

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДА КУЛЬТУРЫ ПЫЛЬНИКОВ *IN VITRO* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ ТРИТИКАЛЕ (×*TRITICOSECALE WITTMACK*)

В. Н. Акинина, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0003-3661-9246;

О. В. Хомякова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0002-5218-6076;

Т. И. Дьячук, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0001-7420-0521;

С. В. Жилин, аспирант лаборатории клеточной селекции, ORCID ID: 0000-0001-6181-5279;

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. Куликова, 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, д. 7; e-mail: cell_selection@list.ru

Культура пыльников является одним из наиболее востребованных методов получения гаплоидных растений тритикале. В статье представлены результаты изучения эффективности метода для получения гаплоидных растений у перспективных форм озимой тритикале селекции ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока». Проведена оценка параметров гаплопродукции у изученных генотипов на двух питательных средах – С-17 и Р-2. Неотзывчивых к андрогенезу генотипов не было выявлено. Установлено, что среда Potato-2 оказала достоверное положительное влияние на общее число эмбриогенных структур на 100 культивируемых пыльников у четырех генотипов из шести изученных – значение показателя увеличилось в 1–3 раза. Среднее значение показателя ЭС/100КП составило 23,3 при варьировании 6,4–75,1. Наибольшее число ЭС выявлено у генотипа № 96 (F₅ Зимогор/оз. мягкая пш. Л.39) – 45,8 и 75,1 на индукционных средах С-17 и Р-2 соответственно. Наименьшими показателями характеризовались два генотипа: № 95 (F₄ ДН13/оз. мягкая пш. Аткара/Водолей/АДП-2///Colina) и № 97 (F₅ МАГ/Водолей/ТИ-17). Регенерация растений варьировала от 3,4 до 22,1 при среднем значении 12,6 на 100ЭС. Среднее число зеленых растений на 100ЭС составило 3,9 при варьировании показателя от 0,4 до 12,1. Доля зеленых растений в зависимости от генотипа изменялась от 5,0 до 76,9 %. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил доминирующую роль генотипа на всех этапах гаплопродукции. Доля влияния питательной среды была статистически значимой, но незначительной по сравнению с генотипом. Установлено, что наряду с генотипической зависимостью и альбинизмом, ограничивающим фактором метода является и низкая частота регенерации эмбриоподобных структур. Всего в опыте из 7538 эмбриогенных структур получено 949 растений-регенерантов, из которых 326 зеленых. Соотношение зеленых растений к альбиносам составило 1 : 2.

Ключевые слова: тритикале (×*Triticosecale Wittmack*), селекция, гаплоидия, культура пыльников.

Для цитирования: Акинина В. Н., Хомякова О. В., Дьячук Т. И., Жилин С. В., Барнашова Е. К., Калашникова Э. В., Куликова В. П. Оценка эффективности метода культуры пыльников *in vitro* для получения гаплоидных растений тритикале (×*Triticosecale Wittmack*) // Зерновое хозяйство России. 2023. Т 15, № 2. С. 50–56. DOI: 10.31367/2079-8725-2023-85-2-50-56.



ESTIMATION OF THE EFFICIENCY OF *IN VITRO* ANTHER CULTURE METHOD FOR OBTAINING HAPLOID TRITICALE PLANTS (×*TRITICOSECALE WITTMACK*)

V. N. Anikina, Candidate of Biological Sciences, leading researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0003-3661-9246;

O. V. Khomyakova, Candidate of Biological Sciences, leading researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0002-5218-6076;

T. I. Diyachuk, Doctor of Biological Sciences, main researcher of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0001-7420-0521;

S. V. Zhilin, postgraduate of the laboratory for cell breeding, ORCID ID: 0000-0001-6181-5279;

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. Kulikova, 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

