

Оригинальная статья / Original article

https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-6-5-17
УДК:635.1:631.527.8

Е.А. Домбладес*, Т.В. Заячковская,
Т.С. Вюртц, Ю.В. Кулаков, О.А. Чичварина,
Я.П. Тукусер, К.С. Стебницкая,
М.Г. Фомичева, А.И. Минейкина,
А.С. Домбладес, Е.В. Козарь

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение "Федеральный научный
центр овощеводства" (ФГБНУ ФНЦО)
143072, Россия, Московская область,
Одинцовский район, п. ВНИИССОК,
ул. Селекционная, д. 14

*Автор для переписки: edomblides@mail.ru

Вклад авторов: Домбладес Е.А.: методология, верификация данных, администрирование данных, создание черновика рукописи, визуализация, руководство исследованием. Заячковская Т.В., Вюртц Т.С., Чичварина О.А., Тукусер Я.П., Стебницкая К.С., Минейкина А.И., Козарь Е.В.: формальный анализ, проведение исследования, ресурсы, визуализация. Кулаков Ю.В.: верификация данных, администрирование данных, создание рукописи и ее редактирование, визуализация. Фомичева М.Г.: формальный анализ, проведение исследования, администрирование данных, визуализация. Домбладес А.С.: верификация данных, администрирование данных, руководство исследованием.

Благодарности. Работа опубликована в рамках участия в конференции «Перспективы развития производства и переработки клубневых и корнеплодных культур (Корнеплоды и клубни – 2025)». Авторы выражают благодарность организационному комитету конференции за включение данной работы в материалы конференции.

Конфликт интересов. Домбладес А.С. является членом редакционной коллегии журнала «Овощи России» с 2023 года, но не имеет никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляют.

Для цитирования: Домбладес Е.А., Заячковская Т.В., Вюртц Т.С., Кулаков Ю.В., Чичварина О.А., Тукусер Я.П., Стебницкая К.С., Фомичева М.Г., Минейкина А.И., Домбладес А.С., Козарь Е.В. Перспективы ускорения селекции корнеплодных культур при использовании биотехнологических методов. *Овощи России*, 2025; (6): 5-17. https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-6-5-17

Поступила в редакцию: 22.10.2025

Принята к печати: 18.11.2025

Опубликована: 18.12.2025

Elena A. Dombildes*,
Tatiana V. Zayachkovskaya,
Tatiana S. Vjurts, Yuri V. Kulakov,
Olga A. Chichvarina, Yana P. Tukuser,
Ksenia S. Stebnitskaya, Maria G. Fomicheva,
Anna I. Mineykina, Arthur S. Dombildes,
Elena V. Kozar

FSBSI Federal Scientific Vegetable Center
(FSBSI FSVC)
14, Seleksionnaya str., VNIISOK,
Odintsovo region, Moscow district, 143072, Russia

*Corresponding Author: edomblides@mail.ru

Authors' Contribution: Domblides E.A.: methodology, validation, data curation, writing – original draft, visualization, supervision. Zayachkovskaya T. V., Vjurts T.S., Chichvarina O.A., Tukuser Ya.P., Stebnitskaya K.S., Mineykina A.I., Kozar E.V.: formal analysis, investigation, data resources, visualization. Kulakov Yu.V.: validation, data curation, writing – review, visualization. Fomicheva M.G.: formal analysis, investigation, data curation, visualization. Domblides A.S.: validation, data curation, visualization, supervision.

Acknowledgments. This work was published as part of the conference "Prospects for the Development of Production and Processing of Tuber and Root Crops (Root Crops and Tubers – 2025)." The authors express their gratitude to the conference organizing committee for including this work in the conference proceedings.

Conflict of interest. Domblides A.S. has been a member of the editorial board of the Journal «Vegetable crops of Russia» since 2023, but had nothing to do with the decision to publish this manuscript. The manuscript passed the journal's peer review procedure. The authors declare no other conflicts of interest.

For citation: Domblides E.A., Zayachkovskaya T.V., Vjurts T.S., Kulakov Yu.V., Chichvarina O.A., Tukuser Ya.P., Stebnitskaya K.S., Fomicheva M.G., Mineykina A.I., Domblides A.S., Kozar E.V. Biotechnological approaches for accelerated breeding of root crops. *Vegetable crops of Russia*. 2025; (6): 5-17. (In Russ.)
https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-6-5-17

Received: 22.10.2025

Accepted for publication: 18.11.2025

Published: 18.12.2025





Перспективы ускорения селекции корнеплодных культур при использовании биотехнологических методов

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Актуальность ускорения селекции корнеплодов продиктована двумя глобальными вызовами: необходимостью обеспечения продовольственной безопасности для растущего населения в условиях ограниченных ресурсов и неспособностью классических методов, отличающихся длительностью и трудоемкостью, оперативно на них реагировать. Интеграция биотехнологий в селекционный процесс позволяет кардинально ускорить достижение целей селекции.

Материал и методы. В качестве растительного материала использовали перспективные сортообразцы овощных корнеплодных культур селекции ФГБНУ ФНЦО. Отбор бутонаров проводили с донорных растений, выращенных как в поликарбонатной теплице, так и в климатической камере из корнеплодов, прошедших яровизацию. В исследовании использовали общепринятые методы культивирования клеток и тканей *in vitro* согласно разработанным в ФГБНУ ФНЦО протоколам для культуры неопыленных семяпочек, культуры изолированных микроспор *in vitro*, технологии «спасения зародышей»/«embryo rescue», клonalного микроразмножения корнеплодных культур.

