

Мини-обзорная статья
УДК 631.52:631.575:575.22
DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-02



Возможности использования биотехнологических методов в селекции овощных культур в лаборатории селекции и клеточных технологий ВИР

А. Б. Курина, А. М. Артемьева

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Анастасия Борисовна Курина, a.kurina@vir.nw.ru

Фундаментальные и прикладные научные исследования в области клеточных технологий растений способствуют успешному развитию селекции сельскохозяйственных культур, позволяя создавать новые формы растений в 2-4 раза быстрее по сравнению с традиционными методами селекции. Для получения чистых линий у большинства овощных культур требуется около 5-7 циклов самоопыления. В результате создание нового сорта/гибрида занимает в среднем более 10-12 лет. Для успешного создания сорта или гибрида необходим подбор родительских пар в виде инбредных линий. Коллекция овощных и бахчевых культур ВИР насчитывает 52 889 образцов, включает представителей 29 семейств, 145 родов, 610 видов. Использование биотехнологических методов является актуальным направлением для ускорения селекции овощных культур. В связи с актуальностью включения клеточных технологий в селекционные программы отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур ВИР, в 2022 году создана лаборатория селекции и клеточных технологий. Целью исследований новой лаборатории является ускоренное создание исходного материала и новых сортов или гибридов путем сочетания традиционных методов селекции и клеточных технологий. Объектами исследования послужат культурные формы и дикорастущие родичи видов: капуста огородная *Brassica oleracea* L., репа *Brassica rapa* L., салат *Lactuca* L., томат *Lycopersicon* Mill и овощная сахарная кукуруза *Zea mays* var. *saccharata* Sturt. В данном обзоре мы рассматриваем основные результаты селекции капусты, томата и салата, полученные с применением клеточных технологий. Несмотря на достигнутые успехи, в данной области существует ряд проблем. Отсутствие стандартизированных, эффективных и воспроизводимых протоколов методов *in vitro* часто препятствует их практическому использованию. Задачи, стоящие перед лабораторией по созданию исходного селекционного материала и новых сортов и гибридов с помощью как традиционных методов, так и клеточных технологий, актуальны и соответствуют мировому уровню.

Ключевые слова: коллекция, клеточные технологии, лаборатория, *in vitro*

Благодарности: Статья подготовлена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по теме FGEM-2022-0012 «Клеточные технологии для расширения селекционного потенциала культур овощного направления использования».

Для цитирования: Курина А.Б., Артемьева А.М. Возможности использования биотехнологических методов в селекции овощных культур в лаборатории селекции и клеточных технологий ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(4):55-64. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-02

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Курина А.Б., Артемьева А.М., 2022

Mini-review article

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-o2

Possibilities of biotechnological methods in breeding of vegetable crops at the VIR Laboratory of Breeding and Cell Technologies

Anastasiya B. Kurina, Anna M. Artemyeva

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Anastasiya B. Kurina, a.kurina@vir.nw.ru

Basic and applied scientific research in plant cell technologies contribute to the successful development of agricultural plant breeding, which allows the creation of new forms of plants 2-4 times faster than by traditional breeding methods. To obtain inbred lines of most vegetable crops, about 5-7 cycles of self-pollination are required. As a result, the creation of a new cultivar/hybrid takes more than 10-12 years on an average. To successfully create a variety or hybrid, it is necessary to select parental pairs in the form of inbred lines. The VIR collection of vegetables and cucurbit crops includes 52,889 accessions, representatives of 29 families, 145 genera, and 610 species. The use of biotechnological methods is an important direction for accelerating the breeding of vegetable crops. Due to the relevance of introducing cell technologies into the breeding programs of the VIR Department of Genetic Resources of Vegetable and Cucurbit Crops, a Laboratory of Breeding and Cell Technologies was set up in 2022. The goal of the research to be performed at the new laboratory is to accelerate the creation of source material, cultivars and hybrids by combining traditional breeding methods and cell technologies. The objects of the study include cultivated forms and wild relatives of cabbage *Brassica oleracea* L., turnip *Brassica rapa* L., lettuce *Lactuca* L., tomato *Lycopersicon* Mill and vegetable sweet corn *Zea mays* var. *saccharata* Sturt. In the present review, we consider the main results of breeding cabbage, tomato, and lettuce which have been obtained through applying cell technologies. Despite the progress obtained, there are still several problems in this area. The lack of standardized, efficient and reproducible protocols for *in vitro* methods often hinders their practical use. The tasks facing the laboratory in creating the initial breeding material and new cultivars and hybrids with the use of both conventional methods and cell technologies are relevant and correspond to the world level.

Key words: collection, cell technology, laboratory, *in vitro*

Acknowledgments: The article was prepared as part of the Government Assignment to VIR in accordance with the R&D Thematic Plan, Topic FGEM-2022-0012 “Cell technologies for expanding the breeding potential of vegetable crops”.

For citation: Kurina A.B., Artemyeva A.M. Possibilities of biotechnological methods in breeding of vegetable crops in the VIR laboratory of breeding and cell technologies. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(4):55-64. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-o2

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Kurina A.B., Artemyeva A.M., 2022

Введение

Создание исходного материала – обязательный начальный этап любых селекционных программ. Традиционными способами расширения генетического разнообразия в основном являются внутривидовая и отдаленная гибридизация. Для получения чистых линий у большинства овощных культур требуется около 5-7 циклов самоопыления. В результате создание нового сорта/гибрида занимает в среднем более 10-12 лет. Для успешного создания селекционного достижения необходим подбор родительских пар в виде инбредных линий.

В мировом сортименте овощных культур преобладают гибриды F_1 , позволяющие получать более высокие урожаи и качество продукции благодаря явлению гетерозиса при сочетании генов обоих родителей. Эта методика в ее классическом варианте требует получения чистых линий или инбредных популяций (полученных путем самоопыления растений) для обеспечения стабильности нового генотипа. Классическая селекция проводится в несколько этапов: скрещивание исходных родительских пар с целью расширения генетической изменчивости; отбор рекомбинантных генотипов для получения гомозиготных линий с признаками, представляющими агрономический интерес; проведение специальных скрещиваний для определения комбинационной способности; оценка качества и урожайности, стабильности гибридов в производственных посевах. Такая продолжительность селекционного процесса вызывает в свою очередь необходимость разработки альтернатив для сокращения времени получения гомозиготных генотипов.

Достижения в области культивирования клеток, тканей и органов в системе *in vitro* привели к разработке принципиально новых технологий, направленных на создание улучшенных генотипов сельскохозяйственных растений, обладающих высоким потенциалом адаптации к стрессовым факторам внешней среды при сохранении или повышении их продуктивности (Spiridovich, 2015).

