10–14 дней для возобновления процесса фотосинтеза. Зеленые регенеранты извлекали из пробирок, отмывали корни от агара и аккуратно высаживали в вегетационные сосуды, наполненные смесью из предварительно просеянной почвы, песка и торфа (1:1:1). Для поддержания влажности их прикрывали стаканами. В течение трех недель растения подкармливали жидкой средой MS (наполовину разбавленной водой), проводили закаливание. Так их подготавливали к диплоидизации и пересадке в теплицу.

Хорошо раскустившиеся кластеры растений-регенерантов были расклонированы. Плоидность регенерантов определяли с помощью проточного цитофлуориметра Guava Muse. Метод проточной цитометрии основан на использовании ДНК-специфических флуорохромов относительной интенсивности флуоресценции окрашенных ядер, получил ши-

рокое распространение в культуре пыльников *in vitro*. Уровень плоидности каждого образца оценивали путем сравнения пиков гистограммы. В качестве контроля использовали образцы озимой мягкой пшеницы стандартного генотипа ($2n = 42$).

Диплоидизацию растений проводили путем колхицинирования методом погружения корней в раствор колхицина (0,2 % с ДМСО) и высаживали в почву. Регенеранты выращивали при тщательном уходе. Появляющиеся колосья изолировали пергаментными изоляторами до созревания в них зерен. После созревания колосья срезали и проводили морфометрическую оценку для оценки фертильности. Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы Excel.

Результаты и их обсуждение. В предыдущей нашей работе в результате индуцированного андрогенеза на искусственной питательной среде было получено 333 новообразования из 7 гибридных комбинаций озимой мягкой пшеницы. Новообразования были представлены каллусами, эмбриоидами и эмбриогенными комплексами с варьированием частоты по генотипам от 0,5 до 26 % (Калинина, 2021).

В процессе исследований в условиях теплицы было получено 13 гаплоидных линий, представленных 14 зелеными регенерантами. После проведения клонирования растений-регенерантов из эмбриогенных комплексов всего было получено 41 растение, 7 шт. (17 %) из них погибли после обработки колхицином. Количество хорошо развитых растений составило 34 шт. (табл. 1).

Таблица 1. Гаплопродукционная способность гибридных комбинаций F_3 озимой мягкой пшеницы (2022 г.)
Table 1. Haploproductive capacity of hybrid combinations F_3 of winter bread wheat (2022)

№ п/п	Гибридная комбинация	Гаплоидная линия	Количество зеленых регенерантов, шт.	Количество растений, в том числе клонов, до обработки колхицином, шт.	Количество растений, выживших, после диплоидизации, шт.
1	586/13 х Алексеич	85.2.1.1	1	1	1
2	Ростовчанка 7 х Безостая 100	79.1.5.1	1	8	6
3	Ростовчанка 7 х Безостая 100	79.1.5.2	1	3	3
4	Ростовчанка 7 х Безостая 100	79.1.5.3	1	2	2
5	Ростовчанка 7 х Безостая 100	79.1.6.1	1	1	1
6	Ростовчанка 7 х Безостая 100	79.3.4.1	2	2	2
7	Ростовчанка 7 х Безостая 100	79.2.1.1	1	3	2
8	Ростовчанка 7 х Безостая 100	79.2.1.2	1	2	2
9	1585/16 х Княгиня Ольга	84.3.1.1	1	8	5
10	Гигант х Краса Дона	80.2.5.1	1	3	3
11	Вольница х Герда	78.3.2.1	1	6	5
12	Капитан х Амбар	72.3.3.1	1	1	1
13	Капитан х Вольный Дон	91.1.5.1	1	1	1
Сумма			14	41	34

Самая высокая гаплопродукционная способность выявлена у гибридной комбинации F_3 Ростовчанка 7 х Безостая 100. В этой комбинации образовалось 8 зеленых регенерантов, из которых вместе с клонами получено 21 растение, из них выжило 18 шт. У гибридных комбинаций 586/13 х Алексеич, Капитан х Амбар, Капитан х Вольный Дон оказалась самая низкая гаплопродукционная способность – по одному регенеранту и соответственно по одному растению.

