

ОБЗОРЫ

Обзорная статья
УДК 573.6:631.527.8
DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-232-240



К вопросу о получении удвоенных гаплоидов столовой свеклы *Beta vulgaris* L. var. *conditiva* Alef. (обзор)

А. М. Зарецкий, А. Б. Курина, Д. В. Соколова

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

Автор, ответственный за переписку: Александр Михайлович Зарецкий, a.zaretskii@vir.nw.ru

В настоящее время гибридные семена F_1 у столовой свеклы имеют явное преимущество перед сортовыми популяциями благодаря дружным всходам, высокой выровненности корнеплода и эффекту гетерозиса. В целом гетерозисная селекция столовой свеклы в Российской Федерации развита недостаточно. Одной из причин является отсутствие хорошо изученного гомогенного линейного материала. Другая причина – длительный и трудоемкий процесс получения родительских компонентов для скрещивания классическим путем, обусловленный 2-летним циклом развития культуры, выраженной системой самонесовместимости, инбредной депрессией. Производство удвоенных гаплоидов столовой свеклы *in vitro* позволяет получать гомозиготный материал в короткие сроки. Он может использоваться в селекционных программах в качестве альтернативы традиционным инбредным линиям. Поэтому внедрение технологий получения гаплоидов и дигаплоидов в селекционные программы столовой свеклы имеет большое значение. В статье представлены различные подходы к получению удвоенных гаплоидов свеклы, описаны ключевые достижения в разработке методик, а также основные проблемы и пути их решения. Приемы производства дигаплоидов у столовой свеклы изучены недостаточно и нуждаются в дополнительных исследованиях, нацеленных на увеличение их эффективности и воспроизводимости.

Ключевые слова: *Beta vulgaris* L., андрогенез, гиногенез, культура микроспор, удвоенные гаплоиды

Благодарности: статья подготовлена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № FGEM-2022-0012 «Клеточные технологии для расширения селекционного потенциала культур овощного направления использования».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Зарецкий А.М., Курина А.Б., Соколова Д.В. К вопросу о получении удвоенных гаплоидов столовой свеклы *Beta vulgaris* L. var. *conditiva* Alef. (обзор). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(4): 232-240. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-232-240

SURVEYS

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-232-240

**On the issue of producing doubled haploids of table beet
(*Beta vulgaris* L. var. *conditiva* Alef.) (a review)**

Alexander M. Zaretsky, Anastasia B. Kurina, Diana V. Sokolova

*N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia***Corresponding author:** Alexander M. Zaretsky, a.zaretskii@vir.nw.ru

Currently, hybrid table beet seeds make up a significant part of the seeds sold in the world due to their high synchrony, root uniformity, and the effect of heterosis. Heterosis breeding of table beet in Russia is developed insufficiently. One of the reasons is the lack of a well-studied homogeneous linear material. Another reason is a long and labor-consuming process of obtaining parent components for classical crossing due to a 2-year cycle of crop development, a pronounced self-incompatibility system, and inbreeding depression. *In vitro* production of doubled table beet haploids makes it possible to obtain homozygous material in a short time. It can be used in breeding programs as an alternative to traditional inbred lines. Therefore, introduction of the haploidization technology into the table beet breeding programs is of great importance. This article discusses various approaches to the production of doubled beet haploids and describes crucial achievements, major problems, and the ways to solve them. Methods for producing doubled haploids of table beet has not been studied profoundly enough, so they require additional in-depth research aimed at improving their efficiency and reproducibility.

Keywords: *Beta vulgaris* L., androgenesis; gynogenesis, microspore culture, doubled haploids**Acknowledgements:** the article was prepared as part of the implementation of the state task assigned to VIR in accordance with the R&D thematic plan, Project No. FGEM-2022-0012 "Cell technologies for expanding the breeding potential of vegetable crops".

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Zaretsky A.M., Kurina A.B., Sokolova D.V. On the issue of producing doubled haploids of table beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva* Alef.) (a review). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(4):232-240. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-232-240

Введение

В настоящее время в мировой практике свекловодства широкое распространение получило использование гетерозисных гибридов. Базовым требованием к родительским компонентам при селекции на гетерозис является гомозиготность по большинству генов. Традиционно для получения линейного материала в селекции столовой свеклы используются такие методы, как инбридинг и отбор на протяжении нескольких поколений (минимум 4–6). Длительность и трудоемкость процесса обусловлена двулетним циклом развития культуры, самонесовместимостью, инбредной депрессией (Burenin, 2007). Получение гомогенного селекционного материала таким способом занимает 8–12 лет. На сегодняшний день альтернативным методом, позволяющим ускоренно получать гомозиготные линии свеклы, является получение удвоенных гаплоидов *in vitro* (Doubled Haploid method, ДН-метод). Благодаря этому методу становится возможным сократить время получения выровненного линейного материала свеклы до 1,5–2,0 лет (Vasilchenko, Kolesnikova, 2018; Zhuzhzhhalova et al., 2020). Данный метод не только позволяет ускорить селекционный процесс, но и за счет гаметоклональной изменчивости увеличивает внутривидовое разнообразие культуры, облегчает исследования в области генетических трансформаций и мутагенеза, позволяет обнаруживать генные взаимодействия и проводить генетические манипуляции (Wędzony et al., 2009; Karakotov et al., 2021).

Столовая свекла (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva* Alef.) – распространенная, высокоурожайная овощная культура, обладающая экологической пластичностью и длительной лежкостью корнеплодов (Burenin et al., 2016; Sokolova, 2018). Ее корнеплоды обладают высокой антиоксидантной активностью, превосходят многие овощи по содержанию незаменимых аминокислот, содержат большое количество физиологически активных веществ, витаминов, минеральных солей, ценный пигмент бетанин (Herbach et al., 2004; Litvinov, 2008; Ninfali et al., 2017). Свекла столовая является компонентом

«борщевого набора» и широко любима населением Российской Федерации.