В селекции растений используют следующие клеточные технологии: оплодотворение *in vitro* (преодоление прогамной несовместимости); эмбриокультура (преодоление постгамной несовместимости); получение гаплоидных растений путем андрогенеза и гиногенеза; индукция соматональных вариантов; клеточная и тканевая селекция на устойчивость к стрессам; культура протопластов и соматическая гибридизация (Butenko, 1999; Verpoorte, 2007; Pivovarov et al., 2011).

В настоящее время коллекция овощных и бахчевых культур ВИР насчитывает 52 889 образцов, в том числе 39 469 образцов в основном каталоге, 13 420 образцов во временном каталоге, включает представителей 29 семейств (49 094 образцов), 145 родов, 610 видов. Коллекция включает представителей преимущественно восьми семейств: тыквенные Cucurbitaceae Juss., пасленовые Solanaceae Juss., капустные Brassicaceae Burnett, сельдерейные Apiaceae Lindl., амарантовые Amaranthaceae Juss.,

луковые Amaryllidaceae J.St.-Hil., астровые Asteraceae Dumort., яснотковые Lamiaceae Martinov (Artemyeva, 2022).

Основные исследования направлены на расширение генетического разнообразия коллекции: сбор диких видов и местных форм с высокой степенью устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам и с ценным биохимическим составом; привлечение в коллекцию недостающих в ней звеньев эволюционных рядов овощных культур от предковой формы до современных сортов и линий; интродукция новых для России культур и типов сортов. Важное значение имеет привлечение лучших селекционных достижений мирового уровня, преимущественно по инновационным направлениям селекции, а именно, по созданию генетической коллекции, включающей мутантные линии, инбредные линии, самонесовместимые линии, линии с ЦМС (Artemyeva, 2022).

Использование биотехнологических методов является актуальным направлением для ускорения селекции овощных культур. В связи с актуальностью введения клеточных технологий в селекционные программы отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, в 2022 году создана лаборатория селекции и клеточных технологий.

Целью исследований новой лаборатории является ускоренное создание исходного материала, а также новых сортов и гибридов путем сочетания традиционных методов селекции и клеточных технологий.

Объектами исследования послужат культуры и дикорастущие родичи видов: капуста огородная *Brassica oleracea* L., репа *Brassica rapa* L., салат *Lactuca* L., томат *Lycopersicon* Mill. и овощная сахарная кукуруза *Zea mays* var. *saccharata* Sturt. Основными задачами лаборатории являются: создание дигаплоидных линий (удвоенных гаплоидов) капустных культур и томата для получения гомозиготных линий с высоким накоплением пигментов – хлорофиллов, каротиноидов, антоцианов – и устойчивых к фитофторозу (томат); создание исходного материала для селекции культурного салата с устойчивостью к основным болезням посредством отдаленной гибридизации с использованием биотехнологических методов. В рамках новой лаборатории будут проведены работы:

- 1) по совершенствованию метода доставки в яйцеклетку компонентов CRISPR/Cas-системы через пыльцевые зерна гаплоиндуктора кукурузы;

- 2) мониторинг генов-маркеров *opaque2* у кукурузы и их динамика в процессе селекции на высокобелковость в отдаленных гибридах кукурузы с теосинте;

- 3) выявление изогенных хромосом кукурузы с интрогрессией чужеродных генов в многопочатковых линиях BC_4 отдаленных гибридов с теосинте методом FISH/GISH.

В настоящем мини-обзоре кратко представлены

основные достижения, полученные с применением клеточных технологий в области селекции капусты, томата, салата и кукурузы. Особое внимание уделено тем биотехнологическим методам, которые будут использованы в лаборатории селекции и клеточных технологий ВИР.

Капустные культуры (*Brassica L.*)

В настоящее время актуальным направлением селекционной работы с культурами семейства Brassicaceae является разработка инновационных методов создания гибридов F_1 , сочетающих высокую продуктивность с ценным биохимическим составом и устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессорам. Успех и результативность селекции зависят от наличия исходного материала различного эколого-географического происхождения, отличающегося высоким адаптационным потенциалом и широкой генетической изменчивостью. Это возможно достичь за счет использования генофонда капустных культур мировой коллекции ВИР. Необходимо отметить, что исходный материал для селекции должен быть однородным по селективируемым признакам, генетически стабильным. Эта проблема может быть решена путем внедрения в селекционную практику усовершенствованных методов клеточных технологий *in vitro*.

Одной из самых востребованных технологий для ускорения процесса получения гибридов F_1 капустных культур является производство линий дигаплоидов в культуре изолированных микроспор (Domblides et al., 2018; Djatchouk et al., 2019; Dong et al., 2021). Данная технология ускоряет получение генетически стабильных линий, позволяет сочетать различные признаки в одном генотипе и облегчает поиск редких признаков, контролируемых рецессивными аллелями генов (Ferrie, Caswell, 2011). Наибольший успех в получении удвоенных гаплоидов через культуру микроспор достигнут у рапса (*Brassica napus L.*). Эффективность технологии получения дигаплоидов у других представителей рода *Brassica* остается по-прежнему низкой (Shmykova et al., 2015; Dong et al., 2021). Отмечается, что микроспоры генотипически различающихся образцов *Brassica oleracea*, при их культивировании *in vitro*, в меньшей степени способны к эмбриогенезу, чем таковые *B. napus* и *B. rapa* (Winarto, Teixeira da Silva, 2011; Gu et al., 2014; Shmykova et al., 2015). Среди разновидностей *B. oleracea* частота эмбриогенеза в культуре микроспор наиболее высока у капусты брокколи (*B. oleracea var. italica* Plenck.) (Lemonnier-Le Penhuizic et al., 2001), капусты брюссельской (*B. oleracea var. gemmifera* (DC.) Zenker) (Ockendon, Sutherland, 1987) и капусты цветной (*B. oleracea var. botrytis L.*) (Gu et al., 2014), в то время как у капусты белокочанной (*B. oleracea var. capitata L.*) частота эмбриогенеза в целом ниже (Rudolf et al., 1999; Bhatia et al., 2017). Высокая гено-

тип-специфичность и низкая частота эмбриогенеза селекционно ценных образцов является одной из главных проблем применяемых технологий производства линий дигаплоидов растений рода *Brassica* (Olmedilla et al., 2010). Повышение частоты эмбриогенеза капустных культур возможно при подборе оптимальных условий культивации, например состава среды (Bhatia et al., 2017).