После обработки колхицином у части гибридных комбинаций не произошло удвоение

количества хромосом, то есть не все растения стали дигаплоидами. В результате исследований получено 23 дигаплоидных ($2n = 42$) и 11 гаплоидных ($n = 21$) растений пшеницы (рис. 1).

Известно, что гаплоидные растения имеют стерильные цветки либо вообще не дают колос. По результатам морфологической оценки колосьев и в соответствии с цитометрическим анализом все зеленые растения (клоны) разделили на фертильные (с семенами) и стерильные растения (без семян) (рис. 2).

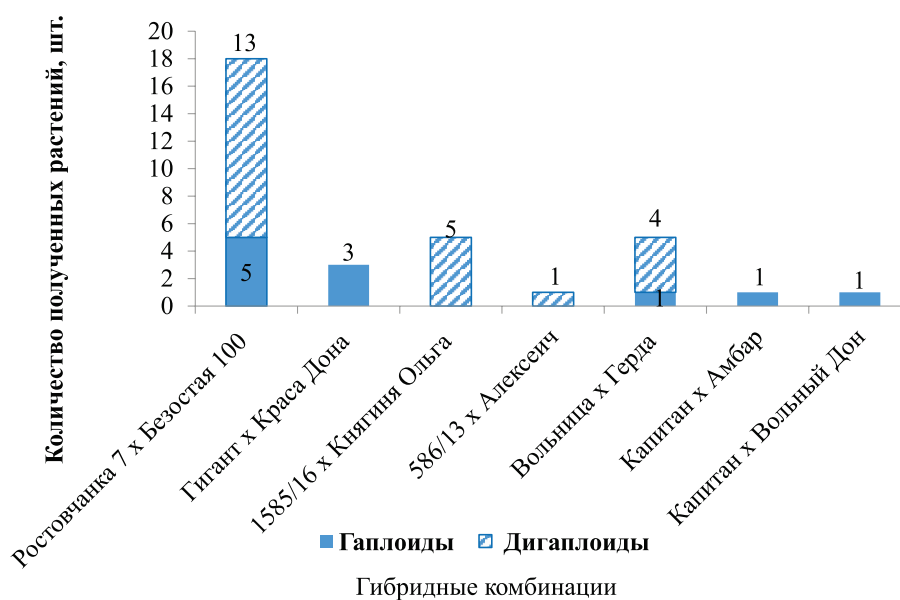
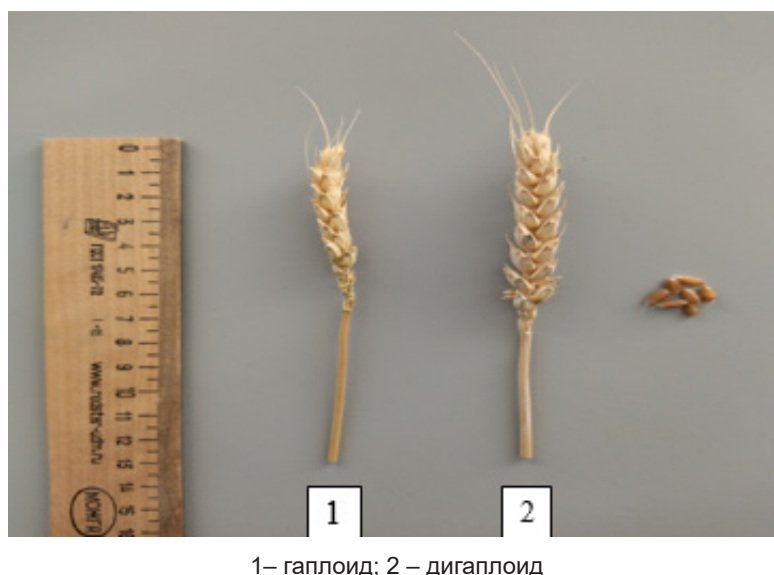


Рис. 1. Пloidность растений-регенерантов озимой мягкой пшеницы (2022 г.)
Fig. 1. Ploidy of the regenerated winter bread wheat plants (2022)