Результаты. Показана эффективность получения линий удвоенных гаплоидов (DH-линий) с использованием культуры изолированных микроспор и неопыленных семяпочек *in vitro*, а также рассмотрены возможности использования в селекционном процессе технологий микроклонального размножения и «спасения зародышей». Для свеклы столовой достигнут выход до 25 эмбриоидов, а для моркови столовой до 55 эмбриоидов на 100 введенных в культуру *in vitro* неопыленных семяпочек. При использовании культуры изолированных микроспор у представителей семейства Brassicaceae для редиса максимальная эффективность технологии составила – 8 эмбриоидов на чашку Петри, для репы – 53 эмбриоида, а у представителей семейства Apiaceae для моркови – 161 эмбриоид, для пастернака – 20 эмбриоидов. С использованием технологии «спасения зародышей» получены межвидовые гибриды между капустой белокочанной (*Brassica oleracea* L.) и устойчивым к киле дайконом (*Raphanus sativus* L.), а также межвидовые гибриды от скрещивания капусты белокочанной с репой ($\varphi B. oleracea L. \times \delta B. rapa$). Для редиса, свеклы и моркови столовой оптимизирован метод клonalного микроразмножения, в том числе и для линий с мужской стерильностью. Практическим результатом проведенных исследований стало создание и регистрация новых сортов и DH-линий: моркови столовой Sonata, редиса (Жегалов, Веня, Персей), и получение патента на изобретение № 2807444 «Способ изоляции микроспор для получения удвоенных гаплоидов семейства Brassicaceae в культуре микроспор *in vitro*».

Заключение. В работе представлены результаты применения современных биотехнологических методов *in vitro* для ускорения селекционного процесса овощных корнеплодных культур семейства Amaranthaceae Juss. (свекла столовая), Apiaceae Lindl. (морковь столовая, пастернак), Brassicaceae Burn. (редис, дайкон, репа). Сроки создания сортов и гибридов корнеплодных культур могут быть существенно сокращены за счет внедрения биотехнологических методов в селекционный процесс при тесном содружестве биотехнологов и селекционеров.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

ускорение селекции, корнеплодные культуры, биотехнологические методы, культура *in vitro*, удвоенные гаплоиды (DH-линии), клonalное микроразмножение, «спасение» зародышей, культура изолированных микроспор, культура неопыленных семяпочек, межвидовые гибриды

Biotechnological approaches for accelerated breeding of root crops

ABSTRACT

Relevance. The relevance of accelerating root crop breeding is dictated by two global challenges: the need to ensure food security for a growing population in conditions of limited resources and the inability of classical methods, characterized by their duration and complexity, to respond promptly to them. The integration of biotechnologies into the breeding process makes it possible to dramatically accelerate the achievement of breeding goals.

Materials and Methods. Prospective cultivars of vegetable root crops selected by the Federal Scientific Vegetable Center were used as plant material. Buds were selected from donor plants grown both in a polycarbonate greenhouse and in a climate chamber from vernalized root crops. The research used generally accepted methods of *in vitro* cell and tissue cultivation according to protocols developed at the Federal Scientific Vegetable Center for the culture of unpollinated ovules, culture of isolated microspores *in vitro*, embryo rescue technology, and clonal micropropagation of root crops.

Results. The efficiency of obtaining lines of doubled haploids (DH-lines) using cultures of isolated microspores and pollinated ovules *in vitro* is shown, and the possibilities of using microclonal reproduction and "embryo rescue" technologies in the breeding process are considered. For beetroot, the yield of up to 25 embryos has been achieved, and for carrot, up to 55 embryos per 100 *in vitro* unpollinated ovules introduced into culture. By the use of a culture of isolated microspores from representatives of Brassicaceae family for radishes, the maximum efficiency of the technology was 8 embryos per Petri dish, 53 embryos for turnips, 161 embryos for carrots, and 20 embryos for parsnips. Interspecific hybrids between white cabbage (*Brassica oleracea* L.) and keel-resistant daikon (*Raphanus sativus* L.), as well as interspecific hybrids from crossing white cabbage with turnips ($\varphi B. oleracea L. \times \delta B. rapa$), were obtained using the "embryo rescue" technology. The method of clonal micropropagation has been optimized for radishes, beets and carrots, including for lines with male sterility. The practical result of the research was the creation and registration of new varieties and DH-lines: Sonata table carrots, radishes (Zhegalov, Venya, Persey), and obtaining a patent for invention No. 2807444 "Microspore isolation method for obtaining doubled haploids of the Brassicaceae family in microspore culture *in vitro*".

Conclusion. The paper presents the results of the application of modern biotechnological methods *in vitro* to accelerate the breeding process of vegetable root crops of the Amaranthaceae Juss family (red beet), Apiaceae Lindl. (carrots, parsnips), Brassicaceae Burn. (radish, daikon, turnip). The time frame for the creation of varieties and hybrids of root crops can be significantly reduced by introducing biotechnological methods into the breeding process with the close cooperation of biotechnologists and breeders.