Anther culture is one of the most popular methods for obtaining haploid triticale plants. The current paper has presented the study results of the efficiency of the method for obtaining haploid plants in promising winter triticale forms bred by the Federal Agricultural Research Center of South-East. There has been estimated haploproduction parameters for the studied genotypes on the nutrient media C-17 and P-2. There were no genotypes unresponsive to androgenesis. There has been found that the medium Potato-2 had a significant positive effect on the total number of embryogenic structures per 100 cultivated anthers in four of the six studied genotypes when the index increased in 1–3 times. The mean value of the EC/100KP indicator was 23.3 with a variation of 6.4–75.1. The largest number of ES (45.8 and 75.1) was found in genotype No. 96 (F_5 Zimogor/win.br.wheat L.39) on induction media C-17 and P-2. The genotypes No. 95 and No. 97 were characterized by the lowest indicators F_4 DH13/ win.br.wheat 'Atkara'//Vodoley/ADP-2///Colina and F_5 MAG/Vodoley//TI-17. Plant regeneration varied from 3.4 to 22.1 with an average value of 12.6 per 100 EC. The mean number of green plants per 100 EC was 3.9, varying from 0.4 to 12.1. The proportion of green plants, depending on the genotype, varied from 5.0 to 76.9 %. Two-way analysis of variance has identified the dominant role of the genotype at all stages of haploproduction. The proportion of effect of the nutrient medium was statistically significant, but insignificant in comparison with the genotype. There has been established that, along with genotypic dependence and albinism, the limiting factor of the method is a low frequency of regeneration of embryo-like structures. In total, there were obtained 949 regenerated plants out of 7538 embryogenic structures, of which 326 were green. The ratio of green plants to albinos was 1:2.

Keywords: triticale ($\times$ Triticosecale Wittmack), breeding, haploidy, anther culture.

Введение. Тритикале ($\times$ Triticosecale Wittm.) – синтетический ботанический род семейства Мятликовых (Poaceae), объединяющий в одном геноме хромосомы пшеницы и ржи. На современном этапе тритикале является коммерческой культурой с многоцелевым использованием зерна, 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 (Mergoum et al., 2019). Посевные площади под культурой в мире составляют около 4 млн га, производство зерна – более 14 млн т.

Для улучшения сортового разнообразия в селекции тритикале наряду с традиционными методами применяется гаплоидия. Эффективное получение гаплоидных растений (ДН-линий после удвоения числа хромосом) является ключевым фактором для их использования в теоретических исследованиях и практической селекции. Гомозиготные линии на основе гаплоидов могут быть получены в течение нескольких месяцев, что приводит к сокращению селекционного процесса в среднем на 5 лет. У большинства злаков для получения гаплоидных растений *in vitro* применяются три метода – культура пыльников, культура изолированных микроспор и отдаленная гибридизация, сопровождающаяся селективной элиминацией хромосом вида-опылителя (Niazian and Shariatpanahi, 2020). Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки. Для таких злаковых культур, как ячмень, пшеница и рис разработаны эффективные протоколы получения гаплоидных растений, которые включены в стандартные селекционные программы (Humphreys and Knox, 2015). У тритикале использование гаплоидных технологий в селекции сдерживается низкой эффективностью стандартных протоколов (Würschum et al., 2014).

Андрогенез *in vitro* (гаплоидный эмбриогенез, микроспоровый эмбриогенез, андроклиния) в культуре изолированных пыльников является одним из наиболее распространен-

ных и технически несложных методов получения гаплоидных растений. Метод основан на индукции микроспорового эмбриогенеза. В этом процессе незрелые пыльцевые зерна (микроспоры) переключаются на альтернативный (спорофитный) путь развития, который приводит к формированию эмбриоподобных структур (спорофитов) вместо пыльцевых зерен. Центральным процессом андрогенеза *in vitro* является дедифференциация микроспор и их последующее развитие в эмбриоды (спорофиты). Установлено, что конечная эффективность процесса андрогенеза зависит от трех независимых компонентов – эффективности формирования эмбриогенных структур, их способности к регенерации растений и частоты регенерации зеленых растений. Каждая из этих компонент находится под самостоятельным генетическим контролем (Abd El-Fatah et al., 2020). Выявлены основные критические факторы, сдерживающие внедрение метода в селекционные программы – генотипическая зависимость, альбинизм регенерантов и необходимость удвоения числа хромосом (Lantos et al., 2014).

