

Оригинальные статьи / Original articles

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-2-43-46>
УДК 635.356:581.143.5:631.531

Заблочкая Е.А., Минейкина А.И.,
Домблидес Е.А., Паслова Т.О.,
Бондарева Л.Л.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр овощеводства" (ФГБНУ ФНЦО)
143072, Россия, Московская область, Одинцовский район, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14
E-mail: stevijaelena@yandex.ru,
anna-batmanova@mail.ru, edomblides@mail.ru,
lyuda_bondareva@mail.ru

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Заблочкая Е.А., Минейкина А.И., Домблидес Е.А., Паслова Т.О., Бондарева Л.Л. Завязываемость семян у растений-регенерантов капусты брокколи различных генотипов при геитеногамном опылении. *Овощи России*. 2020;(2):43-46. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-2-43-46>

Поступила в редакцию: 28.11.2019

Принята к печати: 28.02.2020

Опубликована: 25.04.2020

Elena A. Zablotskaya,
Anna I. Mineykina,
Elena A. Domblides,
Tatyana O. Paslova,
Lyudmila L. Bondareva

Federal State Budgetary Scientific Institution
Federal Scientific Vegetable Center (FSBSI FSVC)
14, Selektionnaya str., VNISSOK, Odintsovo district, Moscow region, Russia, 143072
E-mail: stevijaelena@yandex.ru, anna-batmanova@mail.ru, edomblides@mail.ru,
lyuda_bondareva@mail.ru

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For citation: Zablotskaya E.A., Mineykina A.I., Domblides E.A., Paslova T.O., Bondareva L.L. Broccoli various genotypes regenerated plants (R₀) seed set after geitonogamy. *Vegetable crops of Russia*. 2020;(2):43-46. (In Russ.)
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-2-43-46>

Received: 28.11.2019

Accepted for publication: 28.02.2020

Accepted: 25.04.2020

Завязываемость семян у растений-регенерантов капусты брокколи различных генотипов при геитеногамном опылении



РЕЗЮМЕ

Актуальность: Капуста брокколи (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cyposa* Duch.) распространена по всему миру благодаря своим диетическим, лечебно-профилактическим качествам и легкости приготовления. В настоящее время в селекции сельскохозяйственных культур приоритетным направлением является создание F₁ гибридов, которые отличаются от сортов выравненностью и качеством продуктивных органов. Однако, для получения чистых линий, пригодных для создания таких гибридов, требуется затратить до 6 лет на инбридинги. В связи с этим необходимо вовлекать в селекционный процесс методы биотехнологии, а именно технологии получения удвоенных гаплоидов. С помощью них можно получить в одном поколении 100% гомозиготную линию. Но, как показывают более ранние исследования, у таких растений наблюдается низкая завязываемость семян, что затрудняет использование их в производстве. Поэтому важным этапом при работе с линиями, полученными в культуре in vitro, является определение степени завязываемости семян при опылении. **Материал и методы.** В наших исследованиях исходным материалом являлись растения-регенеранты капусты брокколи, полученные методом культуры изолированных микроспор in vitro. Опыление цветков и бутонов проводили в камере искусственного климата.

Результаты. В результате изучения 11 ДН-линий капусты брокколи отмечено влияние генотипа на завязываемость семян при опылении в бутонах. Выделены генотипы с низкой завязываемостью семян. В генотипах А и А1.3 у 93,3% и 95,5% стручков соответственно отсутствовали семена. У большинства генотипов завязываемость семян составляла 50,3-85,7%. В основном была отмечена низкая и средняя степень завязываемости семян. Поэтому при работе с растениями-регенерантами необходимо учитывать эти особенности и проводить большое количество скрещиваний для получения потомства.

Ключевые слова: капуста брокколи, линии удвоенных гаплоидов, завязываемость семян, самонесовместимость, геитеногамное опыление, ДН-технологии.