У эмбриоидов, полученных в культуре микроспор у большинства генотипически различающихся образцов *Brassica*, наблюдается низкая способность к прорастанию, а также не прямое прорастание с образованием адвентивных побегов или вторичный эмбриогенез (Dong et al., 2021). Кроме того, удвоение числа хромосом у полученных гаплоидов спонтанно происходит лишь у части растений. Наибольшая частота спонтанного удвоения хромосом наблюдается у растений *B. rapa* (Takahashi et al., 2012; Lee et al., 2014), и разновидностей *B. oleracea* (брокколи, кольраби) (Dias, 2003; Yuan et al., 2015). Повышение частоты регенерации и формирование проростков из эмбриоидов без промежуточных стадий, а также повышение частоты спонтанной диплоидизации могло бы обеспечить производство большего числа дигаплоидов с минимальными усилиями и техническими ресурсами, что в свою очередь облегчило бы создание гибридов F_1 капустных культур.

Первый протокол производства дигаплоидов в культуре изолированных микроспор был разработан для рапса (*B. napus*) (Lichter, 1982). Затем данный протокол с небольшими модификациями стали использовать для получения дигаплоидов у других растений рода *Brassica*: капусты белокочанной, цветной, португальской, листовой, брокколи, кольраби и капусты китайской (Duijs et al., 1992; Cao et al., 1994; Zhang et al., 2008; Winarto, Teixeira da Silva, 2011; Yuan et al., 2012).

В России данную технологию впервые применили в практике селекционной работы почти 30 лет спустя – только в 2010 году, в лаборатории генетики, селекции и биотехнологии овощных культур РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева¹ в рамках селекционной программы по созданию гибридов F_1 капусты в ООО² «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева». К настоящему времени всего четыре лаборатории в России владеют этой технологией. В то же время в мире создание гибридов отдельных капустных культур на основе дигаплоидных линий является рутинной практикой (Monakhos, 2015; Hooghvorst et al., 2018; Qu et al., 2021). За последнее время в России с использованием дигаплоидов были созданы гибриды F_1 капусты белокочанной Краут (Monakhos, 2015), Настя (Baidina, 2018) и Натали (Mineykina, 2018).

Однако, несмотря на достигнутые успехи, универсальной технологии получения дигаплоидов у различных культур семейства Brassicaceae не существует, так как на процессы получения гаплоидных растений вли-

¹ Российский Государственный Аграрный Университет - МСХА имени К.А. Тимирязева

² Общество с ограниченной ответственностью

яют многочисленные факторы: генотип растений; агро-климатические условия выращивания растений доноров; стадия развития микроспор и зародышевого мешка; тип предобработки бутонов, микроспор, семян; состав подбираемых для культивирования питательных сред; условия культивирования (Shmykova et al., 2015). Следует отметить, что успешное получение гаплоидных растений на 20-50% зависит от правильного подбора генотипа. Оптимальное значение каждого из перечисленных факторов является необходимым условием для эмбриогенеза. Поэтому в каждом конкретном случае необходима разработка индивидуальных протоколов в культуре изолированных микроспор для каждого отдельного вида растения, сорта, генотипа.

Томат (*Lycopersicon* Mill.)

Томат (*Lycopersicon* Mill.) является одним из наиболее потребляемых видов овощей во всем мире. Производство томата в больших масштабах при наличии различных неблагоприятных факторов постоянно требует улучшенных сортов, дающих возможность увеличить урожайность и качество плодов. В связи с этим необходимо разработать стратегию для сокращения времени получения новых сортов.

В ряде исследований предприняты попытки индуцирования гаплоидии у томатов путем андрогенеза, однако не удалось получить удовлетворительных результатов, позволяющих сделать рутинным применение данной технологии (Bal, Abak, 2007; Seguí-Simarro et al., 2016; Niazian et al., 2019). Тем не менее, учитывая возможность существенного сокращения времени получения чистых линий данным методом, представляется актуальным продолжение поиска альтернатив, позволяющих эффективно получать дигаплоиды томата.

Получение гаплоидных растений путем гиногенеза успешно применяется для шпината (*Spinacia oleracea* L.) (Keleş et al., 2016), тыквенных культур (Dong et al., 2016; Hooghvorst, Nogués, 2020), столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.) (Zayachkovskaya et al., 2021) и для ряда других культур. Однако для томатов результаты, подтверждающие успешное использование гиногенеза, еще так и не получены. Были апробированы такие методы как культивирование *in vitro* неоплодотворенных завязей и семян, использование облученной пыльцы при опылении (Bal, Abak, 2007), а также использование системы CRISPR/Cas9 для редактирования генов *DMP*, который кодирует мембранный белок с доменом неизвестной функции, и *CENH3*, который кодирует центромерный гистон H3 (Zhong et al., 2022).

Получение дигаплоидов томата является предметом исследований более 30 лет в связи с экономической значимостью культуры, однако в проанализированной литературе нет данных о наличии воспроизводимых протоколов. Среди выявленных факторов, препятствующих достижению этой цели, являются слабая отзывчивость

на культивирование *in vitro* (Bal, Abak, 2007; Niazian et al., 2019) и полиплоидия, генерируемая слиянием ядер (Corral-Martínez et al., 2011; Julião et al., 2015). По-прежнему необходимо определить условия инкубации, физические и химические условия среды, зависимость культуры *in vitro* от генотипа используемого донорного растения, от физиологического состояния этого растения и от степени развития его пыльников (Seguí-Simarro, 2016, Niazian et al., 2019).

Таким образом, для обоих способов получения дигаплоидов томата должны быть разработаны эффективные протоколы и решен ряд проблем, связанных с индукцией эмбриогенеза.

Салат (*Lactuca* L.)

Род *Lactuca* L. относится к семейству Asteraceae Dumort. Салат является важной зелёной культурой, производство которой экономически выгодно, так как культура эта скороспелая и холодоустойчивая. В условиях искусственного освещения, при выращивании на гидропонике и аэропонике, можно получать до 12 урожаев в год. Основные цели в селекции салата: улучшение культурного салата по селекционно-ценным признакам, включая устойчивость к абиотическим и биотическим стрессам, высокую урожайность, определённую окраску листьев и стеблей, повышенную сохраняемость после сбора урожая; снижение содержания в растениях сесквитерпеновых лактонов, обладающих горьким вкусом. (Popova et al., 2020; Hassan et al., 2021).

К настоящему времени известно более 15 болезней, поражающих культуру салата. К их числу относятся ложная мучнистая роса, мучнистая роса, септориоз, серая гниль, белая гниль, бактериальная гниль, вирусные заболевания (мозаика, разрастание жилок). В качестве источников и доноров устойчивости к болезням и вирусам используют дикие виды *Lactuca* (Chupeau et al., 1994; Artemyeva et al., 2016). В частности, в литературе имеются данные об использовании вида *L. saligna* в качестве донора устойчивости к вирусу мозаики (Subramanya et al., 1980) и к мучнистой росе (Jeuken, Lindhout, 2002). Несмотря на то, что *L. sativa*, *L. serriola*, *L. saligna* и *L. virosa* формируют группу с одинаковым соматическим числом хромосом, это разные виды, для которых существуют проблемы при скрещивании (Mou, 2011). Скрещивание *L. saligna* × *L. sativa* удаётся только в том случае, если *L. saligna* используется в качестве материнской формы. Скрещивания *L. virosa*, *L. sativa* и *L. serriola* друг с другом затруднены (Lebeda et al., 2004). В связи с этим использование биотехнологических методов в селекционных программах данной культуры представляет практической интерес.