Столовая свекла – типичное перекрестноопыляемое растение. Ксеногамия имеет преобладающее значение, но возможны и гейтеногамное, и аутогамное опыление (Zaikovskaya, 1968; Krasochkin, 1971). Цветки у свеклы обоеполые. Система генов гаметофитной самонесовместимости предотвращает самоопыление. В результате мутаций в аллелях самонесовместимости в популяциях иногда появляются биотипы, способные завязывать семена за счет самоопыления (Owen, 1942). Частота перекрестного опыления в популяциях значительна, однако иногда встречаются биотипы, способные к размножению без участия пыльцевого родителя (Maletskii, Maletskaya, 1996). В инбредных материалах агамоспермия наблюдается с относительно высокой частотой (Sokolova, 2020). Склонность культуры к различным способам семенного размножения не дает возможности с уверенностью утверждать, каким путем в ходе репродукции были получены семена, что отрицательно отражается на получении однородного материала. Закономерно, что для контролируемого получения гомогенного линейного материала метод создания удвоенных гаплоидов *in vitro* у свеклы на сегодняшний день является наиболее передовым.

В 2023 г. в Госреестре селекционных достижений РФ зарегистрировано 175 сортов столовой свеклы, из которых 37 являются гетерозисными гибридами F₁ (рисунок), причем 78% этих гибридов – иностранной селекции (<https://reestr.gossortrf.ru>). Следует отметить, что гетерозисная селекция столовой свеклы в нашей стране развита недостаточно. Одной из причин является отсутствие хорошо изученного гомогенного линейного материала. В РФ исследования в данном направлении ведутся главным образом в Российском государственном аграрном университете – МСХА имени К.А. Тимирязева и ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» (Pivovarov et al., 2011; Shmykova et al., 2015; Grigolava et al., 2021a; Grigolava et al., 2021b; Grigolava et al., 2022).

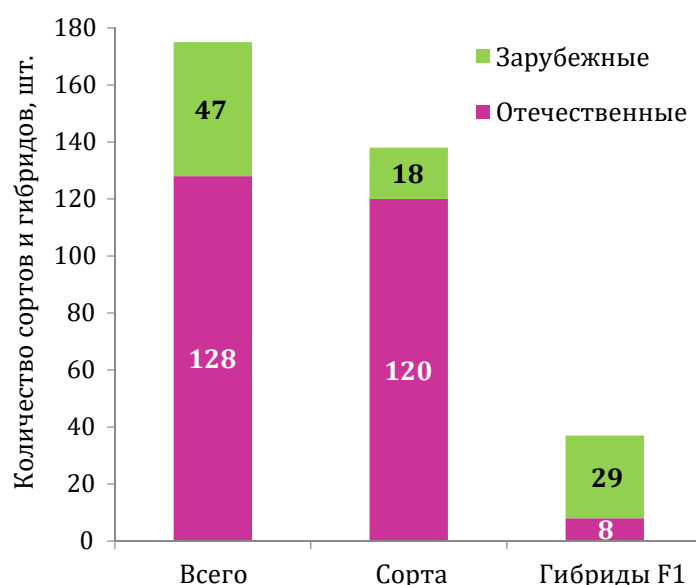


Рисунок. Сорта и гибриды столовой свеклы, зарегистрированные в Госреестре РФ в 2023 г.

(<https://reestr.gossortrf.ru>)

Figure. Table beet cultivars and hybrids registered in the Russian Federation (<https://reestr.gossortrf.ru>)

В данной статье представлен обзор исследований, посвященных разнообразным подходам к производству удвоенных гаплоидов столовой свеклы, рассматриваются перспективы метода, основные проблемы и пути их решения.

Получение гаплоидов и дигаплоидов. История вопроса.

По одной из версий, впервые гаплоидная форма растения была обнаружена в 1921 г. при попытке инициировать мутации у дурмана (*Datura stramonium* L.) (Blakeslee et al., 1922). В качестве стимулятора авторы использовали холодовой стресс. Впервые выделенный гаплоид вызвал у исследователей большой интерес.

Вскоре гаплоидные растения получили у табака (*Nicotiana* L.) при скрещивании видов *N. tabacum* L. и *N. sylvestris* L. Они отличались от диплоидных форм мелкими цветками и небольшими узкими листьями. Кроме этого, гаплоиды имели стерильную пыльцу и не формировали зрелые семена (Clausen, Mann, 1924).

В 1925 г. гаплоидное растение было обнаружено у пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Гаплоидная форма отличалась от диплоидной по габитусу (имела большую кустистость) и формировала незрелые семена (Gaines, Aase, 1926). В последующих исследованиях добиться гаплоидии у пшеницы удалось при использовании пыльцы, подвергнутой рентгеновскому облучению. Это позволило инактивировать мужские гаметы за счет потери их способности к оплодотворению, инициировать деление яйцеклетки и развитие зародыша (Katayama, 1934; Ferrie, 2017).