Broccoli various genotypes regenerated plants (R₀) seed set after geitonogamy

ABSTRACT

Relevance. Broccoli cabbage (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cyposa* Duch.) is widely spread around the world due to its dietetic attribute, preventive and healing effect, cooking simplicity. F₁ hybrids production is the main stream in modern crop breeding as they surpass varieties in evenness and yield quality. However, it takes up to 6 years of inbreeding to obtain pure parent lines capable for hybrid creation. Thus biotechnological methods, especially doubled haploids production technology shall be implemented in selection process. 100% homozygous line can be worked out in one generation by this technology. Nevertheless earlier researches revealed such plants low seed set that hinder their application in mass production. Therefore after pollination seed set level identification is an important step in applying lines gained via in vitro process.

Materials and methods. Broccoli cabbage regenerated plants produced by isolated microspore in vitro culture method were used as raw material in our study. Flower and bud pollination was held in climate cells.

Results. Study of 11 broccoli cabbage DH-lines disclosed genotype influence the ability to set seeds after bud pollination. 93.3% genotype A and 95.5% A1.3 pods were seedless in our experiments. Most genotypes demonstrated 50.3-85.7% seed set level. Low and middle ability to form seeds prevailed mainly. This peculiarity should be considered while dealing with regenerated plants by raising the number of crossings for successful breeding.

Keywords: broccoli, doubled haploid lines, seed set, self-incompatibility, geitonogamic pollination, DH technologies.



Рис. 1. Растение капусты брокколи – линия М



Рис. 2. Растения капусты брокколи – Фм линия



Рис. 3. Растение капусты брокколи – линия МЗ



Рис. 4. Растение капусты брокколи – линия Ев

Введение

В современных условиях рынка потребительский спрос на овощные продукты не только растет, но и меняется. Тем самым создает для селекционеров необходимость наличия разнообразного и стабильного исходного материала, позволяющего быстро реагировать на запросы современного производства. Среди овощных культур значительное место занимают представители семейства Brassicaceae. Особое место занимает капуста брокколи (*Brassica oleracea* L. convar. *botrytis* (L.) Alef. var. *cytosa* Duch.), которая популярна во всем мире благодаря своим вкусовым и диетическим качествам [1,2,3]. Она является источником витаминов А, В₂, С, РР, К, в ней содержатся флавоноиды, селен, белок, включающий незаменимые аминокислоты, глюकोзинолаты [4,5,6,7]. Эти все качества позволяют отнести капусту брокколи к продуктам функционального назначения [8].

В настоящее время наиболее приоритетным направлением в селекции овощных культур является создание гетерозисных гибридов F₁, отличающихся от сортов выравненностью, высокими продуктивными качествами, устойчивостью. Наиболее сложным, трудоемким и продолжительным этапом в этом процессе является создание постоянных родительских линий, на получение которых уходит до 7 лет у однолетних культур при использовании традиционных методов селекции [9].

В большинстве развитых стран в настоящее время для ускорения селекции широко используются биотехнологические методы, а именно, технологии получения удвоенных гаплоидов (DH-технологии) [10, 11, 12]. Такие технологии расширяют спектр генетического разнообразия форм растений, позволяют быстро создавать гомозиготные линии, способствуют обнаружению редких рецессивных аллелей, тем самым повышая эффективность практической селекции [13, 14, 15]. Получение и оценка растений, полученных с помощью DH-технологии из семейства Капустные – капуста белокочанная, брокколи, цветная, брюссельская, были описаны многими авторами, и доказано, что культура пыльников и микроспор может быть эффективной и использована для их селекции [16, 17, 18, 19].