Подбор оптимальных условий культивирования играет существенную роль в получении гаплоидных растений. Состав индукционных питательных сред оказывает влияние на изменчивость регенерантов тритикале (Pachota et al., 2022). Для инициации андрогенеза в культуре пыльников успешно используются различные варианты питательных сред с добавлением картофельного экстракта (Першина и др., 2013).

В селекционных программах проводится скрининг отзывчивых к андрогенезу генотипов и их включение в скрещивания для эффективного получения гомозиготных линий из гибридов ранних поколений (Петраш и др., 2022). Целью проведенных нами исследований явилась оценка эффективности гаплопродукции в культуре пыльников *in vitro* перспективных линий озимой гексаплоидной тритикале селекции ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока».

Материалы и методы исследований. Донорные растения выращивали на опытном поле ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока» (г. Саратов).

Для опыта использовали 6 перспективных линий озимой тритикале различного происхож-

дения с неизвестными ранее параметрами гаплопродукции (табл. 1).

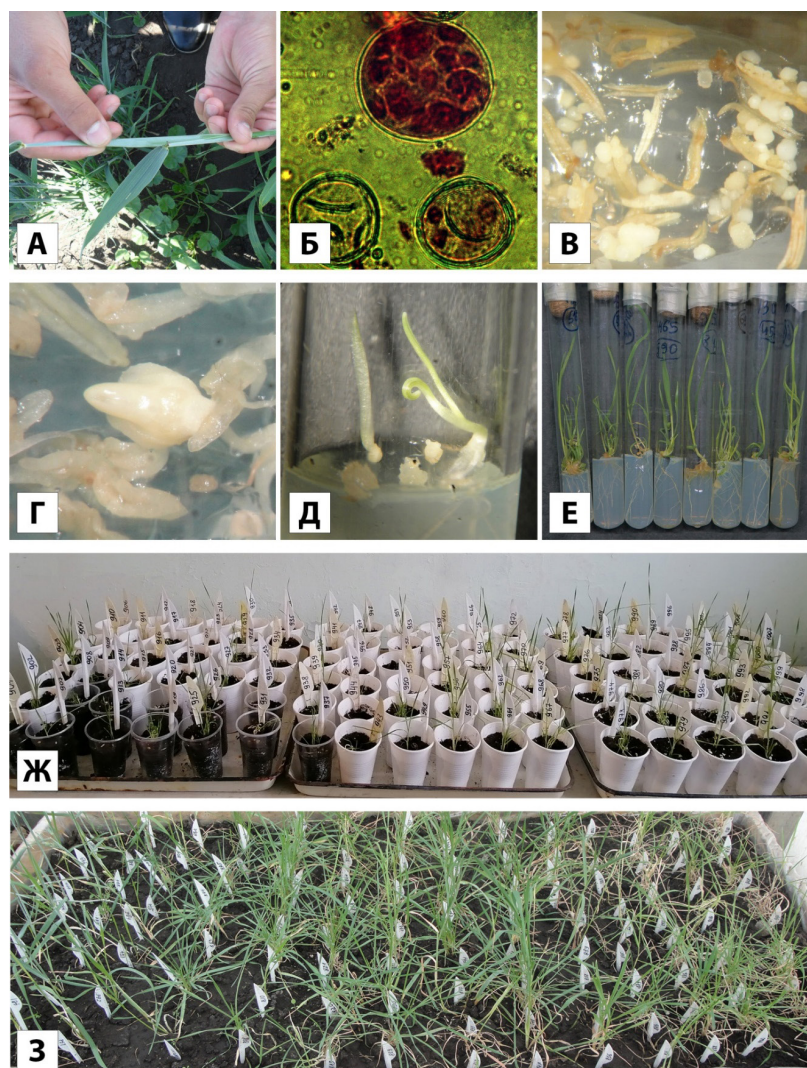
Таблица 1. Родословная перспективных форм тритикале
Table 1. Genealogy of the promising triticale forms