KEYWORDS:

acceleration of breeding, root crops, biotechnological methods, *in vitro* culture, doubled haploids (DH-lines), clonal micropropagation, "rescue" of embryos, culture of isolated microspores, culture of unpollinated ovules, interspecific hybrids

Введение

Обеспечение продовольственной безопасности Российской Федерации является стратегической государственной задачей, решение которой напрямую связано с развитием отечественной селекции и семеноводства овощных культур. Особое значение в этом процессе при надлежит корнеплодным овощным культурам, относящимся к различным ботаническим семействам: Amaranthaceae Juss. (свёкла столовая), Apiaceae Lindl. (морковь столовая, пастернак), Brassicaceae Burn. (редис, дайкон, репа). Широкая распространённость этих культур в России и за рубежом обусловлена их высокой пищевой ценностью и уникальным биохимическим составом. Морковь служит важнейшим источником каротина (провитамина А) и жизненно необходимых минеральных элементов (калий, кальций, железо, фосфор и др.) [1]; свекла столовая является ценным источником бетаина и бетанина – физиологически важных веществ для метаболизма человека; пастернак среди овощных корнеплодов отличается наибольшим содержанием сухого вещества (17-33%); а масло его семян является источником эссенциальных моно- (МНЖК) и полиненасыщенных (ПНЖК) жирных кислот омега-9 и омега-6; репа – отличается высоким содержанием аскорбиновой кислоты. Редис и дайкон являются ценным источником важнейших минеральных элементов – калия, натрия, кальция, железа, фосфора, магния, серы и др. [2]. Все корнеплодные культуры, обеспечивая организм человека необходимыми витаминами, минералами и биологически активными соединениями, обладают лечебными свойствами и сохраняют свою доступность вне зависимости от сезона, что обуславливает необходимость их постоянного выращивания.

В современном овощеводстве сорт выступает центральным элементом технологии, непосредственно влияя на рентабельность производства. Однако аграрии все чаще ориентируются на гибриды F_1 , ценя их за стабильность, высокую урожайность и приспособленность к интенсивным технологиям. Существующее предложение на отечественном семенном рынке, в части сортимента корнеплодных культур, формирует разрыв с запросами практиков: несмотря на формальное разнообразие в Госреестре, многие сорта и гибриды не обладают комплексом хозяйствственно-ценных признаков, необходимых для конкурентоспособного производства. Эффективность селекции и семеноводства корнеплодных овощных культур в значительной степени лимитирована их биологическими особенностями. Будучи преимущественно перекрестноопыляемыми растениями с двухлетним циклом развития, они требуют продолжительного периода яровизации (до трёх месяцев) при пониженных температурах (около $+4^{\circ}\text{C}$), что существенно удлиняет селекционный процесс. Современная селекция овощных корнеплодных культур требует системного применения биотехнологических методов. Культура клеток и тканей *in vitro*, первоначально использовавшаяся преимущественно для решения фундаментальных задач генетики, физиологии и молекулярной биологии растений, в настоящее время стала мощным инструментом прикладных сельскохозяйственных исследований. Интеграция биотехнологий в селекционный процесс позволяет кардинально ускорить достижение целей селекции.

Среди наиболее продуктивных направлений можно выделить следующие:

1. Ускоренное создание исходного материала с использованием методов андро- и гиногенеза для получения гомозиготных линий, что является ключевым эта-

пом в схеме гетерозисной селекции. Удвоенные гаплоиды (от англ. Doubled Haploids) характеризуются 100% гомозиготностью, отсутствием эффекта доминирования, обнаружением редких рецессивных аллелей, расширением спектра формообразовательного процесса за счет рекомбинантной изменчивости – все это способствует созданию уникальных форм и повышает эффективность практической селекции. Кроме того, на создание DH-линии затрачивается 1-2 года, в то время как с использованием классических методов селекции для получения выровненных линий перекрестноопыляемых корнеплодных культур, которые, преимущественно, являются двулетними, необходимо потратить 8-12 лет;

2. Клональное микроразмножение. Помогает обеспечить быстрое тиражирование и сохранение ценных генотипов, включая стерильные и самонесовместимые линии, а также производство оздоровленного безвирусного посадочного материала;

3. Технология «спасение» зародышей (embryo rescue). Позволяет устранить постгамную несовместимость при межвидовой и межродовой гибридизации, что позволяет расширить генетическое разнообразие и передать ценные гены (устойчивость к болезням, стрессам, улучшение качества) от одного вида к другому.

Целью настоящего исследования является обобщение и представление результатов, демонстрирующих эффективность применения биотехнологических подходов для ускорения селекции различных корнеплодных овощных культур (морковь столовая, свекла, пастернак, редис, дайкон, репа).

Материалы и методы исследований

В качестве растительного материала использовали перспективные сортообразцы овощных корнеплодных культур лаборатории селекции и семеноводства столовых корнеплодов и лаборатории генетики и цитологии ФГБНУ ФНЦО. Корнеплоды донорных растений после пяти месяцев яровизации при $4\ldots6^{\circ}\text{C}$ в темноте, высаживали в пластиковые горшки диаметром 22 см, наполненные смесью торфа и перлита (7:3, v/v). Донорные растения выращивали в вегетационной камере с освещенностью $65 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ при использовании ламп Horturion HPS, 600 W 220 V E40 (Osram, Slovenia) для выращивания при постоянном температурном режиме 25°C и фотопериоде 16 ч/8 ч (день/ночь).