Однако наряду с преимуществами биотехнологических методов, существуют практические сложности при работе с DH-растениями, связанные с их последующим размножением. В некоторых научных публикациях у ряда культур отмечена пониженная фертильность DH-растений. Так, в исследовании Осадчей Т.С. и др. обнаружены различия между линиями по уровню фертильности растений R₀ и R₁ при культивировании пыльников пшеницы. А также выявлены регенеранты R₀, которые в R₁-поколении расщеплялись по уровню фертильности. Авторы предполагают, что это может быть связано с цитогенетической изменчивостью андрогенных растений [20]. Аналогичные результаты были получены и ранее. Изменчивая фертильность была отмечена среди удвоенных гаплоидных растений, регенерированных из культуры пыльников ржи. В опытах, поставленных в период с 1981 по 1991 годы, наблюдалась завязываемость семян у 48-53% растений-регенерантов после самоопыления. В других опытах отмечено влияние внешних условий на фертильность растений-регенерантов (R₀). 62% растений R₀ могли завязывать семена после самоопыления в условиях теплицы. А регенеранты, которые были посажены непосредственно в поле для естественной яровизации, образовали приблизительно 30% посевного материала после самоопыления [21]. По данным Guo, Pulli у DH-растений ржи, полученных из культуры изолированных микроспор, наблюдалось нормальная способность завязывать семена [22]. Пониженная фертильность была описана Lashermes и др. у DH-растений кофе робуста (*Coffea canephora*), полученных путем колхичинирования гаплоидов. Авторы связывают это с инбредной депрессией [23]. По данным Stipic и др. из 78 полученных в культуре пыльников растений-регенерантов R₀ капусты цветной и выращенных в поле, только 14 были фертильными и образовали семена [24]. В аналогичных работах ряда авторов у культур из семейства Капустные выявлена низкая завязываемость семян при гейтеногамном опылении полученных *in vitro* растений-регенерантов, которая варьировала от 0 до 7 семян/стручков. При этом установлена зависимость данной особенности от генотипа [25, 26, 27, 28].

Таким образом, сниженная фертильность DH-линий может создать проблему использования их в качестве родителей при производстве гибридов. Поэтому крайне важно при включении в селекционный процесс нового

исходного материала, определять завязываемость семян растений удвоенных гаплоидов для возможности дальнейшего практического использования.

Материал и методика исследований

Исходным материалом являлись растения-регенеранты капусты брокколи, полученные в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ФНЦО методом культуры изолированных микроспор *in vitro* из перспективных селекционных образцов и переданные в лабораторию селекции и семеноводства капустных культур.

В работу были включены 11 генотипов капусты брокколи с различными морфологическими признаками.

Для определения степени завязываемости семян растения-регенеранты были помещены в вегетационные сосуды объемом 5 л с питательной смесью, состоящей из двух частей дерновой земли, по одной части перегноя и торфа с добавлением нитроаммофоски (10 г на вегетационный сосуд). Акклиматизацию, получение цветоноса и опыление проводили в камере искусственного климата при температуре 16...18°C при режиме 16 час. – день / 8 час. – ночь и освещении 9000 лк. В качестве стандарта использовали удвоенную гаплоидную линию (DH-линию), включенную нами ранее по результатам испытаний в скрещивания.

Оценку степени проявления самонесовместимости при самоопылении цветков проводили по шкале: 0-1 штук/стручок – высокая, 2-5 штук/стручок – средняя, более 5 штук/стручок – низкая, или отсутствует (Бунин и др., 2011).

Степень завязываемости семян в стручках при опылении бутонов определяли по условно принятой шкале: 0 – семена отсутствуют, 1-5 штук/стручок – низкая; 6-10 штук/стручок – средняя; более 10 штук/стручок – высокая.

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Microsoft Excel 2010.

Результаты исследований

В проводимых ранее исследованиях по изучению удвоенных гаплоидных линий капусты брокколи некоторые авторы отмечают формирование малого числа семян в стручках линий, полученных в культуре *in vitro*. В исследованиях Farnham (1998) среднее число семян варьировало в пределах от 2,4 до 5,8 шт./стручок при ежегодном инбридинге в зависимости от генотипа и от 1,8-3,5 шт./стручок у DH-линий [29]. Ранее и нами была отмечена аналогичная тенденция завязываемости семян у полученных DH-линий капусты брокколи. Так, при опылении в бутоне среднее

число семян у DH-линий из сорта Тонус составляло 6,7 шт./стручок, а у DH-линий из сортообразца №1 – 4,2 шт./стручок. Среднее число семян при гейтеногамном опылении у всех DH-линий было 4,91 шт./стручок. Все это послужило предпосылкой к дальнейшему изучению данного показателя для пригодности получаемых линий удвоенных гаплоидов в селекционной работе.

Оценка степени проявления самонесовместимости у растений-регенерантов показала, что в зависимости от генотипа до 73% растений имели высокую самонесовместимость, 18% – среднюю и 9% оказались самосовместимыми.