№ перспективной формы	Родословная перспективных форм
95	F ₄ ДН13/оз.мягкая пш. Аткара//Водолей/АДП-2/// Colina
96	F ₅ Зимогоп/оз.мягк.пш. Л.39
97	F ₅ МАГ/Водолей//ТИ-17
98	F ₄ ДН-21/Каприз
99	F ₅ Вокализ//МАГ/Водолей
100	F ₅ Святозар/ТИ-17

Примечание. / – первое скрещивание; // – второе скрещивание и т.д.

Отбор колосьев для культивирования проводили с главных побегов, когда микроспоры в пыльниках находились в средней или поздней одноядерной стадии развития.

Морфологически это соответствует расположению середины колоса на уровне предпоследнего листа (см. рис. А, Б).



Основные этапы получения гаплоидных растений тритикале: А – морфологический критерий стадии вакуолизированной микроспоры; Б – многоклеточная структура внутри оболочки микроспоры; В – эмбриогенные пыльники; Г – дифференцированный эмбрион; Д – начальные стадии регенерации растений; Е – растения-регенеранты; Ж – регенеранты в растительном боксе; З – растения в теплице

The main steps in obtaining haploid triticale plants: А – morphological criterion of the stage of vacuolized microspores; Б – multicellular structure inside a microspore shell; В – embryogenic anthers; Г – differentiated embryo; Д – initial stages of plant regeneration; Е – regenerated plants; Ж – regenerants in a vegetable box; З – plants in a greenhouse

Отобранные побеги выдерживали при температуре 4 °С в течение 14 суток. Стерилизацию колосьев проводили коммерческим препаратом «Белизна» в течение 8 мин с последующей 3-кратной промывкой стерильной дистиллированной водой. Пыльники вычленили в асептических условиях и помещали на косой агар в пробирки Ø 15 мм, содержащие 8 мл питательной среды (по 20 шт. на одну пробирку). Культивирование проводили на двух агаризованных питательных средах – С-17 и Potato-2 (Р-2), содержащих 2,4-Д в концентрации 2 мг/л, сахарозу (9 %), минеральные компоненты и витамины (согласно прописи этих сред). Для приготовления питательной среды, содержащей картофельный экстракт (Р-2), 200 г клубней (на 1 л среды) тщательно промывали, удаляли глазки, разрезали на мелкие кусочки и в течение 30 мин варили в 600 мл дистиллированной воды. После отжимания мацерата через два слоя марли жидкий экстракт смешивали с другими компонентами питательной среды. По каждой линии культивировали примерно 3 тыс. пыльников. Культивирование проводили в термостате в темноте при температуре 25–28 °С в течение 5 недель. Сформированные новообразования (эмбриоподобные структуры) размером более 1 мм переносили на питательную среду MS для регенерации растений с содержанием ИУК 0,5 мг/л, кинетина 0,2 мг/л и сахарозы 3 % (см. рис. В, Г).

Регенерация растений проходила при 16-часовом фотопериоде, освещении 10 тыс. лк и температуре 25–28 °С в течение 7–30 суток в зависимости от степени дифференциации ЭС. Растения-регенеранты проходили яровизацию в условиях *in vitro* при температуре 4 °С в течение 2 месяцев. Яровизированные растения высаживали в коммерческий пита-

тельный грунт «ТЕРРАВИТА УНИВЕРСАЛЬНЫЙ» (рН 6,0–6,5) в отдельные стаканчики и выращивали в растительном боксе до стадии кущения (16-часовой фотопериод, освещение 10 тыс. лк, температура 25–28 °С). Удвоение хромосомного набора проводили обработкой регенерантов раствором колхицина 0,2 % с добавлением 2 % ДМСО. После адаптации растений их выращивание проходило в тепличном боксе в стандартных условиях (см. рис. Д, Е, Ж, З).