Для введения в культуру *in vitro* растительных эксплантов использовали ступенчатую поверхностную стерилизацию с использованием 70% спирта (30 секунд), 2,5% гипохлорита натрия с 1 каплей Tween 20 на 100 мл дезинфицирующего раствора (15 минут), троекратную промывку стерильной дистиллированной водой (по 10 минут в каждом растворе). Культивирование эксплантов проводили на стеллажах со смешанным освещением люминесцентными лампами двух типов: OSRAM Fluora L36W/77 (с преобладанием синего и красного спектра) и Philips 36W/54-765 (с преобладанием белого спектра), при общей освещенности $24 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, фотопериоде 16 ч / 8 ч (день/ночь) при температуре 24°C круглосуточно.

Культура неопыленных семяпочек моркови столовой. Оптимальную стадию развития женского гаметофита для индукции гиногенеза определяли по размеру завязи [3]. Для культивирования бутонов моркови (первая индукционная питательная среда) использовали среду MSm [4] с добавлением 20 г/л сахарозы, 7 г/л агара и тремя вариантами содержания регуляторов роста: 0,2 мг/л 2,4-Д, 0,2 мг/л

кинетина и их совместное применение. Через две недели из разросшихся бутонов изолировали семяпочки и помещали на свежие питательные среды (вторая индукционная питательная среда) на основе MSm с аналогичным сочетанием регуляторов роста. Образовавшийся каллус/эмбриоиды переносили в пробирки с жидкой средой MSm с 24 г/л сахарозы и 0,1 мг/л кинетина.

Культура неопыленных семяпочек свеклы столовой. Для индукции гиногенеза использовали питательную среду IMB (Induction Medium for *Beta vulgaris*) – разработанную в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ФНЦО, содержащую 55 г/л сахарозы, 3 г/л фитогеля, 200 мг/л ампциллина и 0,4 мг/л тидаизурина (TDZ) [5]. Семяпочки, индуцирующие эмбриоиды и каллусные структуры, переносили на твердую питательную среду MS [6] с 1 мг/л БАП и 0,1 мг/л ГК. Все полученные микропобеги свеклы независимо от исходного экспланта переносили на безгормональную среду MS с 2% сахарозой, 3 г/л фитогеля для формирования хорошо развитых розеток. Для укоренения побегов свеклы столовой использовали их погружение на 10-15 секунд в раствор индолилмасляной кислоты (ИМК) с концентрацией 50 мг/л с последующим их культивированием на твердой среде 1/2 IMB с 2% сахарозой и 3 г/л фитогеля.

Культура изолированных микроспор моркови столовой и пастернака посевного. Для культивирования микроспор моркови столовой и пастернака использовали среды NLN [7] и MSm с концентрацией сахарозы 13% и с содержанием регуляторов роста: 1 мг/л НУК и 1 мг/л 2,4-Д. Через 40 дней образовавшиеся эмбриоиды переносили в пробирки с мостики из фильтровальной бумаги и жидкой средой MSm с 2% сахарозой и 0,1 мг/л кинетина.

Вторичный эмбриогенез моркови столовой. Для изучения процесса вторичного эмбриогенеза выбирали получившиеся в культуре микроспор эмбриоиды длиной 2-3 мм, имеющие возможность для производства вторичных эмбриоидов при продолжении культивирования. Использовали специальные плашки 6-well Culture Plate (Corning, USA) с добавлением 2 мл жидкой питательной среды MSm и 12-well Culture Plate (Corning, USA) с добавлением 1 мл жидкой питательной среды MSm со следующими вариантами добавления регуляторов роста: MSm с 2%-ной сахарозой и 0,2 мг/л кинетина; MSm с 13%-ной сахарозой и 0,2 мг/л кинетина; MSm с 13%-ной сахарозой и 1 мг/л 2,4-Д и 1 мг/л НУК; MSm с 13%-ной сахарозой без добавления регуляторов роста. В каждую ячейку помещали по одному эмбриоиду двух генотипов, полученных в культуре изолированных микроспор из сорта Алтайская лакомка и культивировали в течении 30 дней на платформе-шайкер PSU-10i (Biosan) при скорости качаний 40 оборотов/мин на свету при освещенности 48 мкмоль*м⁻²*с⁻¹, фотопериоде 16 часов день/8 часов ночь и температуре 22°C. Подсчет образовавшихся вторичных эмбриоидов проводили на 30 день культивирования.

Культура изолированных микроспор корнеплодных культур семейства Brassicaceae Burn. Изолирование микроспор, их культивирование в чашках Петри и регенерацию растений из эмбриоидов проводили согласно разработанным нами протоколам для редиса [8] и репы [9,10]. Для трудноотделяемых генотипов использовали модифицированный протокол изоляции микроспор, разработанный для культур семейства Brassicaceae [11].

Клональное микроразмножение свеклы столовой. Простерилизованные семена помещали на безгормональ-

ную питательную среду MS с 3 г/л фитогеля для получения асептических проростков в течение 7-10 суток культивирования. Разные типы исходных эксплантов свеклы (фрагменты гипокотиля, верхушки соцветий, нераскрытие и раскрытие бутоны) в культуре соматических клеток и тканей культивировали на питательных средах MS (с 20 г/л сахарозы, 3 г/л фитогеля с 1 мг/л БАП; 0,1 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК. Регенерацию и укоренение хорошо развитых побегов проводили на безгормональной питательной среде MS с 2% сахарозой, 3 г/л фитогеля.