В результате исследований на завязываемость семян отмечено влияние генотипа. Из 11 генотипов минимальную завязываемость семян при опылении бутонов отмечали у трех генотипов (А, А1.3, Е-9). Так, в генотипах А и А1.3 у 93,3 и 95,3% стручков соответственно семена отсутствовали и лишь у небольшого процента стручков завязались семена (табл.). Можно предположить, что это связано с инбредной депрессией получаемых гомозиготных линий. У остальных 8 генотипов завязываемость семян составляла 50,3-85,7%. У всех тестируемых генотипов завязываемость была меньше, чем у DH-линии, используемой нами в селекционной практике.

По степени завязываемости семян при гейтеногамном опылении бутонов большинство генотипов имели низкую и среднюю степень завязываемости. Среди них у двух генотипов (Ев, Гв) наибольшая доля (57,2 и 76,8%, соответственно) приходилась на стручки с числом семян от 1 до 5 шт./стручок. Поэтому при работе с такими растениями-регенерантами, если они представляют практический интерес в селекционной работе, необходимо проводить максимальное количество скрещиваний для получения потомства. Особо выделяется генотип М за счет значительной доли стручков с высокой степенью завязываемости семян по сравнению с другими (30,8%).

Заключение

В результате проведенных исследований показано, что в основном во всех генотипах содержалось от 1 до 10 семян в стручках при гейтеногамном опылении растений-регенерантов капусты брокколи, полученных в культуре *in vitro*, что свидетельствует о низкой и средней степени завязываемости и подтверждает результаты ранних исследований. Выделены генотипы А и А 1.3, с которых крайне сложно получить семена, так как у 93,3% и 95,3% стручков соответственно семена не завязывались.

Таблица. Степень завязываемости семян при гейтеногамном опылении растений-регенерантов капусты брокколи (2018 год)
Table. Broccoli regenerated plants (R0) seed set ability rate after geitonogamy (2018)

Генотип Genotype	Степень завязываемости семян при опылении бутонов, % стручков Seed set ability rate after bud pollination, pods %			
	семена отсутствуют no seeds	низкая (от 1 до 5 шт./стручок) low (1 to 5 seeds per pod)	средняя (от 6 до 10 шт./стручок) middle (6 to 10 seeds per pod)	высокая (более 10 шт./стручок) high (more than 10 seeds per pod)
М 70	49,7	23,3	20,2	6,8
М 50	35,5	21,0	34,1	9,4
М 43	38,4	19,2	29,8	12,6
М 3	33,9	39,1	17,4	9,6
М	36,2	9,2	23,8	30,8
Е 9	73,7	25,4	0,9	0
Гв	14,3	76,8	7,1	1,8
А	93,3	6,7	0	0
А1.3	95,3	4,7	0	0
Фм	35,5	38,8	21,1	4,6
Ев	39,8	57,2	2,9	0,1
DH-линия (стандарт)	9,1	45,5	22,7	22,7

Об авторах:

Заблоцкая Елена Александровна – кандидат с.-х. наук, м.н.с. лаб. селекции и семеноводства капустных культур, <https://orcid.org/0000-0003-1177-4696>
Минейкина Анна Игоревна – кандидат с.-х. наук, н.с. лаб. репродуктивной биотехнологии в селекции с.-х. растений, <https://orcid.org/0000-0001-9864-1137>
Домблидес Елена Алексеевна – кандидат с.-х. наук, зав. лаб. репродуктивной биотехнологии в селекции с.-х. растений, <https://orcid.org/0000-0002-2695-190X>
Паслова Татьяна Олеговна – мл. н. сотрудник лаб. селекции и семеноводства капустных культур, <https://orcid.org/0000-0002-9342-9628>
Бондарева Людмила Леонидовна – доктор с.-х. наук, зав. лаб. селекции и семеноводства капустных культур, <https://orcid.org/0000-0002-0912-5913>

About the authors:

Elena A. Zablotskaya – Cand. Sci. (Agriculture), Junior Researcher of Laboratory Cole Crop Breeding and Seed Production, <https://orcid.org/0000-0003-1177-4696>
Anna I. Mineyikina – Cand. Sci. (Agriculture), Researcher of Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0001-9864-1137>
Elena A. Domblides – Cand. Sci. (Agriculture), Head of Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0002-2695-190X>
Tatyana O. Paslova – Junior Researcher of Laboratory Cole Crop Breeding and Seed, <https://orcid.org/0000-0002-9342-9628>
Lyudmila L. Bondareva – Doc. Sci. (Agriculture), Head of Laboratory of Cole Crop Breeding and Seed Production, <https://orcid.org/0000-0002-0912-5913>