Соматическая гибридизация посредством слияния протопластов имеет большой потенциал в улучшении растений. Этот метод дает возможность комбинировать родительские гены для преодоления половой несовме-

стимости между видами или родами растений. Слияние протопластов позволяет передавать желательные качества, например устойчивость к болезням (бактериальным, грибковым, вирусным), вредителям, гербицидам и другим стрессовым факторам. Получение жизнеспособных протопластов зависит от многих факторов: состава ферментов, pH среды, выбора осмотического раствора. Большое значение имеет физиологическое состояние растительного материала, его возраст, условия выращивания. В настоящее время проводится активная работа по изучению культур изолированных протопластов, их выделению и слиянию, а также использованию в селекции растений (Samko, Snigireva, 2009; Shen et al., 2014; Reed, Bargmann, 2021; Hajeri et al., 2022).

Известно, что салат хорошо отзывчив на различные условия культивирования *in vitro* (Doerschug, Miller, 1967; Michelmore, Eash, 1986; Song et al., 2014). С использованием культуры протопластов получены соматические гибриды между культурным салатом *L. sativa* и диким видом *L. virosa*. Полученные гибриды имели типичные морфологические признаки цветка, но все они были стерильными (Matsumoto, 1991). В результате исследований С. Brown с соавторами (Brown et al., 1987) было показано, что дикий вид *L. saligna* может быть использован в качестве источника расово-неспецифической устойчивости к мучнистой росе для переноса в салат *L. sativa* посредством соматической гибридизации.

Таким образом, соматическая гибридизация в селекции салата на устойчивость к болезням и вирусам представляет большой интерес, но при этом необходимо решить проблему стерильности соматических гибридов.

Кукуруза *Zea mays*

Кукуруза (*Zea mays* L.) была впервые одомашнена около 9 000 лет назад в результате селекции её дикого родича теосинте на юго-западе Мексики (Matsuoka et al., 2002; Piperno et al., 2009). В последние десятилетия кукуруза стала одной из самых широко культивируемых зерновых культур в мире.

Исследования в области биохимии, генетики, физиологии кукурузы в значительной степени обусловлены растущим экономическим значением этой культуры (Jiang et al., 2020; Li et al., 2022; Lorant et al., 2020; Medeiros et al., 2021).

Настоящий прорыв в селекции гибридов кукурузы и их родительских линий был совершен благодаря открытию метода гаплоиндукции (Chase, 1949). Это открытие послужило толчком к созданию первых гаплоиндукторов и созданию инбредных линий с высоким уровнем гомозиготности (Seguí-Simarro et al., 2021).

В настоящее время продолжается совершенствование существующих линий-гаплоиндукторов и поиск новых генов, способствующих повышению частоты гаплоидии (Ulyanov et al., 2022).

Гаплоидия широко применяется для ускорения

гибридной селекции и получения новых линий кукурузы с улучшенными признаками и их стерильных аналогов (Gutorova et al., 2016; Liu et al., 2022). Гаплоиндукторные линии кукурузы и их тетраплоидные аналоги используются в селекции редиплоидных линий кукурузы методом ресинтеза из тетраплоидных форм (Khatefov, Shatskaya, 2007; Khatefov et al., 2019; 2021).

Фирма Syngenta в 2019 году синтезировала гаплоиндукторную линию кукурузы, несущую в спермиях пыльцевого зерна конструкцию CRISPR/Cas, которая способна к одновременному стимулированию гаплоидии и редактированию генома на заданном участке ДНК (Kelliher et al., 2019; Wang et al., 2019). Благодаря этой технологии стало возможным совершенствование линий гаплоиндукторов кукурузы с помощью введения различных конструкций CRISPR/Cas в ее геном для редактирования на любом участке ДНК.

Гаплоиндукторы кукурузы успешно использованы для получения гаплоидных растений пшеницы (Laurie, Bennett, 1988) и овса (Dziurka et al., 2022). Исследователи ведут интенсивный поиск других возможностей использования гаплоиндукторов кукурузы в селекции растений.

Расширение поиска новых доноров признака гаплоиндукции, создание новых, более эффективных гаплоиндукторов способствует накоплению генетических источников, характеризующихся высоким ресурсным потенциалом для селекционно-генетических исследований. Причины, способствующие стимулированию гаплоидии, еще недостаточно изучены.

Особое значение имеют работы по изучению кукурузы и теосинте, направленные на выявление наследования сложных признаков, в том числе способности к одомашниванию (Stitzer, Ross-Ibarra, 2018; Chen et al., 2020). Существует большой интерес к пониманию генетического контроля фенотипической изменчивости у теосинте, поскольку именно из этого разнообразия вариаций была отобрана кукуруза. Гены, контролирующие признаки одомашнивания, могли быть зафиксированы в кукурузе в виде одного лишь функционального аллеля, что делает невозможным применение методов ассоциативной генетики для изучения этих генов в самой кукурузе. Ассоциативное картирование генов теосинте может быть использовано для идентификации ценных аллелей, которые были утеряны во время одомашнивания (Weber et al., 2007; Li et al., 2022).

Заключение

Фундаментальные и прикладные научные исследования в области клеточных технологий растений способствуют успешному развитию селекции сельскохозяйственных культур, позволяя создавать новые формы растений в 2-4 раза быстрее по сравнению с традиционными методами селекции.

Достигнут значительный прогресс в области селекции растений с использованием клеточных технологий.

Однако, несмотря на это, остаются некоторые фундаментальные проблемы – например, выяснение влияния гено-типа на способность растений существовать в гаплоидном состоянии, а также вопросы прикладного характера, например подбор оптимальной стадии развития пыльников, микроспор, зародышевого мешка; тип предобработки бутонов, микроспор, семян; состав питательных сред; условия культивирования и стерильность полученных растений. Отсутствие стандартизированных, эффективных и воспроизводимых протоколов для культивирования *in vitro* разных видов растений часто препятствует практической реализации этих методов.

Задачи, стоящие перед лабораторией по созданию исходного селекционного материала, сортов и гибридов методами как традиционной, так и клеточной технологии, актуальны и соответствуют мировому уровню.