1 – гаплоид; 2 – дигаплоид

Рис. 2. Морфологические признаки колосьев растений-регенерантов озимой мягкой пшеницы различной пloidности

Fig. 2. Morphological traits of the regenerated winter bread wheat plants' heads of different ploidy

В фенофазу полной спелости зерна была проведена морфометрическая оценка показателей колоса 13 каллусных линий, а именно 34 клонов. В результате оценки установлено, что у всех регенерантных линий выход семян был относительно низким. Анализ данных показал, что часть колосьев имела значительную

пустозерность и щуплость зерновок. Также были каллусные линии 72.3.3.1 и 91.1.5.1, которые не образовали колосьев. Каллусные линии 80.2.5.1 (3 колоса) и 79.1.5.3 (2 колоса) не образовали ни одной зерновки, то есть были полностью стерильны (табл. 2).

Таблица 2. Морфометрические показатели колоса андрогенных каллусных линий озимой пшеницы поколения R_0 в условиях теплицы (2022 г.)
Table 2. Morphometric parameters of the head of androgenic callus lines of winter wheat generation R_0 in a greenhouse (2022)

№ п/п	Каллусная линия	Число клонов, шт.	Число колосьев, шт.	Длина колоса, см	Кол-во колосков в колосе, шт.	Кол-во зерен в колосе, шт.	Масса зерен в колосе, г
1	85.2.1.1	1	4	8,4	23,4	18,8	0,77
2	79.1.5.1	6	14	5,4	16,2	8,4	0,28

Продолжение табл. 2

№ п/п	Каллусная линия	Число клонов, шт.	Число колосьев, шт.	Длина колоса, см	Кол-во колосков в колосе, шт.	Кол-во зерен в колосе, шт.	Масса зерен в колосе, г
3	79.1.5.2	3	17	5,8	18,8	4,4	0,11
4	79.1.5.3	2	2	5,4	17,5	0	0
5	79.1.6.1	1	3	7,0	19,7	22,7	0,49
6	79.3.4.1	2	6	5,6	18,2	14,8	0,34
7	79.2.1.1	2	7	5,8	16,3	13,5	0,50
8	79.2.1.2	2	5	8,1	22,4	30,0	0,97
9	84.3.1.1	5	15	5,9	13,0	10,6	0,28
10	80.2.5.1	3	7	6,8	21,6	0	0
11	78.3.2.1	5	10	5,9	14,2	15,1	0,36
12	72.3.3.1	1	0	0	0	0	0
13	91.1.5.1	1	0	0	0	0	0
Среднее		–	4,4	5,4	14,8	7,8	0,21
Стандартное отклонение		–	3,2	2,6	7,4	7,2	0,19
Область разброса индивидуальных значений		–	±0,89	±0,72	±2,06	±2,0	±0,05

Варьирование по признаку число колосьев составило от 0 до 17 шт., превышение на величину стандартного отклонения по сравнению со средней отмечено у трех каллусных линий: 79.1.5.1 (14 шт.), 79.1.5.2 (17 шт.), 84.3.1.1 (15 шт.). По признакам «длина колоса» и «количество колосков в колосе» выделились каллусные линии 85.2.1.1 и 79.2.1.2 со значениями 8,4 см – 23,4 шт. и 8,1 см – 22,4 шт. соответственно. Максимальные значения по признакам «количество зерен» и «масса зерна в колосе» отмечены у каллусных линий 79.2.1.2 (30 шт. и 0,97 г.), 79.1.6.1 (22,7 шт. и 0,49 г.) и 85.2.1.1 (18,8 шт. и 0,77 г.). Масса зерна с колосьев во всех комбинациях не превышала 1 г. Морфологические признаки каллусных линий изменялись на величину стандартного отклонения.

Таким образом, полученные данные показали разный уровень фертильности андрогенных растений-регенерантов. Выявлена перспективная для дальнейшей селекционной работы дигаплоидная линия 79.2.1.2 из гибридной комбинации F_3 Ростовчанка 7 х Безостая 100 с наибольшими значениями таких элемен-

тов продуктивности, как число колосьев, число и масса зерен с колоса.