• Литература

- Cornelis, M.C., El-Soehy, A., Campos, H. GSTT1 genotype modifies the association between cruciferous vegetable intake and the risk of myocardial infarction. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2007;(86):752-758.
- Zhang, X., Shu, X.O., Xiang, Y.B., Yang, G., Li, H., Gao, J., Cai, H., Gao, Y.T., Zheng, W. Cruciferous vegetable consumption is associated with a reduced risk of total and cardiovascular disease mortality. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;(94):240-246.
- Кисличенко В.С., Владимиров И.Н. Капуста брокколи - *Brassica oleracea* L. var *italica* Plerck. Аналитический обзор. *Провизор*. 2007;(11):8-11.
- Williamson, G., Faulkner, K., Plumb, G.W. Glucosinolates and phenolics as antioxidants from plant foods. *Eur. J. Cancer Prev*. 1998;(7):17-21.
- Finley, J. W., Davis, C., Feng, Y. Selenium from high-selenium broccoli protects rats from colon cancer. *J. Nutr*. 2000;(130):2384-2389.
- Голубкина Н.А., Сирота С.М., Пивоваров В.Ф., Яшин Я.И. Биологически активные соединения овощей. М.: ВНИИССОК; 2010. С.133-136.
- Рабинович А.М., Борисов В.А. Целебные овощные и пряноароматические растения России. М.: Изд-во «Арнебия», 2008. 511 с.
- Прохаско Л.С., Володина А.И., Кукина С.В., Асенова Б.К., Оксханова Э.К. Продукты питания функционального назначения. *Молодой ученый*. 2015;(3):205-207.
- Бондарева Л.Л. Научное обоснование и разработка системы методов селекции и семеноводства капустных культур. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.05. Москва: 2009. 365 с.
- Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation. *J. Plant Biotech*. 2010;(8):377-424.
- Tuovesson, S., Dayteg, C., Hagberg, P., Manninen, O., Tanhuanpaa, P., Tenho la-Roininen, T., Kiviharju, E., Weyen, J., Forster, J., Schondelmaier, J., Lafferty, J., Marn, M., Fleck, A. Molecular markers and doubled haploids in European plant breeding. *J. Euphytica*. 2007;(158):305-312.
- Forster B.P., Thomas W.T.B. Doubled haploids in genetics and plant breeding. *Plant Breed. Rev*. 2005;(25): 57-88. DOI 10.1002/9780470650301.ch3
- Lionneton, E., Beuret, W., Delaitre, C., Ochatt, S., Rancillac M. Improved microspore culture and doubled-haploid plant regeneration in the brown condiment mustard (*Brassica juncea*). *Plant Cell Rep*. 2001;(20):126-130.
- Immonen S., and Antila H. Cold pretreatment to enhance green plant regeneration from rye anther culture. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 1999;57(2):121-127.
- Forster, B.P., Heberle-Bors, E., Kasha, K.J., Touraev A. The resurgence of haploids in higher plants. *Trends Plant Sci*. 2007;(12):368-375.