Клональное микроразмножение редиса европейского. Простерилизованные семена помещали по 1-2 штуки на мостики из фильтровальной бумаги в пробирки с 4-6 мл безгормональной питательной среды MS с 30 г/л сахарозы. Использовали по 100 семян каждого образца. Первые сутки семена инкубировали в термостате в темноте при температуре 28°C, а затем проращивали при температуре 24°C и фотопериоде 16 ч / 8 ч (день/ночь). Фрагменты гипокотиля длиной 4-5 мм 4 суточных стерильных проростков заглубляли точкой роста вверх и точкой роста вниз в баночки с питательной средой MS с 30 г/л сахарозы, 7 г/л агара, регуляторами роста НУК и БАП в концентрациях 0,2 мг/л. Для индукции морфогенеза применяли погружение исходных эксплантов в 0,01% раствор нитрата серебра на 30-40 минут. Культивирование эксплантов проводили в тех же условиях, что и проращивание семян.

Технология «спасения зародышей» от межвидовой и межродовой гибридизации у капусты белокочанной и дайкона. Стручки на 9, 15 и 18 день после опыления (ДПО) после поверхностной ступенчатой стерилизации разрезались продольно и из них выделялись семяпочки. Семяпочки надрезали скальпелем или разрезали пополам после чего помещали в жидкую среду MS с 80 г/л сахарозы и дополненную 400 мг/л гидролизата казеина. Работа проводилась в стерильных условиях в ламинарном боксе с использованием стереомикроскопа Stemi 305 оснащенного Axioscam 305 color (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany) при увеличении 10x. Чашки Петри с семяпочками культивировали при постоянном покачивании 60 об/мин на шейкере при температуре 24°C и естественном комнатном освещении. Доросшие до семядольной стадии зародыши, образовавшиеся в двух вариантах культивирования, переносились на твердую среду MS с сахарозой 10 г/л и 8 г/л агара. Зародыши выращивали на стеллажах при температуре 24°C и 16 ч. фотопериоде.

Результаты исследований и их обсуждение

Семейство Apiaceae (морковь столовая, пастернак). Метод удвоенных гаплоидов является высокоеффективным инструментом ускорения селекционного процесса сельскохозяйственных культур, в том числе относящихся к корнеплодной группе. Первые успехи в получении DH-растений были достигнуты в лаборатории биотехнологии ВНИИССОК (с 2017 года ФГБНУ ФНЦО) для моркови столовой. Используя метод культивирования пыльников и неопыленных семяпочек, были разработаны не только эффективные протоколы с высоким выходом эмбриоидов, но и на основе полученных за счет этих технологий DH-линий из сорта Нантская 4, еще в 2000 году был создан сорт моркови столовой «Соната» (при совместном участии с селекционерами на Западно-Сибирской овощной опытной станции – Авторское свидетельство №34702), что подтверждает высокую практическую значимость данных биотехнологий.

Образование удвоенных гаплоидов за счет индукции гиногенеза в культуре неопыленных семяпочек *in vitro* является единственным возможным способом получения DH-растений от образцов с мужской стерильностью и альтернативой метода культуры пыльников/микроспор в тех случаях, когда у определенного генотипа андрогенез не имеет успеха или малоэффективен. В связи с очень малыми размерами бутонов у моркови (от 0,8 до 1,71 мм в длину в зависимости от генотипа и расположения на соцветии) изолирование

семяпочек размером 0,17-0,53 мм из бутона представляет собой очень трудоемкую операцию. На процесс индукции гиногенеза будет оказывать влияние достаточно большое количество факторов, основными из которых будет генотип и условия выращивания донорного растения, фаза развития бутона, состав индукционной питательной среды и условия культивирования [1,4]. На 8 генотипах, относящихся к разным сортотипам моркови столовой (Berlicum, Нантская, Флакке, Шантане) нами было изучено влияние регуляторов