Массовое получение гаплоидов начато в 1960-х годах. Были созданы сотни гаплоидных растений табака и риса (Niizeki, Oono, 1968; Nitsch J.P., Nitsch C., 1969). С помощью метода удвоенных гаплоидов в начале 1970-х годов в Канаде был выведен первый сорт рапса 'Maris Naplona', а в 1980 г. зарегистрирован первый сорт ячменя 'Mingo' (Thompson, 1972; Ho, Jones, 1980). В последующие годы удалось получить гаплоиды у пшеницы (Barclay, 1975; Laurie, Bennett, 1986; Inagaki, Tahir, 1990; Tuveesson, Öhlund, 1993). С тех пор ДН-метод стал применяться у большего числа сельскохозяйственных культур. В настоящее время разработаны эффективные приемы получения удвоенных гаплоидов для многих овощных культур, например репы, капусты белокачанной и других представителей семейства Brassicaceae (Domblides et al., 2016), моркови (Voronina, Monakhos, 2021), тыквы (Domblides et al., 2020), кабачка (Ermolaev, Domblides, 2022).

Все существующие методы получения удвоенных гаплоидов включают два базовых этапа: получение гаплоидных растений (n) и диплоидизацию (удвоение) хромосомного набора ($2n$). Основные способы получения гаплоидов: отдаленная гибридизация с помощью чужеродного вида-опылителя, опыление облученной или обработанной химическими веществами пыльцой, биотехнологически *in vitro* (на основе андрогенеза и гиногенеза) (Blakeslee et al., 1922; Clausen, Mann, 1924; Sachar, Kapoor, 1958; Guha, Maheshwari, 1964; Rangan, 1982).

Культура изолированных микроспор *in vitro* – наиболее развитая и перспективная технология на основе андрогенеза по сравнению с вышеперечисленными. Она основана на способности клеток незрелого мужского гаметофита под воздействием внешних контролируемых условий изменять путь развития с гаметофитного на спорофитный и формировать полноценное растение

благодаря тотипотентности. В культуре микроспор отсутствуют соматические диплоидные клетки, что позволяет избежать дополнительного подтверждения происхождения полученных тканей и быть уверенными, что сформировавшиеся эмбриониды являются продуктом эмбриогенеза гаплоидных клеток микроспоры (Zheng, 2003; Soriano et al., 2013).

Эффективность технологии получения гаплоидов из неоплодотворенных семяпочек (на основе гиногенеза), как правило, ниже, чем при андрогенезе. Это связано с тем, что гинецей содержит гораздо меньше половых клеток, чем андроцей. Культура неоплодотворенных семяпочек обычно применяется там, где методы на основе андрогенеза неэффективны (Bohanec, 2009). Попытки создания гаплоидов методами на основе гиногенеза велись с 1950 г. Индийские ученые впервые путем гиногенеза индуцировали гаплоидные растения у разных видов покрытосеменных (Sachar, Kapoor, 1958; Rangan, 1982). Первый гаплоидный каллус был получен у гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.) на среде Уайта с добавлением 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и кокосового молока, однако органогенез не был достигнут (Tulecke, 1964). В последнее время гиногенез широко используется у многих культур (Shmykova et al., 2011; Domblides et al., 2020; Ermolaev, Domblides, 2022).

Развитие техники получения удвоенных гаплоидов у свеклы.

С самого начала внедрения ДН-метода в селекцию *B. vulgaris* все работы велись на сахарной свекле (*B. vulgaris* var. *saccharifera* Alef.). Это обусловлено повышенным вниманием к ведущей мировой сахароносной культуре. В настоящее время разработаны техники получения удвоенных гаплоидов сахарной свеклы *in vitro* главным образом на основе гиногенеза.

Техника *in vivo*

Первая гаплоидная форма у сахарной свеклы была получена в 1942 г. шведским ученым Леваном, который использовал обработку растений колхицином (Levan, 1945). Анализ по уровню плоидности семян, полученных от обработанных растений, выявил, помимо диплоидных, триплоидных и тетраплоидных форм, растения с гаплоидным набором хромосом. Гаплоид обладал большим числом узких и мелких листовых пластинок. По габитусу он был значительно слабее и ниже диплоидных форм, формировал нормально развитые соцветия, однако не завязывал семена.

В исследованиях шведского ученого Н. О. Боземарка (Bosemark, 1971) сообщается о получении пяти гаплоидов при использовании пыльцы дикого вида свеклы и сахарной свеклы, подвергнутой рентгеновскому облучению. Автору удалось спровоцировать зародыш к делению без оплодотворения и тем самым получить гаплоидные растения, которые позднее были обработаны колхицином. В статье сообщалось о максимум 0,26% гаплоидов среди семян, собранных с диплоидных пыльцестерильных растений, опыленных пыльцой тетраплоидных опылителей. Было отмечено, что растения с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС), по-видимому, дают больший выход гаплоидов, чем фертильные растения. Это предположение было подтверждено в 1973 г.: семена, собранные со стерильных растений, давали более чем в 10 раз больше гаплоидов, чем собранные с фертильных растений

(Yüce, 1973). Однако выход гаплоидов оставался крайне низким.

В 1983 г. сообщалось о получении гаплоидов путем гибридизации сахарной свеклы с признаком ЦМС со столовой свеклой, обладающей доминантным маркерным признаком – красным гипокотилем (Seman, 1983). Выход гаплоидов оказался также очень низким и составил 0,013%.