Эффективность андрогенеза оценивали по следующим показателям: число эмбриогенных структур на 100 культивируемых пыльников (ЭС/100КП), общее число регенерантов на 100 эмбриогенных структур (Р/100ЭС), число зеленых растений на 100 эмбриогенных структур (ЗР/100ЭС) и их долю (ДЗР) в общем числе регенерантов.

Статистическая обработка данных выполнена методом дисперсионного анализа с использованием пакета программ «AGROS.2.09».

Результаты и их обсуждение. При культивировании пыльников тритикале на двух индукционных питательных средах все изученные генотипы были отзывчивы как на формирование эмбриоподобных структур, так и регенерацию растений. Сравнение отдельных показателей андрогенеза *in vitro* показывает на неодинаковую реакцию разных генотипов, что согласуется с данными других исследователей (Lantos et al, 2014; Niazian and Shariatpanahi, 2020). Среднее значение показателя ЭС/100КП составило 23,3 при варьировании 6,4–75,1 (табл. 2). Наиболее отзывчивым был генотип № 96 (F₅ Зимогор/озимая мягкая пшеница Л.39) со значениями 45,8 и 75,1 структур на средах С-17 и Р-2 соответственно. Следует отметить, что в родословной этой перспективной линии участвует озимая мягкая пшеница.

Таблица 2. Результаты оценки эффективности культивирования пыльников тритикале на питательных средах С-17 и Р-2

Table 2. The results of estimating the cultivation efficiency of the triticales anthers on nutrient media C-17 and P-2

№ генотипа (фактор А)	Индукционная среда (фактор В)	ЧП	ЭС		Регенерация		Зеленые растения		
			шт.	ЭС/100 КП	шт.	Р/100 ЭС	шт.	ЗР/100 ЭС	ДЗР, %
95	С-17	2676	386	14,4	13	3,4	10	2,6	76,9
	Р-2	2296	161	7,0	9	5,6	1	0,6	11,1
96	С-17	2820	1292	45,8	190	14,7	71	5,5	37,3
	Р-2	2681	2014	75,1	253	12,6	68	3,4	26,9
97	С-17	2994	227	7,6	15	6,6	1	0,4	6,7
	Р-2	2797	180	6,4	20	11,1	1	0,6	5,0
98	С-17	2999	520	17,3	115	22,1	63	12,1	54,8
	Р-2	2709	670	24,7	82	12,2	42	6,3	51,2
99	С-17	2276	162	7,1	13	8,0	9	5,6	69,2
	Р-2	2666	583	21,9	37	6,3	27	4,6	72,9
100	С-17	2573	574	22,3	87	15,2	16	2,8	18,4
	Р-2	2815	769	27,3	115	15,0	18	2,3	15,6
Всего		32302	7538	–	949	–	326	–	–
Среднее значение		–	–	23,3	–	12,6	–	3,9	34,4
Фактор А (генотип) НСР ₀₅				2,1	–	6,5	–	0,9	4,1
Фактор В (среда) НСР ₀₅				1,2	–	3,8	–	0,5	2,4
Взаимодействие АВ НСР ₀₅				2,9	–	9,2	–	1,4	5,8

С учетом фактической разности частных средних значений ($d \geq HCP_{05}$), среда Р-2 оказала достоверное положительное влияние на общее число эмбрионных структур у четырех генотипов из шести изученных – в зависимости от генотипа значение показателя увеличилось в 1–3 раза. Снижение числа эмбрионных структур на среде Р-2 обнаружено только у одного генотипа (№ 95). Отзывчивость генотипа № 97 по этому показателю в зависимости от состава индукционных сред не изменилась.

Выраженность показателя «общее число регенерантов Р/100ЭС» отражает «качество» полученных эмбрионных структур, то есть степень их дифференцированности. У различных генотипов варьирование составило 3,4–22,1 растений на 100 ЭС. Достоверное превышение среднего значения показателя Р/100ЭС выявлено только у одного генотипа – № 98 на среде С-17.