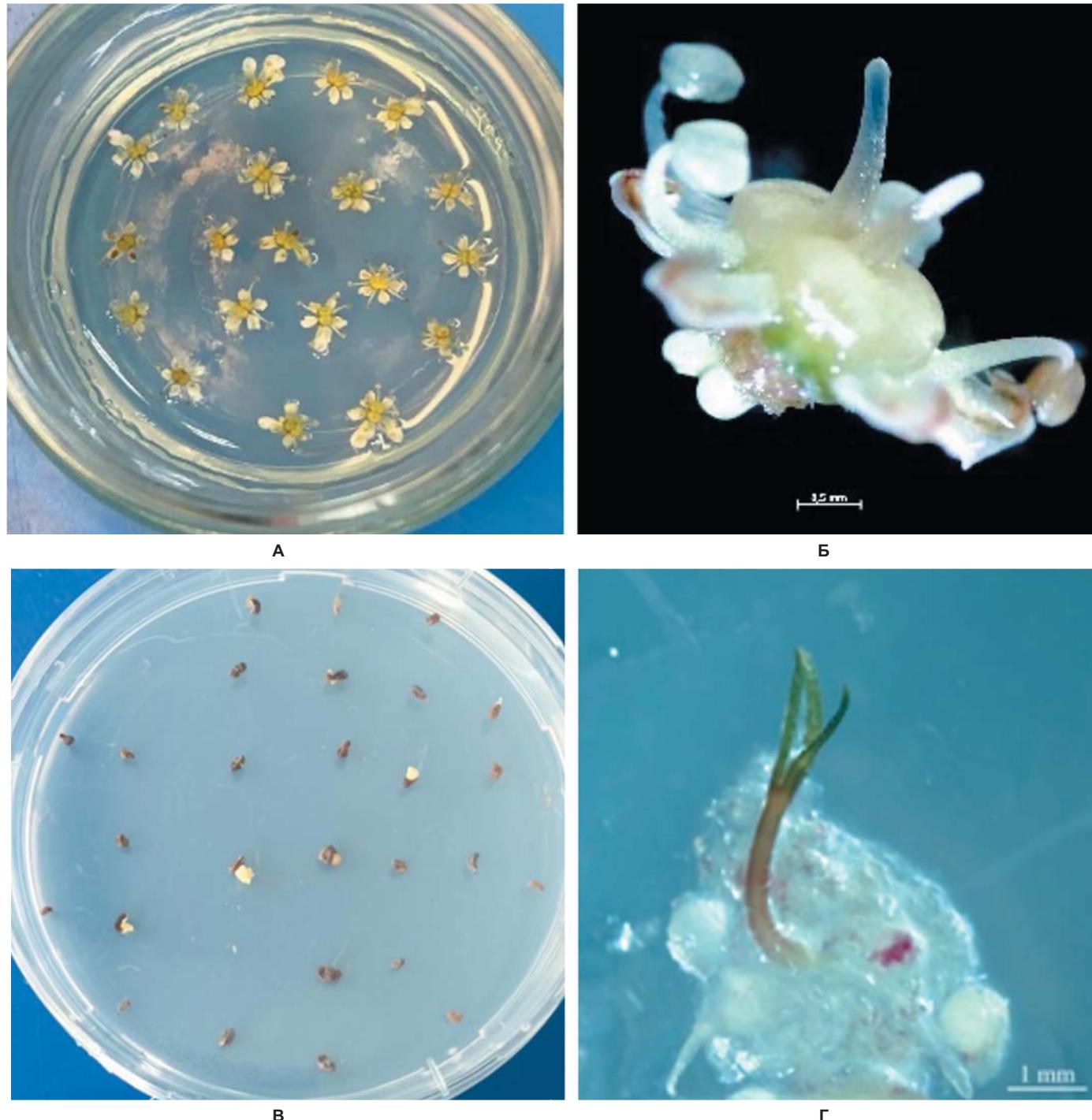


Рис. 1. Индукция гиногенетического развития в культуре *in vitro* у фертильного образца моркови столовой: бутоны моркови столовой на индукционной питательной среде MSm с 0,2 мг/л 2,4-Д и 0,2 мг/л кинетина через 2 недели культивирования (А); бутон с прорвавшимися через оболочку завязи семяпочками через 3 недели культивирования на среде MSm с 0,2 мг/л 2,4-Д и 0,2 мг/л кинетина (Б); чашка Петри с побуревшими изолированными семяпочками на 6 недели культивирования, у трех семяпочек наблюдается образование белого каллуса (В); образование эмбриоидов из каллуса (Г).
Fig. 1. Induction of gynogenetic development in *in vitro* culture in a fertile accession of carrot (*Daucus carota L.*): carrot buds on the induction MSm nutrient medium supplemented with 0.2 mg/L 2,4-D and 0.2 mg/L kinetin after 2 weeks of cultivation (A); a bud with ovules that have ruptured through the ovary wall after 3 weeks of cultivation on MSm medium with 0.2 mg/L 2,4-D and 0.2 mg/L kinetin (B); a Petri dish with browned isolated ovules at 6 weeks of cultivation, with three ovules showing formation of white callus (B); embryooid formation from the callus (Г).

роста (2,4-D и кинетина) и их сочетание в составе индукционной питательной среды, как для культивирования бутонов, так и для культивирования изолированных из бутонов неопыленных семяпочек. Совместное применение регуляторов роста 2,4-D (0,2 мг/л) и кинетина (0,2 мг/л) в составе обоих индукционных питательных сред (для культивирования бутонов и для культивирования изолированных завязей) позволило повысить выход гиногенных эмбриогенных структур у всех исследуемых образцов. Для отдельных генотипов образование гиногенных эмбриогенных структур было в 5,4 раза больше на средах с двумя регуляторами роста по сравнению с контрольной питательной средой, содержащей только 0,2 мг/л 2,4-D. Генотип оказался главным фактором, влияющим на образование эмбриогенных структур (каллуса и эмбриоидов), доля влияния фактора составила 72%. Максимально удалось добиться индукции гиногенного развития у 55,4% введенных в культуру семяпочек для образца НИИОХ 336, относящегося к сортотипу Берликум-Нантская, которая составила 54,9 % (в виде индукции каллусообразования) и 0,5% (в виде прямого эмбриогенеза) [12].

Одним из ограничивающих факторов для использования методик получения удвоенных в культуре неопыленных семяпочек и культуре пыльников является присутствие в

культуре *in vitro* помимо гаплоидных клеток еще и соматических тканей, из которых также может образовываться каллус или эмбриоиды. В связи с этим полученные растения-регенеранты необходимо тестировать на гомозиготность с целью подтверждения гаметофитного происхождения с использованием молекулярных маркеров. Культура изолированных микроспор лишена этого недостатка и является менее трудоемким и наиболее эффективным способом получения удвоенных гаплоидов. Первые успешные исследования в культуре микроспор моркови были проведены Matsubara с коллегами в 1995 году [13], однако DH-растения были получены только в конце первого десятилетия 21 века [14,15].