References / Литература

- Artemyeva A.M., Zvereva O.A., Kozhanova T.N., Korniyukhin D.L., Piskunova T.M., Smekalova T.N., Chukhina I.G. Bagmet L.A. Mobilization of vegetable and cucurbit crop genetic resources in the 21st century. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2016;177(2):5-21. [in Russian] (Артемьева А.М., Зверева О.А., Кожанова Т.Н., Корнюхин Д.Л., Пискунова Т.М., Смекалова Т.Н., Чухина И.Г. Багмет Л.А. Мобилизация генетических ресурсов овощных и бахчевых культур в XXI веке. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2016;177(2):5-21). DOI: 10.30901/2277-8834-2016-2-5-21
- Artemyeva A.M. Department of vegetable and cucurbit crops: traditions and perspectives. In: *Plant Genetic Resources for Genetic Technologies: To the 100th Anniversary of Pushkin Laboratories of VIR: Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference: Abstracts; 2022 June 22–23; St. Petersburg, Russia*. St. Petersburg: VIR; 2022. p.191-193. [in Russian] (Артемьева А.М. Отдел генетических ресурсов овощных и бахчевых культур: история и современность. В кн.: *Генетические ресурсы растений для генетических технологий: к 100-летию Пушкинских лабораторий ВИР: материалы Всероссийской научно-практической конференции: тезисы докладов, Санкт-Петербург, 22–23 июня 2022 г.* Санкт-Петербург: ВИР; 2022. С.191-193).
- Baidina A.V. Optimization of the culture of isolated microspores and assessment of the combinative ability of lines of doubled haploids of white cabbage (Optimizatsiya kultury izolirovannykh mikrospor i otsenka kombinatsionnoy sposobnosti liniy udvoyennykh gaploidov kapusty belokachannoy) [dissertation abstract]. Moscow; 2018. [in Russian] (Байдина А.В. Оптимизация культуры изолированных микроспор и оценка комбинационной способности линий удвоенных гаплоидов капусты белокочанной : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Москва; 2018).
- Butenko R.G. Biology of cells of higher plants *in vitro* and biotechnologies based on them (Biologiya kletok vysshikh rasteniy *in vitro* i biotekhnologiya na ikh osnove). Moscow: FBK-PRESS; 1999. [in Russian] (Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. Москва: ФБК-ПРЕСС; 1999).
- Bal U., Abak K. Haploidy in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.): a critical review. *Euphytica*. 2007;158:1-9. DOI: 10.1007/s10681-007-9427-1
- Bhatia R. Dey S.S., Sood Sh., Sharma K., Chander P., Kumar R. Efficient microspore embryogenesis in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) for development of plants with different ploidy level and their use in breeding programme. *Scientia Horticulturae*. 2017;216(3):83-92. DOI: 10.1016/j.scienta.2016.12.020
- Brown C., Lucas J.A., Power J.B. Plant regeneration from protoplasts of a wild lettuce species (*Lactuca saligna* L.). *Plant Cell Reports*. 1987;6(3):180-182. DOI: 10.1007/BF00268472
- Cao M.Q., Li Y., Liu F., Dore C. Embryogenesis and plant regeneration of pakchoi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) via *in vitro* isolated microspore culture. *Plant Cell Reports*. 1994;13(8):447-450. DOI: 10.1007/BF00231964
- Chase S.S. Monoploid frequencies in a commercial double cross hybrid maize and in its component single cross hybrids and inbred lines. *Genetics*. 1949;34(3):328-332. DOI: 10.1093/genetics/34.3.328
- Chen Q., Samayoa L.F., Yang C.J., Bradbury P.J., Olukolu B.A., Neumeyer M.A., Romay M.C., Sun Q., Lorant A., Buckler E.S., Ross-Ibarra J., Holland J.B., Doebley J.F. The genetic architecture of the maize progenitor, teosinte, and how it was altered during maize domestication. *PLoS Genetics*. 2020;16(5):e1008791. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008791
- Chupeau M.C., Maisonneuve B., Bellec Y., Chupeau Y.A. *Lactuca* universal hybridizer, and its use in creation of fertile interspecific somatic hybrids. *Molecular and General Genetics*. 1994;245(2):139-145. DOI: 10.1007/BF00283260
- Corral-Martínez P., Nuez F., Seguí-Simarro J.M. Genetic, quantitative and microscopic evidence for fusion of haploid nuclei and growth of somatic calli in cultured ms1035 tomato anthers. *Euphytica*. 2011;178(2):215-228. DOI: 10.1007/s10681-010-0303-z
- Dias S.J.C. Protocol for broccoli microspore culture. In: M. Maluszynski, K.J. Kasha, B.P. Forster, I. Szarejko (eds). *Doubled haploid production in crop plants: a manual*. Springer Science+Business Media New York; 2003. p.195-204.
- Djatchouk T.I., Khomyakova O.V., Akinina V.N., Kibkalo I.A., Pominov A.V. Microspore embryogenesis *in vitro*: the role of stresses. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(1):86-94. [in Russian] (Дьячук Т.И., Хомякова О.В., Акиннин В.Н., Кибкало И.А., Поминов А.В. Микроспоровый эмбриогенез *in vitro* – роль стрессов. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(1):86-94). DOI: 10.18699/VJ19.466
- Duijs J.C., Voorrips R.E., Visser D.L., Custers J.B.M. Microspore culture is successful in most crop types of *Brassica oleracea* L. *Euphytica*. 1992;60(1):45-55. DOI: 10.1007/BF00022257
- Doerschug M.R., Miller C. Chemical control of adventitious organ formation in *Lactuca sativa* explants. *American Journal of Botany*. 1967;54(4):410-413. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1967.tb10658.x
- Dombildes E.A., Kozar E.V., Shumilina D.V., Zayachkovskaya T.V., Akhramenko V.A., Soldatenko A.V. Embryogenesis in culture of isolated microspore of broccoli. *Vegetable crops of Russia*. 2018;(1):3-7. [In Russian] (Домблдес Е.А., Козарь Е.В., Шумилина Д.В., Заячковская Т.В., Ахраменко В.А., Солдатенко А.В. Эмбриогенез в культуре микроспор брокколи. *Овощи России*. 2018;(1):3-7). DOI: 10.18619/2072-9146-2018-1-3-7
- Dong Y.Q., Zhao W.X., Li X.H., Liu X.C., Gao N.N., Huang J.H., Wang W.Y., Xu X.L., Tang Z.H. Androgenesis, gynogenesis, and parthenogenesis haploids in cucurbit species. *Plant Cell Reports*. 2016;35(10):1991-2019. DOI: 10.1007/s00299-016-2018-7
- Dong Y.Q., Gao Y.H., Zhao T., Ren G.Q., Liu Y.L., Guan B., Jin R.X., Gao F., Zhang Y.L., Tan X.F., Zhu H.C., Zhang Y.H., Zhang J.X., Peng D., Yan Y.X. Influencing factors and physiochemical changes of embryogenesis through *in vitro* isolated microspore culture in *Brassica* species. *Biologia*. 2021;76:2629-2654. DOI: 10.1007/s11756-021-00721-0
- Dziurka K., Dziurka M., Muszyńska E., Czyczyło-Mysza I., Warchoł M., Juzoń K., Laskoś K., Skrzypek E. Anatomical and hormonal factors determining the development of haploid and zygotic embryos of oat (*Avena sativa* L.). *Scientific Reports*. 2022;12(1):548. DOI: 10.1038/s41598-021-04522-y
- Ferrie A.M.R., Caswell K.L. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2011;104:301-309. DOI: 10.1007/s1240-010-9800-y
- Gu H., Zhao Z., Sheng X., Wang H.Y. Efficient doubled haploid production in microspore culture of loose-curd cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). *Euphytica*. 2014;195(3):467-475. DOI: 10.1007/s10681-013-1008-x
- Gutorova O.V., Apanasova N.V., Yudakova O.I. Creation of genetically