Техника *in vitro*

Ввиду низкой эффективности спонтанного отбора гаплоидов начались работы более эффективным методом *in vitro*. Несмотря на успехи в получении гаплоидных растений из пыльников или изолированных микроспор у различных культур, индукция гаплоидов у сахарной свеклы, приводящая к формированию растений, долгое время оставалась безуспешной. В период с 1976 по 1985 г. предпринимались многочисленные попытки получения гаплоидов с помощью андрогенеза, которые особым успехом не увенчались (Rogozińska, Goška, 1982; Van Geyt et al., 1987). Так, в 1982 г. J. N. Rogozińska, M. Goška (1982) опубликовали данные об исследованиях андрогенеза у сахарной, кормовой и дикой свеклы на среде Линасмайера и Скуга с добавлением различных компонентов, а также с применением натуральных растительных экстрактов. Использование экстрактов картофеля и свеклы не способствовало индуцированию гаплоидов, использование 6-бензилламинопурина (БАП) приводило к меньшему образованию каллуса и корней, а добавление в среду альфа-нафтилуксусной кислоты (НУК) и зеатина давало наибольший выход гаплоидов. Также упоминалось, что предварительная обработка соцветий холодом (+4°C) в течение семи дней положительно влияла на получение гаплоидов у свеклы. Отмечено, что дикие виды свеклы, в противоположность сахарной, оказались более отзывчивы при использовании андрогенеза.

Наибольшее распространение среди способов производства дигаплоидов свеклы получили технологии гиногенеза. В 1983 г. опубликованы результаты первого успешного культивирования неоплодотворенных семязачек сахарной свеклы (Hosemans, Bossoutrot, 1983). Позднее авторы сообщали о положительном опыте гиногенеза у сахарной свеклы и дали описание методики (Bossoutrot, Hosemans, 1985). В 1990 г. были опубликованы результаты выращивания изолированных семязачек сахарной свеклы (Lux et al., 1990). Схема опыта включала культивирование растений-доноров, предварительную обработку побегов холодом (+4°C), трехкратную стерилизацию побегов с промыванием бидистиллированной водой, подготовку семязачек, индуцирование их роста, пересадку индуцированных эмбрионов и клонирование *in vitro* гаплоидных растений. Предварительная обработка цветочных почек холодом в течение 4-5 дней приводила к достоверному увеличению выхода зародышей. Отмечено решающее значение содержания цитокининов и второстепенное значение содержания ауксинов в питательной среде.

В дальнейших исследованиях методики гиногенеза совершенствовались: подбирались среды, состав и концентрации гормонов, исследовалась зависимость выхода гаплоидных растений от стадии развития бутона и его размеров (Svirshchetskaya, Doležel, 2000; Zhuzhzhhalova et al., 2016; Vasilchenko et al., 2017). Максимальный выход эмбрионов у наиболее отзывчивых генотипов может достигать 15% (Weich, Levall, 2003).

Исследования гаплоидии столовой свеклы.

Несмотря на генетическую близость сахарной (*B. vulgaris* var. *saccharifera*) и столовой свеклы (*B. vulgaris* var. *conditiva*), технология получения удвоенных гаплоидов для столовой разновидности менее эффективна. О первых попытках получения гаплоидов у столовой свеклы с помощью гиногенеза сообщается в статье 1996 г. (Barganski, 1996). В исследовании были включены 15 различных генотипов: сорта, гибриды F₁ и линейные материалы. Наиболее влияющими на получение гаплоидов факторами были генотип растения и условия выращивания растения-донора.

Полная методика получения гаплоидов путем гиногенеза у столовой свеклы была впервые разработана и описана в 2014 г. группой польских исследователей: K. Górecka, U. Kowalska, W. Kiszczak, M. Burian, A. Karpuścińska A., L. Fornal (Kiszczak et al., 2021). Эмбрионы получали с использованием среды N6, содержащей 0,5 мг/л ИУК и 0,2 мг/л БАП, среды Гамборга (B5), содержащей 0,2 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИУК, с 322 мг/л путресцина и 100 г/л сахарозы. Авторы также привели условия выращивания растений-доноров, способ стерилизации почек, среды и условия для регенерации, укоренения и акклиматизации, а также метод оценки пloidности проточной цитометрией.

В 2017 г. группа авторов сообщила о первых попытках получения гаплоидов столовой свеклы с помощью андрогенеза (Górecka et al., 2017). Исследователи выяснили, что для индукции андрогенеза лучше всего подходят микроспоры безъядерной стадии развития, которые формируются в бутонах размером 1,3–1,5 мм. Наибольший выход эмбрионов отмечался на среде Гамборга (B5) с повышенным содержанием сахарозы (100 г/л) и добавлением 2,4-Д, а для регенерации была выбрана среда Мурасиге – Скуга (МС) с добавлением БАП и НУК. Также в работе было отмечено, что для лучшей индукции гаплоидов рекомендуется устранить крахмальные зерна с помощью предварительного культивирования пыльников в водном растворе альфа-амилазы человека.

В 2022 г. группа отечественных исследователей несколько улучшила методику получения гаплоидов путем андрогенеза (Grigolava et al., 2022). В своем исследовании они изучили влияние стадии развития микроспор и различных гормонов на индукцию андрогенеза на среде NLN-13. Описанная методика изолированных микроспор рекомендует использовать одноядерные микроспоры и выращивать их на среде NLN-13 с добавлением 130 г/л сахарозы, 0,1 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л НУК. Однако выход эмбрионов/каллуса все еще остается недостаточно высоким.

В 2021 г. группа польских исследователей разработала улучшенный способ получения удвоенных гаплоидных растений у столовой свеклы путем гиногенеза (Kiszczak et al., 2021). Представленная ими методика была сформирована с учетом требований растений столовой свеклы к питательным веществам в период развития и особенностей агрофизических требований культуры. Она включала рекомендации по концентрации макро-, микроэлементов и витаминов для среды B5 и для среды МС, используемых для регенерации и укоренения зародышей. Даны четкие рекомендации по яровизации и проращиванию доноров в климатической камере: по длине фотопериода, интенсивности освещения, частоте полива и особенностям температурного режима. Приведены условия для отбора и дезинфекции бутонов,

выделения зародышей, регенерации и акклиматизации растений.