Нами было проведено постадийное изучение процесса эмбриогенеза и показаны возможные пути развития индуцированных микроспор и эмбриоидов [16,17]. Было изучено влияние холодового стресса (предобработка бутонов при 5°C перед введением в культуру) и последующей высокотемпературной обработки (32°C после введения в культуру) и показано преимущество их совместного воздействия на индукцию эмбриогенеза. Впервые было определено влияние β-лактамных антибиотиков (ампициллина, цефотаксима, пенициллина) на индукцию эмбриогенеза в культуре

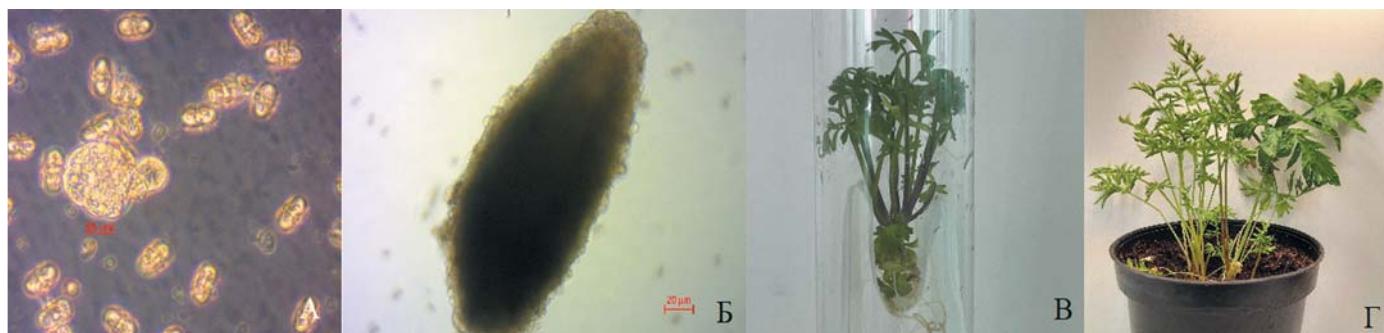


Рис. 2. Этапы технологии получения растений моркови столовой в культуре микроспор: многоклеточные эмбриоидные структуры (А); эмбриоид на торпедоидной стадии развития (Б); регенерация растений R0 из эмбриоидов (В); адаптация растений регенерантов к условиям *ex vitro* (Г)

Fig. 2. Stages of the technology for producing carrot (*Daucus carota L.*) plants via microspore culture: multicellular embryooid structures (A); an embryooid at the torpedo stage of development (B); regeneration of R0 plants from embryooids (C); acclimation of regenerant plants to *ex vitro* conditions (D)



Рис. 3. Удвоенные гаплоиды моркови столовой из селекционного образца №10 (из коллекции лаборатории генетики и цитологии ФГБНУ ФНЦО), полученные в культуре изолированных микроспор: растения-регенеранты перед закладкой на яровизацию (А); внешний вид семенного потомства от самоопыления DH-растения (Б)

Fig. 3. Doubled haploid (DH) carrot (*Daucus carota L.*) plants from breeding accession No. 10 (from the collection of the Laboratory of Genetics and Cytology, Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Vegetable Center (FSBSI FSVC), produced via isolated microspore culture: Regenerant plants before vernalization (A); The phenotype of the seed progeny from self-pollination of a DH plant (B)

ре изолированных микроспор *in vitro* у моркови столовой в концентрациях 0, 50, 100, 200 и 1000 мг/л и показано, что наиболее эффективным в культуре микроспор оказалось использование ампициллина в концентрации 100 мг/л. Применение цефотаксима в культуре микроспор моркови возможно при меньших концентрациях. Использование пенициллина оказалось неэффективным. Добавление в питательную среду для культивирования 1% суспензии активированного угля в 0,5% агарозе, также способствовало увеличению образования количества эмбриоидов в 1,5 и 1,8 раз у каждого из двух сортообразцов [18] (Romanova et al., 2023). Было изучено влияние антимитотических (колхицина, трифлуралина) агентов на процесс удвоения хромосомного набора и показано, что максимальный процент диплоидных растений наблюдался при обработке гаплоидных эмбриоидов колхицином 1 г/л (34%) и трифлуралином 0,1 г/л (28%) [19] (Fomicheva M., Kozar E., Domblides E., 2025). После оптимизации этапов технологии были получены DH-растения из генотипов, относящихся к различным сортотипам моркови (Берликум, Амстердамская, Император, Нантская, Валерия, Шантане). Несмотря на то, что для отдельных генотипов эффективность разработанного нами протокола достигла до 167 первичных эмбриоидов моркови столовой на одну чашку Петри диаметром 6 см, данная технология нуждается еще в существенной доработке, так как выход эмбриоидов остается нестабильным и существенно зависит от генотипа. Необходимо дальше проводить изучение факторов, способных повлиять на индукцию эмбриогенеза, регенерацию растений и удвоение хромосомного набора.