Все полученные каллусные линии, характеризующиеся высокой фертильностью, представляют интерес, поскольку они отзывчивы к андрогенезу. Семена R_1 высеяны на экспериментальной площадке для дальнейшего изучения и отбора ДГ-линий, сохраняющих высокий уровень фертильности при селекционных испытаниях.

Выводы. В результате проведенных исследований с использованием гаплоидной технологии на основе культуры пыльников *in vitro* были получены эмбриониды, морфогенные каллусы и растения-регенеранты, из которых были созданы дигаплоидные линии озимой мягкой пшеницы на основе 7 гибридных комбинаций. Из отдельных андрогенных структур было выращено 14 растений-регенерантов. В результате их клонирования получено 34 растения-клона. Проведена морфометрическая оценка колосьев растений озимой пшеницы R_0 , выращенных в условиях теплицы. Выявлена высокая способность гаплопродукции и фертильности колосьев у гибридной комбинации F_3 Ростовчанка 7 х Безостая 100.

Библиографические ссылки

- 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.
- Калинина Н. В. Создание гаплоидов в культуре пыльников озимой мягкой пшеницы // Зерновое хозяйство России. 2021. № 6(78). С. 21–26. DOI: 10.31367/2079-8725-2021-78-6-21-26.
- Круглова Н. Н., Сельдиминова О. А., Зайцев Д. Ю., Галин И. Р., Зинатуллина А. Е., Анохина Н. С. Развитие андроклиных растений пшеницы в лабораторных условиях *in vitro* и *ex vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 3. С. 21–25.
- Круглова Н. Н., Сельдиминова О. А. Эмбриогенез *in vivo* засухоустойчивых регенерантов яровой мягкой пшеницы, полученных в эмбриокультуре *in vitro* // Таврический вестник аграрной науки. 2022. № 1 (29). С. 65–78.
- Осадчая Т. С., Трубочеева Н. В., Кравцова Л. А., Белан И. А., Россеева Л. П., Першина Л. А. Изучение фертильности и цитогенетической изменчивости у андрогенных растений (R_0 и R_1) аллоплазматических интрогрессивных линий мягкой пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20, № 3. С. 370–377. DOI: 10.18699/VJ16.165.
- Петраш Н. В., Орлова Е. А., Лихенко И. Е., Пискарев В. В. Изучение эффективности культуры пыльников *in vitro* сортов и гибридов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Зерновое хозяйство России. 2022. Т. 14, № 6. С. 17–22. DOI: 10.31367/2079-8725-2022-83-6-17-22.

7. Bustos D.V., Hasan A.K., Reynolds M.P., Calderini D.F. Combining high grain number and weight through a DH-population to improve grain yield potential of wheat in high-yielding environments // *Field Crops Research*. 2013. Vol. 145, P. 106–115. DOI: 10.1016/j.fcr.2013.01.015.

8. Grauda D., Žagata K., Lanka G., Strazdina V., Fetere V., Lisina N., Krasnevskaya N., Fokina O., Mikelson A., Ornicans R., Belogradova I., Rashal I. Genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants-regenerants produced by anther culture. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii*=Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016. Vol 20(4), P. 537–544. DOI: 10.18699/VJ16.176.

9. Khumalo T.P., Barnard A., Dube E., Tsilo T.J. Characterization of vegetative vigor of two doubled-haploid wheat populations // *Journal of Crop Improvement*. 2022. Vol. 36, № 3. P. 350–368. DOI: 10.1080/15427528.2021.1970675.

10. Scagliusi S.M. Establishing isolated microspore culture to produce doubled haploid plants in Brazilian wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Brazilian Agricultural Research Corporation*. 2014. Vol. 8(6), P. 101–109.

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 [Methods of tissue culture *in vitro* for developing initial material for triticale breeding in the Volga region] // *Zernovoe khozyaistvo Rossii*. 2020. № 1(67). S. 64–68. DOI: 10.31367/2079-8725-2020-67-1-64-68.