Улучшение приемов гиногенеза у столовой свеклы было показано рядом отечественных исследователей, изучавших влияние регуляторов роста и углеводов в составе питательных сред на развитие изолированных семязачатков (Grigolava et al., 2021a, 2021b; Grigolava et al., 2022). Авторами была подобрана оптимальная pH среды (5,8), а также показан эффект гелеобразователя питательной среды на эмбрио- и каллусогенез. Максимальный выход эмбрионидов и каллуса был получен при культивировании семязачатков на питательной среде N6 с содержанием ИУК – 0,5 мг/л, БАП – 0,2 мг/л и 60 г/л сахарозы. Несмотря на высокую отзывчивость столовой свеклы в культуре изолированных микроспор к каллусогенезу (52,9%), эмбриогенеза не наблюдалось и регенерация растений не происходила.

Заключение

Гаплоидные технологии для использования в селекции востребованы для многих культур. Преимущества данных методов не вызывают сомнения и заключаются в скорости получения гомогенного линейного материала для последующей селекционной работы.

В последние годы интерес к использованию ДН-метода у столовой свеклы растет. Для *B. vulgaris* наибольшее развитие получила технология производства гаплоидов путем гиногенеза, которая преимущественно протестирована на сахарной свекле. Для столовой свеклы проведены исследования по совершенствованию методов гиногенеза, рекомендован состав питательных сред. Можно отметить, что выход удвоенных гаплоидов все еще недостаточно высок. Исследования по данной тематике в свете современных подходов к селекции гибридов столовой свеклы крайне актуальны. Необходимо проведение дополнительного изучения, сконцентрированного на увеличении эффективности и воспроизводимости каждого этапа методики.

Несмотря на то что метод изолированных микроспор более эффективен, чем метод изолированных семязачатков, успешных исследований по получению гаплоидов столовой свеклы этими способами крайне мало. На данный момент существует лишь несколько рекомендаций, касающихся состава питательных сред, условий произрастания или стадии развития микроспор, но выход гаплоидных растений все еще крайне мал. В связи с этим исследования по данному направлению требуют дополнительных экспериментов, направленных на подбор оптимального состава сред и увеличения эффективности андрогенеза.

References / Литература

- Baranski R. *In vitro* gynogenesis in red beet (*Beta vulgaris* L.): effects of ovule culture conditions. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 1996;65(1-2):57-60. DOI: 10.5586/asbp.1996.010
- Barclay I.R. High frequencies of haploid production in wheat (*Triticum aestivum*) by chromosome elimination. *Nature*. 1975;256:410-411. DOI: 10.1038/256410a0
- Blakeslee A.F., Belling J., Farnham M.E., Bergner A.D. A haploid mutant in the Jimson Weed, "*Datura stramonium*". *Science*. 1922;55(1433):646-647. DOI: 10.1126/science.55.1433.646
- Bohanec B. Doubled haploids via gynogenesis. In: A. Touraev, Forster B.P., S. Mohan Jain (eds.). *Advances in Haploid Pro-*
- duction in Higher Plants*. Dordrecht: Springer; 2009. p.35-46. DOI: 10.1007/978-1-4020-8854-4_2
- Bosemark N.O. Haploids and homozygous diploids, triploids and tetraploids in sugar beet. *Hereditas*. 1971;69(2):193-203. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1971.tb02433.x
- Bossoutrot D., Hosemans D. Gynogenesis in *Beta vulgaris* L.: From *in vitro* culture of unpollinated ovules to the production of doubled haploid plants in soil. *Plant Cell Reports*. 1985;4(6):300-303. DOI: 10.1007/bf00269883
- Burenin V.I. Genetic resources of the *Beta* L. genus (Geneticheskiye resursy roda *Beta* L.). St. Petersburg; 2007. [in Russian] (Буренин В.И. Генетические ресурсы рода *Beta* L. Санкт-Петербург; 2007).
- Burenin V.I., Ludilov V.A., Sokolova D.V. Integrated research of red beet gene pool. *Potato and Vegetables*. 2016;(2):39-40. [in Russian] (Буренин В.И., Лудилов В.А., Соколова Д.В. Комплексное исследование генофонда столовой свеклы. *Картофель и овощи*. 2016;(2):39-40).
- Clausen R.E., Mann M.C. Inheritance in *Nicotiana tabacum*: V. The occurrence of haploid plants in interspecific progenies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1924;10(4):121-124. DOI: 10.1073/pnas.10.4.121
- Domblides E., Shmykova N., Khimich G., Korotseva I., Kan L., Domblides A. et al. Production of doubled haploid plants of *Cucurbitaceae* family crops through unpollinated ovule culture *in vitro*. *Acta Horticulturae*. 2020;1294:19-28. DOI: 10.17660/ActaHortic.2020.1294.4
- Domblides E.A., Shmykova N.A., Shumilina D.V., Zayachkovskaya T.V., Mineikina A.I., Kozar E.V., Akhramenko V.A., Shevchenko L.L., Kan L.Yu., Bondareva L.L., Domblides A.S. Technology of obtaining doubled haploids in the culture of microspores for the cabbage family (guidelines) (Tekhnologiya polucheniya udvoyennykh gaploidov v culture mikrospor semeystva kapustnye [metodicheskiye rekomendatsii]). Moscow: VNISSOK; 2016. [in Russian] (Домблидес Е.А., Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Заячковская Т.В., Минейкина А.И., Козарь Е.В., Ахраменко В.А., Шевченко Л.Л., Кан Л.Ю., Бондарева Л.Л., Домблидес А.С. Технология получения удвоенных гаплоидов в культуре микроспор семейства капустные (методические рекомендации). Москва: ВНИИССОК; 2016).
- Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation. *Plant Biotechnology Journal*. 2010;8(4):377-424. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x
- Ermolaev A.S., Domblides E.A. Optimization of steps in the technology of obtaining doubled haploids of summer squash (*Cucurbita pepo* L.) in the culture of unpollinated ovules *in vitro*. *Vegetable Crops of Russia*. 2022;(5):5-14. [in Russian] (Ермолаев А.С., Домблидес Е.А. Оптимизация этапов технологии получения удвоенных гаплоидов кабачка (*Cucurbita pepo* L.) в культуре неопыленных семязачатков *in vitro*. *Овощи России*. 2022;(5):5-14). DOI: 10.18619/2072-9146-2022-5-5-14
- Ferrie A.M.R. Doubled haploid production in higher plants. In: B. Thomas, D.J. Murphy, B.G. Murray (eds). *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*. Vol. 2. 2nd ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2017. p.147-151. DOI: 10.1016/b978-0-12-394807-6.00189-1
- Gaines E.F., Aase H.C. A haploid wheat plant. *American Journal of Botany*. 1926;13(6):373-385. DOI: 10.1002/j.1537-2197.1926.tb05892.x
- Górecka K., Kryżanowska D., Kowalska U., Kiszczak W., Podwyszyńska M. Development of embryoids by microspore and anther cultures of red beet (*Beta vulgaris* L. subsp.