Статистически значимого влияния индукционной питательной среды на регенерацию растений не обнаружено у четырех генотипов. У одного генотипа (№ 97) частота регенерации достоверно увеличилась на среде Р-2 и достоверно снизилась у генотипа № 98.

Наиболее важным показателем эффективности метода является выход зеленых растений/100 ЭС (ЗР/100ЭС). Значения показателя варьировали от 0,4 до 12,1. Статистически значимое превышение среднего значения проявили генотипы № 96 на среде С-17, № 98 и № 99 на среде С-17. Среда Р-2 достоверно снизила выход зеленых растений у четырех генотипов (№ 95, 96, 98 и 100). Доля зеленых

растений у изученных генотипов от их общего числа варьировала в зависимости от генотипа от 5,0 до 76,9 %. Необходимо отметить, что ранжир генотипов по отдельным показателям гаплопродукции не совпадал, что согласуется с литературными данными об их независимом генетическом контроле (Abd El-Fatah et al., 2020). В общей сложности из 7538 ЭС получено 949 растений, из которых 326 зеленых и 623 альбиносных с соотношением 1 : 2.

Для выявления зависимости показателей андрогенеза от генотипа и состава индукционных питательных сред был проведен двухфакторный дисперсионный анализ (табл. 3). Установлена доминирующая роль генотипа на всех этапах гаплопродукции. Наибольшее влияние генотипа обнаружено на показатель ЭС/100КП, оно составило 86,2 %, питательной среды – 2 %, взаимодействие генотипа и питательной среды – 11,3 %. Показатель Р/100ЭС обусловлен влиянием генотипа на 64,2 %, питательной среды – на 8,0 % и взаимодействием этих факторов – на 26,6 %. Вклад генотипа в долю зеленых растений (ЗР/100ЭС) составил 71,4 %, питательной среды – 6,7 % и взаимодействия факторов – 21,2 %. Доля влияния питательной среды была статистически достоверной, но незначительной в сравнении с генотипом по всем показателям андрогенеза. Наиболее значительный вклад взаимодействия «генотип x питательная среда» выявлен на показатель Р/100ЭС. Влияние изученных факторов и их взаимодействия было статистически значимым.

Таблица 3. Статистический анализ влияния питательных сред и генотипа на продукцию эмбрионных структур, регенерацию растений и регенерацию зеленых растений

Table 3. Statistical analysis of the effect of nutrient media and a genotype on the production of embryogenic structures, plant regeneration and green plant regeneration

Источник изменчивости	ЭС/100 КП		Р/100 ЭС		ЗР/100 ЭС	
	SS	Доля влияния	SS	Доля влияния	SS	Доля влияния
Общий	9111,400	–	17495,193	–	16009,057	–
Генотип (А)	7859,080*	86,2	11234,844*	64,2	11437,746*	71,4
Среда (В)	183,708*	2,0	1404,534*	8,0	1080,039*	6,7
Взаимодействие	1028,311	11,3	4661,1839*	26,6	3397,429*	21,3
Ошибка	19,767	0,5	17,655	1,2	78,483	0,6

Примечание: * – влияние статистически значимо при $P \leq 0,05$.

Проведенные исследования показали, что, наряду с генотипической зависимостью и альбинизмом, ограничивающим фактором метода является и низкая регенерация эмбриоподобных структур. Одним из возможных факторов, влияющих на степень их дифференциации, является оптимизация питательных сред по типу и концентрациям экзогенных гормонов. Включение ауксина 2,4-Д в индукционные питательные среды позволило разработать эффективные протоколы получения гаплоидных растений. В качестве регуляторов роста в комбинации с 2,4-Д применяются цитокинины,

в частности, кинетин. Положительные результаты были получены при включении в состав индукционных питательных сред растительного гормона зеатина в концентрации 0,4 мг/л, что положительно повлияло на частоту дифференцированных эмбрионидов и регенерацию растений (Ержебаева и др., 2019).