- marked maize lines with inherited and induced types of parthenogenesis. *Izvestiya Samarskogo Nauchnogo Tsentra RAN = Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2016;18(2-2):341-344. [in Russian] (Гуторова О.В., Апанасова Н.В., Юдакова О.И. Создание генетически маркированных линий кукурузы с наследуемым и индуцированным типами партеногенеза. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2016;18(2-2):341-344).
- Hajeri S., Ng J., Grosser J., Vidalakis G. Isolation and transfection of citrus protoplasts with citrus exocortis viroid. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*. 2022;2316:39-54. DOI: 10.1007/978-1-0716-1464-8_4
- Hassan M.N., Mekkiy S.A., Mahdy M., Salem K.F.M., Tawfik E. Recent molecular and breeding strategies in lettuce (*Lactuca* spp.). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2021;68:3055-3079. DOI: 10.1007/s10722-021-01246-w
- Hooghvorst I., Nogués S. Opportunities and challenges in doubled haploids and haploid inducer-mediated genome-editing systems in cucurbits. *Agronomy*. 2020;10(9):1441. DOI: 10.3390/agronomy10091441
- Hooghvorst I., Ramos-Fuentes E., López-Cristofannini C., Ortega M., Vidal R., Serrat X., Nogués S. Antimitotic and hormone effects on green double haploid plant production through anther culture of Mediterranean japonica rice. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2018;134:205-215. DOI: 10.1007/s11240-018-1413-x
- Jiang S., Cheng Q., Yan J., Fu R., Wang X. Genome optimization for improvement of maize breeding. *Theoretical and Applied Genetics*. 2020;133(5):1491-1502. DOI: 10.1007/s00122-019-03493-z
- Jeuken M., Lindhout P. *Lactuca saligna*, a non-host for lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*), harbors a new race-specific *Dm* gene and three QTLs for resistance. *Theoretical and Applied Genetics*. 2002;105(2-3):384-391. DOI: 10.1007/s00122-002-0943-z
- Julião S.A., Carvalho C.R., da Silva T.C.R., Koehler A.D. Multiploidy occurrence in tomato calli from anther culture. *African Journal of Biotechnology*. 2015;14:2846-2855. DOI: 10.5897/AJB2015.14525
- Kelliher T., Starr D., Su X., Tang G., Chen Z., Carter J., Wittich P.E., Dong S., Green J., Burch E., McCuiston J., Gu W., Sun Y., Strebe T., Roberts J., Bate N.J., Que Q. One-step genome editing of elite crop germplasm during haploid induction. *Nature Biotechnology*. 2019;37:287-292. DOI: 10.1038/s41587-019-0038-x
- Keleş D., Özcan C., Pinar H., Ata A., Denli N., Yücel N., Taşkın H., Büyükalaca S. First report of obtaining haploid plants using tissue culture techniques in spinach. *Horticultural Science*. 2016;51(6):742-749. DOI: 10.21273/HORTSCI.51.6.742
- Khatifov E.B., Shatskaya O.A. The use of haploid inducers in heteroploid crosses to expand the diversity of the genetic basis of maize. In: *Genetic Resources of Cultivated Plants in 21st Century: current status, problems, perspectives: Abstracts from the 2nd Vavilov International Conference; 2007 November 26–30; St. Petersburg, Russia*. St. Petersburg: VIR; 2007. p.367-369. [in Russian] (Хатефов Э.Б., Шацкая О.А. Применение гаплоиндукторов в гетероплоидных скрещиваниях для расширения разнообразия генетической основы кукурузы. В кн.: *Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке: состояние, проблемы, перспективы: тезисы докладов II Вавиловской международной конференции, Санкт-Петербург, 26–30 ноября 2007 г.* Санкт-Петербург: ВИР; 2007. С.367-369).
- Khatifov E.B., Shomakhov B.R., Kushkhova R.S., Kudaev R.A., Khashirova Z.T., Gyaurgiev A.Kh. Combining ability and response to CMS in reverse diploid maize lines developed at VIR. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2019;2(4):15-23. [in Russian] (Хатефов Э.Б., Шомахов Б.Р., Кушхова Р.С., Кудаев Р.А., Хаширова З.Т., Гяургиев А.Х. Характеристика редиплоидных линий кукурузы селекции ВИР по комбинационной способности и реакции на ЦМС. *Биотехнология и селекция растений*. 2019;2(4):15-23). DOI: 10.30901/2658-6266-2019-4-02
- Khatifov E.B., Khoreva V.I., Shomakhov B.R., Kushkhova R.S., Khashirova Z.T., Kudaev R.A., Gyaurgiev A.Kh. Rediploid maize lines (diploid lines resynthesized from a tetraploid population for breeding hybrid maize). St. Petersburg: VIR; 2021. (Catalogue of the VIR global collection; iss. 932). [in Russian] (Хатефов Э.Б., Хорева В.И., Шомахов Б.Р., Кушхова Р.С., Хаширова З.Т., Кудаев Р.А., Гяургиев А.Х. Редиплоидные линии кукурузы (ресинтезированные из тетраплоидной популяции диплоидные линии для гибридной селекции кукурузы). Санкт-Петербург: ВИР; 2021. (Каталог мировой коллекции ВИР; вып. 932)).
- Laurie D.A., Bennett M.D. The production of haploid wheat plants from wheat×maize crosses. *Theoretical and Applied Genetics*. 1988;76:393-397. DOI: 10.1007/BF00265339
- Lebeda A., Dolezalová I., Feráková V., Astley D. Geographical distribution of wild *Lactuca* species (*Asteraceae, Lactuceae*). *The Botanical Review*. 2004;70(3):328-356. DOI: 10.1663/0006-8101(2004)070[0328:GDOWLS]2.0.CO;2
- Lee M.H., Lim C.J., Lee I.H., Song J.H. High-purity seed production of doubled haploid Chinese cabbage [*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* (Lour.)] through microspore culture. *Plant Breeding and Biotechnology*. 2014;2(2):167-175. DOI: 10.9787/PBB.2014.2.2.167
- Lemonnier-Le Penhuizic C., Chatelet C., Kloareg B., Potin P. Carageenan oligosaccharides enhance stress-induced microspore embryogenesis in *Brassica oleracea* var *italica*. *Plant Science*. 2001;160(6):1211-1220. DOI: 10.1016/S0168-9452(01)00372-7
- Li Z., Han L., Luo Z., Li L. Single-molecule long-read sequencing reveals extensive genomic and transcriptomic variation between maize and its wild relative teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*). *Molecular Ecology Resources*. 2022;22(1):272-282. DOI: 10.1111/1755-0998.13454
- Lichter R. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie = International Journal of Plant Physiology*. 1982;105(5):427-434. DOI: 10.1016/S0044-328X(82)80040-8
- Liu S., Ulyanov A.V., Khatifov E.B. The use of *R-nj*, *Bl*, *Pll* genes to improve marker properties in the selection of maize haploid inducers. *Ecological Genetics*. 2022;20(3):193-202. [in Russian] (Лю С., Ульянов А.В., Хатефов Э.Б. Использование генов *R-nj*, *Bl*, *Pll* для улучшения маркерных свойств в селекции гаплоиндукторов кукурузы. *Экологическая генетика*. 2022;20(3):193-202). DOI: 10.17816/ecogen108374
- Lorant A., Ross-Ibarra J., Tenailon M. Genomics of long- and short-term adaptation in maize and teosintes. *Methods in Molecular Biology*. 2020;2090:289-311. DOI: 10.1007/978-1-0716-0199-0_12
- Matsuoka Y., Vigouroux Y., Goodman M.M., Sanchez G.J., Buckler E., Doebley J. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99:6080-6084. DOI: 10.1073/pnas.052125199
- Matsumoto E. Interspecific somatic hybridization between lettuce (*Lactuca sativa*) and wild species *L. virosa*. *Plant Cell Reports*. 1991;9(10):531-534. DOI: 10.1007/BF00232325
- Medeiros D.B., Brotman Y., Fernie A.R. The utility of metabolomics as a tool to inform maize biology. *Plant Communications*. 2021;2(4):100187. DOI: 10.1016/j.xplc.2021.100187
- Michelmore R.W., Eash J.A. Tissue culture of lettuce. In: D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Amirato (eds). *Handbook of Plant Cell Culture*. Vol. 4. Techniques and applications. London: Collier MacMillan; 1986. p.512-551.
- Mineykina A.I. Creation of the initial material of white cabbage using modern breeding methods (Sozdaniye iskhodnogo materiala kapusty belokochannoy s ispolzovaniyem sovremennykh metodov seleksii) [dissertation abstract]. Moscow; 2018. [in Russian] (Минейкина А.И. Создание исходного материала капусты белокочанной с использованием современных методов селекции: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Москва; 2018).
- Monakhos S.G. Integration of modern biotechnological and classical methods in vegetable crops breeding (Integratsiya sovremennykh biotekhnologicheskikh i klassicheskikh metodov v seleksii oshochnykh kultur) [dissertation]. Moscow; 2015. [in Russian] (Монахос С.Г. Интеграция современных биотехнологических и классических методов в селекции овощных культур: дис. ... д-ра. с.-х. наук. Москва; 2015).
- Mou B. Mutations in lettuce improvement. *International Journal of Plant Genomics*. 2011;2011:723518. DOI: 10.1155/2011/723518
- Niazian M., Shariatpanahi M.E., Abdipour M., Oroojloo M. Modeling callus induction and regeneration in an anther culture of tomato