- vulgaris*). *Journal of Central European Agriculture*. 2017;18(1):185-195. DOI: 10.5513/JCEA01/18.1.1877
- Grigolava T.R., Vishnyakova A.V., Monakhos S.G. Towards isolated microspores culture of red beet. *Potato and Vegetables*. 2022;(5):37-40. [in Russian] (Григолова Т.Р., Вишнякова А.В., Монахос С.Г. Движение к культуре изолированных микроспор свеклы столовой. *Картофель и овощи*. 2022;(5):37-40). DOI: 10.25630/PAV.2022.18.81.007
- Grigolava T.R., Vishnyakova A.V., Sinitsyna A.A., Voronina A.V., Zubko O.N., Zudova O.V. et al. Methodological approaches for producing doubled haploids in sugar beet and red beet (*Beta vulgaris* L.). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021a;25(3):276-283. [in Russian] (Григолова Т.Р., Вишнякова А.В., Сеницына А.А., Воронина А.В., Зубко О.Н., Зудова О.В. и др. Методические подходы создания удвоенных гаплоидов сахарной и столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021a;25(3):276-283). DOI: 10.18699/VJ21.031
- Grigolava T.R., Vishnyakova A.V., Zubko O.N., Monakhos G.F., Monakhos S.G. Nutrient medium gelling agent effect on embryo- and callusogenesis in isolated ovules of red beet (*Beta vulgaris* L.). *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2021b;(6):32-41. [in Russian] (Григолова Т.Р., Вишнякова А.В., Зубко О.Н., Монахос Г.Ф., Монахос С.Г. Влияние гелеобразователя питательной среды на эмбрио- и каллусогенез в культуре изолированных семязачатков свеклы столовой (*Beta vulgaris* L.). *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2021b;(6):32-41). DOI: 10.26897/0021-342X-2021-6-32-41
- Guha S., Maheshwari S.C., *In vitro* production of embryos from anther of *Datura*. *Nature*. 1964;204:497. DOI: 10.1038/204497a0
- Herbach K.M., Stintzing E.C., Carle R. Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science*. 2004;69(6):491-498. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb10994.x
- Ho K.M., Jones G.E. Mingo barley. *Canadian Journal of Plant Science*. 1980;60(1):279-280. DOI: 10.4141/cjps80-041
- Hosemans D., Bossoutrot D. *In vitro* culture of unpollinated beet (*Beta vulgaris* L.) ovules of male sterile and male fertile plants and induction of haploid plants. In: G.P. Chapman, S.H. Mantell, R.W. Daniels (eds). *The Experimental Manipulation of Ovule Tissues*. New York, NY: Longman Inc.; 1985. p.79-88.
- Hosemans D., Bossoutrot D. Induction of haploid plants from *in vitro* culture of unpollinated beet ovules (*Beta vulgaris* L.). *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung = Journal of Plant Breeding*. 1983;91:74-77.
- Inagaki M., Tahir M. Comparison of haploid production frequencies in wheat varieties crossed with *Hordeum bulbosum* L. and maize. *Breeding Science*. 1990;40(2):209-216. DOI: 10.1270/JSBBS1951.40.209
- Karakotov S.D., Apasov I.V., Nalbandyan A.A., Vasilchenko E.N., Fedulova T.P. Modern issues of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) hybrid breeding. 2021;25(4):394-400. [in Russian] (Каракотов С.Д., Апасов И.В., Налбандян А.А., Васильченко Е.Н., Федуллова Т.П. Современные аспекты селекции гибридов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(4):394-400). DOI: 10.18699/VJ21.043
- Katayama Y. Haploid formation by X-rays in *Triticum monococcum*. *Cytologia*. 1934;5(2):235-237.
- Kiszczyk W., Burian M., Kowalska U., Górecka K., Podwyszyńska M. Production of homozygous red beet (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*) plants by ovule culture. *Methods in Molecular Biology*. 2021;2289:301-312. DOI: 10.1007/978-1-0716-1331-3_20