Выводы.

1. Проведена оценка параметров гаплопродукции у изученных генотипов на двух индукционных питательных средах – С-17 и Р-2. Неотзывчивых к андрогенезу генотипов не было выявлено. Число эмбрионных структур

тур варьировало от 6,4 до 75,1 на 100 КП, регенерация растений – от 3,4 до 22,1 на 100 ЭС. Доля зеленых растений в зависимости от генотипа составила 5,0–76,9 %.

2. Кроме генотипической зависимости и высокой частоты альбинизма, важным сдерживающим фактором метода культуры пыльников тритикале является низкая регенерация ЭС. Из 7538 ЭС получено 949 растений, из которых 326 зеленых и 623 альбиносных с соотношением 1 : 2.

3. Установлена доминирующая роль генотипа на всех этапах получения гаплоидных растений тритикале. Доля влияния генотипа на индукцию эмбрионидных структур составила 86,2 %, регенерации растений – 64,2 % и выход зеленых растений – 71,4 %. Доля влияния питательной среды была статистически значимой, но незначительной в сравнении с генотипом на всех этапах гаплопродукции.

Библиографические ссылки

1. Ержебаева Р.С., Абдурахманова М.А., Бастаубаева Ш.О., Таджибаев Д.? Эмбриогенез и регенерация растений в культуре пыльников гексаплоидной тритикале (*xTriticosecale* Wittmack) под влиянием цитокинина зеатина // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54, № 5. С. 934–945. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.5.934rus.
2. Першина Л.А., Осадчая Т.С., Бадаева Е.Д., Белан И.А., Россеева Л.П. Изучение особенностей андрогенеза в культуре пыльников сортов и перспективной формы яровой мягкой пшеницы западно-сибирской селекции, различающихся наличием или отсутствием пшенично-чужеродных транслокаций // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17, № 1. С. 40–49.
3. 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.
4. 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.) // Molecular Biology Reports. 2020. Vol. 47, № 12. P. 9289–9300. DOI: 10.1007/s11033-020-06007-z.
5. Humphreys D.G., Knox R.E. Doubled Haploid Breeding in Cereals // Advances in Plant Breeding Strategies: Breeding Biotechnology and Molecular Tools. 2015. P. 241–289. DOI: 10.1007/978-3-319-22521-0_9.
6. Lantos C., Bona L., Boda K., Pauk J. Comparative analysis of *in vitro* anther- and isolated microspore culture in hexaploid triticale (*xTriticosecale* Wittmack) for androgenetic parameters // Euphytica. 2014. Vol. 197. P. 27–37. DOI: 10.1007/s10681-013-1031-y.
7. Mergoum M., Sapkota S., ElDoliefy A.E.A., Naraghi S.M., Pirseyedi S., Alamri M.S., AbuHammad W. Triticale (*xTriticosecale* Wittmack) Breeding // Advances in Plant Breeding Strategies. 2019. P. 405–451. DOI: 10.1007/978-3-030-23108-8_11.
8. Niazi M., Shariatpanahi M.E. *In vitro*-based doubled haploid production: recent improvements // Euphytica. 2020. Vol. 216, Article number: 69. DOI: 10.1007/s10681-020-02609-7.
9. Pachota K.A., Orlowska R., Bednarek P.T. Medium composition affects the tissue culture-induced variation in triticale regenerants // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2022. Vol. 151. P. 35–46. DOI: 10.1007/s11240-022-02327-z.
10. Würschum T., Tucker M. R., Maurer H.P. Stress treatment influence efficiency of microspore embryogenesis and green plant regeneration in hexaploid triticale (*xTriticosecale* Wittmack L.) // In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. 2014. Vol. 50. P. 143–148. DOI: 10.1007/s11627-013-9539-3.