- Ockendon, D.J., Horn, W., Jensen, C.J., Odenbach, R.W., Scheider, O. Utilization of anther culture in Breeding Brussels sprouts. In *Genetic Manipulation in plant Plant Breeding*.: Walter & Gruyter CO; 1986. P.265-272.
- Ockendon DJ. The ploidy of plants obtained from anther culture of cauliflowers (*Brassica oleracea* var. botrytis). *Ann. Appl. Biol*. 1988;(113):319-325.
- 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. *J. Euphytica*. 1992;(60):45-55.
- Lee, S.S., Nam, E. Microspore culture of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Korean Soc. Hortic. Sci*. 1995;(36):635-640.
- Осадчая Т.С., Трубаичева Н.В., Кравцова Л.А., Белан И.А., Россева Л.П., Першина Л.А. Изучение фертильности и цитогенетической изменчивости у андрогенных растений (R₀ и R₁) аллоплазматических интрогрессивных линий мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016;20(3):370-377. DOI10.18699/VJ16.165
- Deimling S, Flehminghaus-Roux T. Haploidy in rye. In: Mohan Jain S, Sopory SK, Veilleux RE (eds) *In vitro* haploid production in higher plants: Volume 4: Cereals. Kluwer Academic Publ, Dordrecht, The Netherlands, 1997. P.181-204.
- Guo, Y., Pulli, S. Isolated microspore culture and plant regeneration in rye (*Secale cereale* L.). *Plant Cell Reports*. 2000;(19):875-880. <https://doi.org/10.1007/s002990000194>
- Lashermes, P., Couturon, E. & Charrier, A. Doubled haploids of *Coffea canephora*: development, fertility and agronomic characteristics. *Euphytica*. 1993;(74):149-157. <https://doi.org/10.1007/BF00033781>
- Stipic, M., Campion, B. An improved protocol for androgenesis in cauliflowers (*Brassica oleracea* var. botrytis). *J. Plant Breeding*. 1997;116(2):153-157.
- Chauvin, J.E., Yang, Q., LeJeune, B., Herve Y. Obtention d'embryons par culture d'anthers chez le chou-fleur et le brocoli et evaluation des potentialites du materiel obtenu pour la creation varietale. *Agronomie*. 1993;(13):579-590.
- Kamiński, P., Dyki, B., Krzyzanowska D., Gyrecka, K. Diversity of diploid androgenic Brussels sprout plants of R₀ and R₁ generations. *J. of Applied Genetics*. 2005;46(1):25-33.
- Kamiński P. Gametoclonal and somaclonal variation among head cabbage androgenic lines of R₁ and R₂ generations obtained from Jaguar F₁ hybrid. *J. of Agricultural Science*. 2011;2(2):119-128.
- Заблоцкая Е.А., Бондарева Л.Л., Шмыкова Н.А. Особенности завязывания семян у линий удвоенных гаплоидов капусты брокколи в разных поколениях. *Овощи России*. 2016;(4):56-59. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2016-4-56-59>
- Farnham M.W. Doubled-haploid broccoli production using anther culture: effect of anther source and seed set characteristics of derived lines. *J. of American Society for Horticulture Science*. 1998;(123):73-77.