2. Kalinina N.V. Sozdanie gaploidov v kul'ture pyl'nikov ozimoi myagkoi pshenitsy [Development of haploids in the anther culture of winter bread wheat] // *Zernovoe khozyaistvo Rossii*. 2021. № 6(78). S. 21–26. DOI: 10.31367/2079-8725-2021-78-6-21-26.

3. Kruglova N.N., Sel'dimirova O. A., Zaitsev D. Yu., Galin I. R., Zinatullina A. E., Anokhina N. S. Razvitie androklennykh rastenii pshenitsy v laboratornykh usloviyakh *in vitro* i *ex vitro* [Development of androclonic wheat plants under laboratory conditions *in vitro* and *ex vitro*] // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2017. № 3. S. 21–25.

4. Kruglova N.N., Sel'dimirova O.A. Embriogeneza *in vivo* zasukhoustoichivyykh regenerantov yarovoi myagkoi pshenitsy, poluchennykh v embriokul'ture *in vitro* [Embryogenesis *in vivo* of drought-resistant spring bread wheat regenerants developed in embryo culture *in vitro*] // *Tavrcheskii vestnik agrarnoi nauki*. 2022. №. 1 (29). S. 65. EDN HEBDGL.

5. Osadchaya T.S., Trubacheeva N.V., Kravtsova L.A., Belan I.A., Rosseeva L.P., Pershina L.A. Izuchenie fertil'nosti i tsitogeneticheskoi izmenchivosti u androgennykh rastenii (R_0 i R_1) alloplazmaticheskikh introgressivnykh linii myagkoi pshenitsy [Study of fertility and cytogenetic variability in androgenic plants (R_0 and R_1) of alloplasmic introgressive bread wheat lines] // *Vavilovskii zhurnal genetiki i selekcii*. 2016. T. 20, № 3. S. 370–377. DOI: 10.18699/VJ16.165.

6. Petrash N.V., Orlova E.A., Likhenko I.E., Piskarev V.V. Izuchenie effektivnosti kul'tury pyl'nikov *in vitro* sortov i gibridov myagkoi pshenitsy (*Triticum aestivum* L.) [Study of the efficiency of anther culture of bread wheat varieties and hybrids *in vitro* (*Triticum aestivum* L.)] // *Zernovoe khozyaistvo Rossii*. 2022. T. 14, № 6. S. 17–22. DOI: 10.31367/2079-8725-2022-83-6-17-22.

7. Bustos D.V., Hasan A.K., Reynolds M.P., Calderini D.F. Combining high grain number and weight through a DH-population to improve grain yield potential of wheat in high-yielding environments // *Field Crops Research*. 2013. Vol. 145, P. 106–115. DOI: 10.1016/j.fcr.2013.01.015.

8. Grauda D., Žagata K., Lanka G., Strazdina V., Fetere V., Lisina N., Krasnevskaya N., Fokina O., Mikelson A., Ornicans R., Belogradova I., Rashal I. Genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants-regenerants produced by anther culture. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii*=Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016. Vol 20(4), P. 537–544. DOI: 10.18699/VJ16.176.

9. Khumalo T.P., Barnard A., Dube E., Tsilo T.J. Characterization of vegetative vigor of two doubled-haploid wheat populations // *Journal of Crop Improvement*. 2022. Vol. 36, № 3. P. 350–368. DOI: 10.1080/15427528.2021.1970675.

10. Scagliusi S.M. Establishing isolated microspore culture to produce doubled haploid plants in Brazilian wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Brazilian Agricultural Research Corporation*. 2014. Vol. 8(6), P. 101–109.

Поступила: 20.01.23; доработана после рецензирования: 17.02.23; принята к публикации: 17.02.23.

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. Калинина Н.В. – постановка цели и задач, формирование методологии исследования и концепции статьи, финальная доработка текста; Черткова Н.Г., Донцова В.Ю. – выполнение лабораторных опытов, сбор, анализ литературных и лабораторных данных, подготовка рукописи; Марченко Д.М. – предоставление материала для исследований, критический анализ текста.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.