References

1. Erzhebaeva R.S., Abdurakhmanova M.A., Bastaubaeva Sh. O., Tadzhibaev D. Embriogenez i regeneratsiya rastenii v kul'ture pyl'nikov geksaploidnoi tritikale (*xTriticosecale* Wittmack) pod vliyaniem tsitokinina zeatina [Embryogenesis and regeneration of plants in an anther culture of hexaploid triticale (*xTriticosecale* Wittmack) under the effect of cytokinin zeatin] // Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. 2019. T. 54, № 5. S. 934–945. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.5.934rus.
2. Pershina L.A., Osadchaya T.S., Badaeva E.D., Belan I.A., Rosseva L.P. Izuchenie osobennostei androgeneza v kul'ture pyl'nikov sortov i perspektivnoi formy yarovoi myagkoi pshenitsy zapadno-sibirskoi selektsii, razlichayushchikhsya nalichiem ili otsutstviem pshenichno-chuzherodnykh translokatsii [The study of the characteristics of androgenesis in an anther culture of varieties and a promising form of spring common wheat of West Siberian breeding, which differ in the presence or absence of wheat-alien translocations] // Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii. 2013. T. 17, № 1. S. 40–49.
3. Petrash N.V., Orlova E.A., Likhenco I.E., Piskarev V.V. Izuchenie effektivnosti kul'tury pyl'nikov *in vitro* sortov i gibridov myagkoi pshenitsy (*Triticum aestivum* L.) [The study of the effectiveness of an anther culture in vitro common wheat varieties and hybrids (*Triticum aestivum* L.)] // Zernovoe khozyaistvo Rossii. 2022. T. 14, № 6. S. 17–22. DOI: 10.31367/2079-8725-2022-83-6-17-22.
4. 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.) // Molecular Biology Reports. 2020. Vol. 47, № 12. P. 9289–9300. DOI: 10.1007/s11033-020-06007-z.
5. Humphreys D.G., Knox R.E. Doubled Haploid Breeding in Cereals // Advances in Plant Breeding Strategies: Breeding Biotechnology and Molecular Tools. 2015. P. 241–289. DOI: 10.1007/978-3-319-22521-0_9.
6. Lantos C., Bona L., Boda K., Pauk J. Comparative analysis of *in vitro* anther- and isolated microspore culture in hexaploid triticale (*xTriticosecale* Wittmack) for androgenetic parameters // Euphytica. 2014. Vol. 197. P. 27–37. DOI: 10.1007/s10681-013-1031-y.

7. Mergoum M., Sapkota S., ElDoliefy A. E. A., Naraghi S. M., Pirseyedi S., Alamri M. S., AbuHammad W. Triticale ($\times$ Triticosecale Wittmack) Breeding // *Advances in Plant Breeding Strategies*. 2019. P. 405–451. DOI: 10.1007/978-3-030-23108-8_11.
8. Niazian M., Shariatpanahi M. E. In vitro-based doubled haploid production: recent improvements // *Euphytica*. 2020. Vol. 216, Article number: 69. DOI:10.1007/s10681-020-02609-7.
9. Pachota K. A., Orłowska R., Bednarek P. T. Medium composition affects the tissue culture-induced variation in triticale regenerants // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2022. Vol. 151, P. 35–46. DOI: 10.1007/s11240-022-02327-z.
10. Würschum T., Tucker M. R., Maurer H. P. Stress treatment influence efficiency of microspore embryogenesis and green plant regeneration in hexaploid triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittmack L.) // *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 2014. Vol. 50. P. 143–148. DOI: 10.1007/s11627-013-9539-3.

Поступила: 25.01.23; доработана после рецензирования: 06.03.23; принята к публикации: 06.03.23.

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. Акинина В. Н. – постановка цели и задачи исследования; Хомякова О. В. – проведение лабораторных исследований и их интерпретация; Дьячук Т. И. – сбор литературных данных и подготовка рукописи; Жилин С. В. – выполнение лабораторных опытов и сбор данных; Барнашова Е. К. – выполнение лабораторных опытов и сбор данных; Калашникова Э. В. – выполнение лабораторных опытов и сбор данных; Куликова В. П. – выполнение лабораторных опытов и сбор данных.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.