- (*Lycopersicon esculentum* L.) using image processing and artificial neural network method. *Protoplasma*. 2019;256:1317-1332. DOI: 10.1007/s00709-019-01379-x
- Olmedilla A. Microspore Embryogenesis. In: E. Pua, M. Davey (eds). *Plant Developmental Biology - Biotechnological Perspectives*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2010. p.27-44. DOI: 10.1007/978-3-642-04670-4_2
- Ockendon D.J., Sutherland R.A. Genetic and nongenetic factors affecting anther culture of Brussels sprout (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*). *Theoretical and Applied Genetics*. 1987;74(5):566-570. DOI: 10.1007/BF00288853
- Piperno D.R., Ranere A.J., Holst I., Iriarte J., Dickau R. Starch grain and phytolith evidence for early ninth millennium B.P. maize from the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106:5019-5024. DOI: 10.1073/pnas.0812525106
- Pivovarov V., Shmykova N., Suprunova T. Biotechnological approaches to vegetable crop breeding. *Vegetable Crops of Russia*. 2011;3(12):10-17. [in Russian] (Пивоваров В., Шмыкова Н., Супрунова Т. Биотехнологические приемы в селекции овощных культур. *Овощи России*. 2011;3(12):10-17). URL: <https://sciup.org/14024894> [дата обращения: 17.11.2022].
- Popova A.S., Starukhina A.O., Zaitsev V.G. The sesquiterpene lactones production optimization as the seeding lettuce (*Lactuca sativa*) breeding prospective goal. *Scientific and Agronomic Journal*. 2020;4(111):59-63. [in Russian] (Попова А.С., Старухина А.О., Зайцев В.Г. Оптимизация продукции сесквитерпеновых лактонов как перспективная цель селекции посевного салата (*Lactuca sativa*). *Научно-агрономический журнал*. 2020;4(111):59-63). DOI: 10.34736/FNC.2020.111.4.011.59-63.
- Reed K.M., Bargmann B.O.R. Protoplast regeneration and its use in new plant breeding technologies. *Frontiers in Genome Editing*. 2021;3:734951. DOI: 10.3389/fgeed.2021.734951
- Rudolf K., Bohanec B., Hansen M. Microspore culture of white cabbage, *Brassica oleracea* var. *capitata* L.: Genetic improvement of nonresponsive cultivars and effect of genome doubling agents. *Plant Breeding*. 1999;118(3):237-241. DOI: 10.1046/j.1439-0523.1999.118003237.x
- Qu Y., Liu Z., Zhang Y., Yang J., Li H. Improving the sorting efficiency of maize haploid kernels using an NMR-based method with oil content double thresholds. *Plant Methods*. 2021;17:2. DOI: 10.1186/s13007-020-00703-4
- Samko O.V., Snigireva A.V. The use of somatic hybridization technology in plant breeding (Ispolzovaniye tekhnologii somaticheskoy gibrizatsii v selektsii rasteniy). *Amur Scientific Bulletin*. 2009;(1):233-239. [in Russian] (Самко О.В., Снигирева А.В. Использование технологии соматической гибридизации в селекции растений. *Амурский научный вестник*. 2009;(1):233-239).
- Seguí-Simarro J.M. Androgenesis in *Solanaceae*. In: M.A. Germanà, M. Lambardi (eds.). *In Vitro Embryogenesis in Higher Plants. Methods in Molecular Biology*. New York, NY, USA: Springer Science + Business Media; 2016. p.209-244. DOI: 10.1007/978-1-4939-3061-6_9
- Seguí-Simarro J.M., Jacquier N.M.A., Widiez T. Overview of *in vitro* and *in vivo* doubled haploid technologies. *Methods in molecular biology* (Clifton N.J.). 2021;2287:3-22. DOI: 10.1007/978-1-0716-1315-3_1
- Shen J., Fu J., Ma J., Wang X., Gao C., Zhuang C., Wan J., Jiang L. Isolation, culture, and transient transformation of plant protoplasts. *Current Protocols in Cell Biology*. 2014;63:2.8.1-2.8.17. DOI: 10.1002/0471143030.cb0208s63
- Shmykova N.A., Shumilina D.V., Suprunova T.P. Doubled haploid production in *Brassica* L. seeds. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(1):111-120. [in Russian] (Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Супрунова Т.П. Получение удвоенных гаплоидов у видов рода *Brassica* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(1):111-120). DOI: 10.18699/VJ15.014
- Spiridovich E.V. Botanical collections: documentation and biotechnological aspects of use. Minsk: Belarusian Science, 2015. [in Russian] (Спиридович Е.В. Ботанические коллекции: документирование и биотехнологические аспекты использования. Минск: Белорусская наука, 2015).
- Subramanya R., Vest G., Honma S. Inheritance of nitrate accumulation in lettuce. *Horticultural Science*. 1980;15(4):525-526. DOI: 10.21273/HORTSCI.15.4.525
- Song D., Han Q., Dong Z., He Z. Genetic transformation of lettuce (*Lactuca sativa*): a review. *African Journal of Biotechnology*. 2014;13:1686-1693. DOI: 10.5897/AJB2014.13651