- Krasochkin V.T. Characteristics of the Chenopodiaceae or Salsolaceae family (Kharakteristika semeystva marevykh ili solyankovykh Chenopodiaceae Less.). In: *Flora of Cultivated Plants. Vol. 19. Root Plants*. Leningrad: Kolos; 1971. p.5-266. [in Russian] (Красочкин В.Т. Характеристика семейства маревых или солянковых Chenopodiaceae Less. В кн.: *Культурная флора СССР. Т. 19. Корнеплодные растения*. Ленинград: Колос; 1971. С.5-266).
- Laurie D.A., Bennett M.D. Wheat × maize hybridization. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*. 1986;28(2):313-316. DOI: 10.1139/g86-046
- Levan A. A haploid sugar beet after colchicine treatment. *Hereditas*. 1945;31(3-4):399-410. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1945.tb02760.x
- Litvinov S.S. Scientific foundations of modern vegetable growing (Nauchnye osnovy sovremennoogo ovoshchevodstva). Moscow; 2008. [in Russian] (Литвинов С.С. Научные основы современного овощеводства. Москва; 2008).
- Lux H., Herrmann L., Wetzel C. Production of haploid sugar beet, *Beta vulgaris* L. by culturing unpollinated ovules. *Plant Breeding*. 1990;104(3):177-183. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1990.tb00420.x
- Maletskii S.I., Maletskaya E.I. Self-fertility and agamospermy in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Russian Journal of Genetics*. 1996;32(12):1431-1437.
- Niizeki H., Oono K. Induction of haploid rice plant from anther culture. *Proceedings of the Japan Academy*. 1968;44(6):554-557. DOI: 10.2183/pjab1945.44.554
- Ninfali P., Antonini E., Frati A., Scarpa E.S. C-glycosyl flavonoids from *Beta vulgaris* Cicla and betalains from *Beta vulgaris rubra*: antioxidant, anticancer and antiinflammatory activities – A review. *Phytotherapy Research*. 2017;31(6):871-884. DOI: 10.1002/ptr.5819
- Nitsch J.P., Nitsch C. Haploid plants from pollen grains. *Science*. 1969;163(3862):85-87. DOI: 10.1126/science.163.3862.85
- Owen F.V., Ruser G.K. Some mendelian characters in *Beta vulgaris* and linkages observed in the Y-R-B group. *Journal of Agricultural Research*. 1942;65(3):155-171.
- Pivovarov V.F., Shmykova N.A., Suprunova T.P. Biotechnological approaches to vegetable crop breeding. *Vegetable Crops of Russia*. 2011;3(12):10-17. [in Russian] (Пивоваров В.Ф., Шмыкова Н.А., Супрунова Т.П. Биотехнологические приемы в селекции овощных культур. *Овощи России*. 2011;3(12):10-17).
- Rangan T.S. Ovary, ovule, and nucellus culture. In: B.M. Johri (ed.). *Experimental Embryology of Vascular Plants*. Berlin; Heidelberg: Springer; 1982. p.105-129. DOI: 10.1007/978-3-642-67798-4_6
- Rogozińska J.H., Goška M. Attempts to induce haploids in anther cultures of sugar, fodder and wild species of beet. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 1982;51(1):91-105. DOI: 10.5586/asbp.1982.009
- Sachar R.C., Kapoor M. Influence of kinetin and gibberellic acid on the test tube seeds of *Cooperia pedunculata* herb. *The Science of Nature*. 1958;45(22):552-553. DOI: 10.1007/bf00632077
- Seman I. Possibilities of detection and induction of haploids in *Beta vulgaris* L. *Biologia (Bratislava)*. 1983;38(11):1113-1122.
- Shmykova N., Shumilina D., Kushnereva V., Khimich G. Gynogenesis induction in culture of unpollinated ovules of pumpkin. *Vegetable Crops of Russia*. 2011;(1):28-31. [in Russian] (Шмыкова Н., Шумилина Д., Кушнерёва В., Химич Г. Индукция гиногенеза в культуре неопылен-