• References

- Cornelis, M.C., El-Soehy, A., Campos, H. GSTT1 genotype modifies the association between cruciferous vegetable intake and the risk of myocardial infarction. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2007;(86):752-758.
- Zhang, X., Shu, X.O., Xiang, Y.B., Yang, G., Li, H., Gao, J., Cai, H., Gao, Y.T., Zheng, W. Cruciferous vegetable consumption is associated with a reduced risk of total and cardiovascular disease mortality. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;(94):240-246.
- Kislichenko, V.S., Vladimirova, I.N. Broccoli cabbage - *Brassica oleracea* L. var *italica* Plerck. Analytical review. *Provisor*. 2007;(11):8-11. (In Russ.)
- Williamson, G., Faulkner, K., Plumb, G.W. Glucosinolates and phenolics as antioxidants from plant foods. *Eur. J. Cancer Prev*. 1998;(7):17-21.
- Finley, J. W., Davis, C., Feng, Y. Selenium from high-selenium broccoli protects rats from colon cancer. *J. Nutr*. 2000;(130):2384-2389.
- Golubkina, N.A., Sirota S.M., Pivovarov V.F., Iashin I.I. Biologically active vegetable compounds. M.: VNIISOK. 2010. P.133-136. (In Russ.)
- Rabinovich, A.M., Borisov B.A. Healing vegetable and spicy aromatic plants in Russia. M., 2008. 511 p. (In Russ.)
- Prokhasko, L.S., Volodina A.I., Kukina S.V., Asenova B.K., Okuschanova E.K. Functional food. *Young scientist scholarly journal*. 2015;(3): 205-207. (In Russ.)
- Bondareva, L.L. Scientific justification and elaboration of cabbage crops breeding and seeds growing methods system: doctoral thesis: 06.01.05. M., 2009. 365 p. (In Russ.)
- Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation. *Plant Biotech*. 2010;(8):377-424.
- Tuovesson, S., Dayteg, C., Hagberg, P., Manninen, O., Tanhuanpaa, P., Tenho la-Roininen, T., Kiviharju, E., Weyen, J., Forster, J., Schondelmaier, J., Lafferty, J., Marn, M., Fleck, A. Molecular markers and doubled haploids in European plant breeding. *Euphytica*. 2007;(158):305-312.
- Forster B.P., Thomas W.T.B. Doubled haploids in genetics and plant breeding. *Plant Breed. Rev*. 2005;(25):57-88. DOI 10.1002/9780470650301.ch3
- Lionneton, E., Beuret, W., Delaitre, C., Ochatt, S., Rancillac M. Improved microspore culture and doubled-haploid plant regeneration in the brown condiment mustard (*Brassica juncea*). *Plant Cell Rep*. 2001;(20):126-130.
- Immonen S., and Antila H. Cold pretreatment to enhance green plant regeneration from rye anther culture. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 1999;57(2):121-127.
- Forster, B.P., Heberle-Bors, E., Kasha, K.J., Touraev A. The resurgence of haploids in higher plants. *Trends Plant Sci*. 2007;(12):368-375.
- Ockendon, D.J., Horn, W., Jensen, C.J., Odenbach, R.W., Scheider, O. Utilization of anther culture in Breeding Brussels sprouts. In *Genetic Manipulation in plant Plant Breeding*.: Walter & Gruyter CO; 1986. P.265-272.
- Ockendon D.J. The ploidy of plants obtained from anther culture of cauliflowers (*Brassica oleracea* var. botrytis). *Ann. Appl. Biol*. 1988;(113):319-325.
- 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):45-55.
- Lee, S.S., Nam, E. Microspore culture of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Korean Soc. Hortic. Sci*. 1995;(36):635-640.
- Osadchaya T.S., Trubacheeva N.V., Kravtsova L.A., Belan I.A., Rosseeva L.P., Pershina L.A. Study of fertility and cytogenetic variability in androgenic plants (R₀ and R₁) of alloplasmic introgression lines of common wheat. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(3):370-377. (In Russ.) DOI 10.18699/VJ16.165
- Deimling S, Flehminghaus-Roux T. Haploidy in rye. In: Mohan Jain S, Sopory SK, Veilleux RE (eds) *In vitro* haploid production in higher plants: Volume 4: Cereals. Kluwer Academic Publ, Dordrecht, The Netherlands, 1997. P.181-204.
- Guo, Y., Pulli, S. Isolated microspore culture and plant regeneration in rye (*Secale cereale* L.). *Plant Cell Reports*. 2000;(19):875-880. <https://doi.org/10.1007/s002990000194>
- Lashermes, P., Couturon, E. & Charrier, A. Doubled haploids of *Coffea canephora*: development, fertility and agronomic characteristics. *Euphytica*. 1993;(74):149-157. <https://doi.org/10.1007/BF00033781>
- Stipic, M., Campion, B. An improved protocol for androgenesis in cauliflowers (*Brassica oleracea* var. botrytis). *J. Plant Breeding*. 1997;116(2):153-157.
- Chauvin, J.E., Yang, Q., LeJeune, B., Herve Y. Obtention d'embryons par culture d'anthers chez le chou-fleur et le brocoli et evaluation des potentialites du materiel obtenu pour la creation varietale. *Agronomie*. 1993;(13):579-590.
- Kamiński, P., Dyki, B., Krzyzanowska D., Gyrecka, K. Diversity of diploid androgenic Brussels sprout plants of R₀ and R₁ generations. *J. of Applied Genetics*. 2005;46(1):25-33.
- Kamiński P. Gametoclonal and somaclonal variation among head cabbage androgenic lines of R₁ and R₂ generations obtained from Jaguar F₁ hybrid. *J. of Agricultural Science*. 2011;2(2):119-128.
- Zablotskaya E.A., Bondareva L.L., Shmykova N.A. Features of seed formation in double haploid lines of broccoli in different generations. *Vegetable crops of Russia*. 2016;(4):56-59. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2016-4-56-59>
- Farnham, M.W. Doubled-haploid broccoli production using anther culture: effect of anther source and seed set characteristics of derived lines. *J. of American Society for Horticulture Science*. 1998;(123):73-77.