- Stitzer M.C., Ross-Ibarra J. Maize domestication and gene interaction. *The New Phytologist*. 2018;220(2):395-408. DOI: 10.1111/nph.15350
- Takahashi Y., Yokoi S., Takahata Y. Effects of genotypes and culture conditions on microspore embryogenesis and plant regeneration in several subspecies of *Brassica rapa* L. *Plant Biotechnology Reports*. 2012;6(4):297-304. DOI: 10.1007/s11816-012-0224-5
- Ulyanov A.V., Karlov A.V., Hatefov E.B. The use of maize haploinducers as a tool in the biotechnology of agricultural plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(7):704-713. [in Russian] (Ульянов А.В., Карлов А.В., Хатефов Э.Б. Использование гаплоиндукторов кукурузы как инструмента в биотехнологии сельскохозяйственных растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022;26(7):704-713). DOI: 10.18699/VJGB-22-85
- Verpoorte R., Choi Y.H., Kim H.K. NMR-based metabolomics at work in phytochemistry. *Phytochemistry Reviews*. 2007;6(1):3-14. DOI: 10.1007/s1101-006-9031-3
- Wang B., Zhu L., Zhao B., Zhao Y., Xie Y., Zheng Z., Li Y., Sun J., Wang H. Development of a haploid-inducer mediated genome editing system for accelerating maize breeding. *Molecular Plant*. 2019;12(4):597-602. DOI: 10.1016/j.molp.2019.03.006
- Weber A., Clark R.M., Vaughn L., Sánchez-Gonzalez J. de J., Yu J., Yandell B.S., Bradbury P., Doebley J. Major regulatory genes in maize contribute to standing variation in teosinte (*Zea mays* ssp. *parviglumis*). *Genetics*. 2007;177(4):2349-2359. DOI: 10.1534/genetics.107.080424
- Winarto B., Teixeira da Silva J.A. Microspore culture protocol for Indonesian *Brassica oleracea*. *Plant Cell and Tissue Organ Culture*. 2011;107:305-315. DOI: 10.1007/s1240-011-9981-z
- Yuan S.X., Su Y.B., Liu Y.M., Fang Z.Y., Yang L.M., Zhuang M., Zhang Y.Y., Sun P.T. Effects of pH, MES, arabinogalactan-proteins on microspore cultures in white cabbage. *Plant Cell and Tissue Organ Culture*. 2012;110:69-76. DOI: 10.1007/s1240-012-0131-z
- Yuan S., Su Y., Liu Y., Li Z., Fang Z., Yang L., Zhuang M., Zhang Y., Lu H., Sun P. Chromosome doubling of microspore-derived plants from cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) and broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.). *Plant Science*. 2015(6):1-10. DOI: 10.3389/fpls.2015.01118
- Zayachkovskaya T., Domblides E., Zayachkovsky V., Kan L., Domblides A., Soldatenko A. Production of gynogenic plants of red beet (*Beta vulgaris* L.) in unpollinated ovule culture *in vitro*. *Plants*. 2021;10(12):2703. DOI: 10.3390/plants10122703
- Zhang W., Qiang F., Xigang D., Manzhu B. The culture of isolated microspores of ornamental kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) and the importance of genotype to embryo regeneration. *Scientia Horticulturae*. 2008;117(1):69-72. DOI: 10.1016/j.scienta.2008.03.023
- Zhong Y., Chen B., Wang D., Zhu X., Li M., Zhang J., Chen M., Wang M., Riksen T., Liu J., Qi X., Wang Y., Cheng D., Liu Z., Li J., Chen C., Jiao Y., Liu W., Huang S., Liu C., Boutilier K., Chen S. *In vivo* maternal haploid induction in tomato. *Plant Biotechnology Journal*. 2022;20:250-252. DOI: 10.1111/pbi.13755

Информация об авторах

Анастасия Борисовна Курина, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, и.о. зав. лаборатории селекции и клеточных технологий отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, a.kurina@vir.nw.ru, orcid.org/0000-0002-3197-4751

Анна Майевна Артемьева, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, и.о. зав. отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, akme11@yandex.ru, orcid.org/0000-0002-6551-5203

Information about the authors

Anastasia B. Kurina, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Acting Head, Laboratory of Breeding and Cell Technologies at the Department of Genetic Resources of Vegetable and Cucurbit Crops, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, a.kurina@vir.nw.ru, orcid.org/0000-0002-3197-4751

Anna M. Artemyeva, Cand. Sci. (Agric.), Leading Researcher, Acting Head, Department of Genetic Resources of Vegetable and Cucurbit Crops, N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, akme11@yandex.ru, orcid.org/0000-0002-6551-5203

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 21.11.2022; одобрена после рецензирования 10.12.2022; принята к публикации 27.12.2022.

The article was submitted on 21.11.2022; approved after reviewing on 10.12.2022; accepted for publication on 27.12.2022.