- ных семян тыквы. *Овощи России*. 2011;(1):28-31. DOI: 10.18619/2072-9146-2011-1-28-31
- Shmykova N.A., Suprunova T.P., Pivovarov V.F. Biotechnologies and molecular methods in vegetable crop breeding (to 95th anniversary of VNIISOK). *Agricultural Biology*. 2015;50(5):561-570. [in Russian] (Шмыкова Н.А., Супрунова Т.П., Пивоваров В.Ф. Биотехнологические и молекулярно-генетические методы в селекции овощных культур (к 95-летию ВНИИССОК). *Сельскохозяйственная биология*. 2015;50(5):561-570). DOI: 10.15389/agrobiology.2015.5.561rus
- Sokolova D.V. Apomictic lines of sugar beet: development and studying. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2020;181(4):93-101. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-93-101
- Sokolova D.V. Formation of the trait-specific group in VIR's table beet collection: environmental plasticity and stability. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2018;179(2):106-117. [in Russian] (Соколова Д.В. Формирование признаковой группы коллекции столовой свеклы ВИР: экологическая пластичность и стабильность. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018;179(2):106-117). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-2-106-117
- Soriano M., Li H., Boutilier K. Microspore embryogenesis: establishment of embryo identity and pattern in culture. *Plant Reproduction*. 2013;26(3):181-196. DOI: 10.1007/s00497-013-0226-7
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage: [website]. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию: [сайт]). URL: <https://reestr.gossortrf.ru> [дата обращения 05.10.2023].
- Svirshchevskaya A.M., Doležel J. Production and performance of gynogenetic sugar beet lines. *Journal of Sugar Beet Research*. 2000;37(4):117-133.
- Thompson K.F. Cytoplasmic male-sterility in oil-seed rape. *Heredity*. 1972;29(2):253-257. DOI: 10.1038/hdy.1972.89
- Tulecke W. A haploid tissue culture from the female gametophyte of *Ginkgo biloba* L. *Nature*. 1964;203(4940):94-95. DOI: 10.1038/203094a0
- Tuvesson I.K.D., Öhlund R.C.V. Plant regeneration through culture of isolated microspores of *Triticum aestivum* L. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 1993;34:163-167.
- Van Geyt J., Speckmann G.J., D'Halluin K., Jacobs M. *In vitro* induction of haploid plants from unpollinated ovules and ovaries of the sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 1987;73(6):920-925. DOI: 10.1007/BF00289399
- Vasilchenko E.N., Kolesnikova E.O. Biotechnological methods of obtaining and evaluating homozygous forms of sugar beet (Biotechnologicheskiye metody polucheniya i otsenki gomozigotnykh form sakharnoy svekly). *Alleya nauki = Alley of Science*. 2018;10(26):292-296. [in Russian] (Васильченко Е.Н., Колесникова Е.О. Биотехнологические методы получения и оценки гомозиготных форм сахарной свеклы. *Аллея Науки*. 2018;10(26):292-296).
- Vasilchenko E.N., Zhuzhzhhalova T.P., Vashchenko T.G., Zemlyanukhina O.A., Karpechenko N.A., Podvigina O.A. Peculiarities of *in vitro* reproduction of sugar beet haploid regenerants. *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*. 2017;3(54):57-66. [in Russian] (Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Ващенко Т.Г., Землянухина О.А., Карпеченко Н.А., Подвигина О.А. Особенности формирования гаплоидных регенерантов сахарной свеклы в культуре *in vitro*. *Вестник Воронежского государственного аграрного университета*. 2017;3(54):57-66). DOI: 10.17238/issn2071-2243.2017.3.57
- Voronina A.V., Monakhos S.G. Method of obtaining doubled carrot haploids in culture of isolated microspores *in vitro* (Sposob polucheniya udvoynennykh gaploidov morkovi v kulture izolirovannykh mikrospor *in vitro*). Russian Federation; patent number: RU 2750959 C1; 2021. [in Russian] (Воронина А.В., Монахос С.Г. Способ получения удвоенных гаплоидов моркови в культуре изолированных микроспор *in vitro*. Российская Федерация; патент № RU 2750959 C1; 2021).
- Wędzony M., Forster B.P., Żur I., Golemięc E., Szechyńska-Hebda M., Dubas E. et al. Progress in doubled haploid technology in higher plants. In: A. Touraev, Forster B.P., S. Mohan Jain (eds.). *Advances in Haploid Production in Higher Plants*. Dordrecht: Springer; 2009. p.1-33. DOI: 10.1007/978-1-4020-8854-4_1
- Weich E.W., Levall M.W. Doubled haploid production of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). In: M. Maluszynski, K.J. Kasha, B.P. Forster, I. Szarejko (eds.). *Doubled Haploid Production in Crop Plants*. Dordrecht: Springer; 2003. p.255-263. DOI: 10.1007/978-94-017-1293-4_38
- Yüce S. Haploidie bei der Zuckerrübe [dissertation]. Giessen: Justus-Liebig-Universität; 1973. [in German]
- Zaikovskaya N.E. Biology of flowering, cytology and embryology of sugar beet (Biologiya tsveteniya, tsitologiya i embriologiya sakharnoy svekly). In: *Sugar Beet Biology and Breeding (Biologiya i selektsiya sakharnoy svekly)*. Moscow: Kolos; 1968. p.137-207. [in Russian] (Зайковская Н.Э. Биология цветения, цитология и эмбриология сахарной свеклы. В кн.: *Биология и селекция сахарной свеклы*. Москва: Колос; 1968. С.137-207).
- Zheng M.Y. Microspore culture in wheat (*Triticum aestivum*) – Doubled haploid production via induced embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003;73(3):213-230. DOI: 10.1023/a:1023076213639
- Zhuzhzhhalova T.P., Kolesnikova E.O., Vasilchenko E.N., Cherkasova N.N. Biotechnological methods as a tool for efficient sugar beet breeding. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(1):40-47. DOI: 10.18699/VJ20.593
- Zhuzhzhhalova T.P., Podvigina O.A., Znamenskaya V.V., Vasilchenko E.N., Karpechenko N.A., Zemlyanukhina O.A. Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) haploid parthenogenesis *in vitro*: factors and diagnostic characters. *Agricultural Biology*. 2016;51(5):636-644. [in Russian] (Жужжалова Т.П., Подвигина О.А., Знаменская В.В., Васильченко Е.Н., Карпеченко Н.А., Землянухина О.А. Гаплоидный партеногенез *in vitro* у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.): факторы и диагностические признаки. *Сельскохозяйственная биология*. 2016;51(5):636-644). DOI: 10.15389/agrobiology.2016.5.636rus

Информация об авторах

Александр Михайлович Зарецкий, аспирант, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, a.zaretskii@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0007-3141-4379>

Анастасия Борисовна Курина, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, nastya_n11@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3197-4751>

Диана Викторовна Соколова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, dianasokol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9967-7454>

Information about the authors

Alexander M. Zaretsky, Postgraduate Student, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, a.zaretskii@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0009-0007-3141-4379>

Anastasia B. Kurina, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, nastya_n11@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3197-4751>

Diana V. Sokolova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, dianasokol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9967-7454>

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 29.05.2023; одобрена после рецензирования 05.09.2023; принята к публикации 05.12.2023.
The article was submitted on 29.05.2023; approved after reviewing on 05.09.2023; accepted for publication on 05.12.2023.