При цитологическом изучении процесса эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор, нами была выявлена характерная особенность для эмбриоидов моркови - высокая способность к вторичному эмбриогенезу, которую необходимо учитывать при оценке эффективности технологии по количеству полученных генотипов/первичных эмбриоидов в одной чашке Петри. Образовавшиеся эмбриоиды начиная с глобулярной стадии развития, способны формировать на своей поверхности вторичные эмбриоиды. В дальнейшем они могли легко отделяться и развиваться уже независимо. Использование платформы-шайкер значительно ускоряло процесс вторичного эмбриогенеза. В связи с этим, для корректности оценки, первичные эмбриоиды необходимо пересаживать в индивидуальные чашки Петри, как только они станут видны невооруженным глазом. Однако способность к вторичному эмбриогенезу можно использовать в селекции также и с целью тиражирования индивидуальных генотипов и для протоколов по микропланильному размножению [20]. Проведенное исследование по изучению влияния генотипа и морфологии индивидуального эмбриоида, концентрации сахарозы (2% и 13%) и регуляторов роста (кинетин, 2,4-Д, НУК) в составе питательной среды MSm на процесс вторичного эмбриогенеза показало, что вне зависимости от генотипа, наиболее интенсивное образование вторичных эмбриоидов происходит на питательных средах с 2% сахарозой и кинетином (табл. 1, рис. 4). При этом вторичный эмбриогенез активно происходит уже спустя 14 суток после пересадки первичного эмбриоида на регенерационную питательную среду на основе MSm.

Таблица 1. Сравнение количества эмбриоидов моркови столовой, полученных от генотипов №7 и №12 из сортообразца «Алтайская лакомка» на четырех вариантах питательных сред спустя 30 дней культивирования
Table 1. Comparison of carrot embryoid yield from genotypes No. 7 and No. 12 of the breeding line «Altayskaya Lakomka» on four different nutrient media variants after 30 days of cultivation.

Питательные среды	Выход эмбриоидов с двух генотипов	
	№7	№12
MSm+0,2 мг/л кин. +2 % сахарозы	27,67±4,41	61,77±2,33
MSm+0,2 мг/л кин. +13 % сахарозы	7,33±0,88	18,33±1,2
MSm 6/г+13 % сахарозы	5,67±2,67	3,33±1,33
MSm+1 мг/л НУК+1 мг/л 2,4-Д +13 % сахарозы	4±1,73	8±0,58

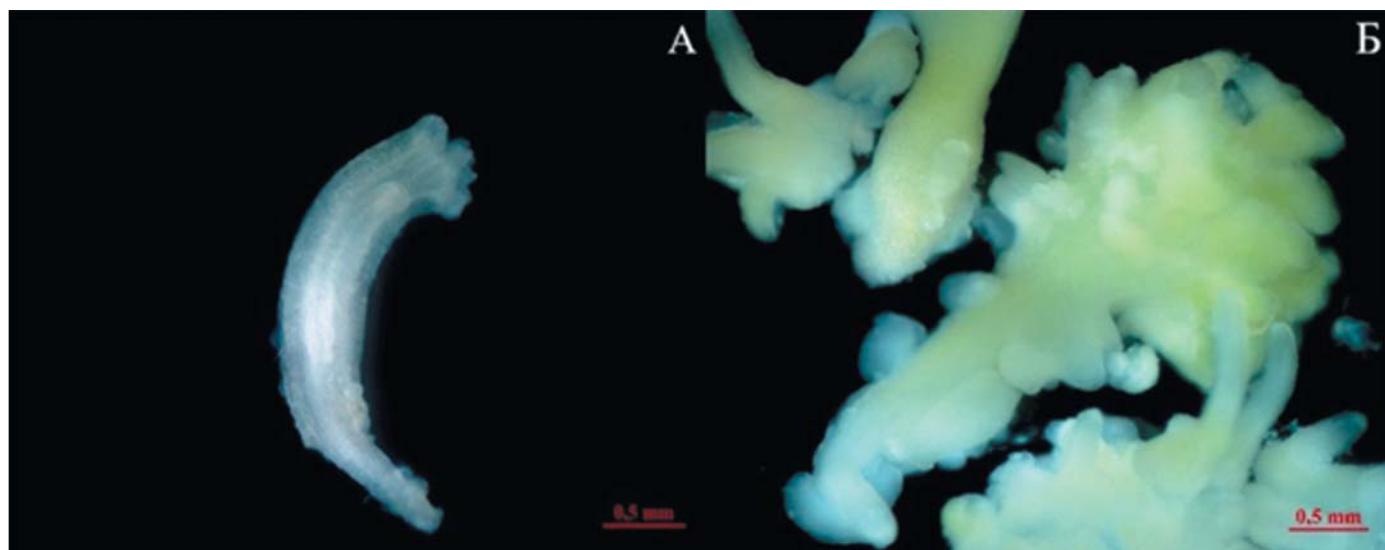


Рис. 4. Эмбриоиды моркови, размноженные на питательной среде MSm с 2% сахарозой с добавлением 0,2 мг/л кинетина: первичный эмбриоид (А); вторичные эмбриоиды, полученные от первичного спустя 14 суток культивирования (Б)
Fig. 4. Embryoids proliferated on MSm nutrient medium with 2% sucrose supplemented with 0.2 mg/L kinetin: primary embryoid (A); secondary embryoids derived from the primary embryoid after 14 days of cultivation (B)

Технология получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор была опробована нами и на других представителях семейства Apiaceae. Наилучшие результаты были получены для такой популярной и востребованной корнеплодной культуре, как пастернак (*Pastinaca sativa* L.). Было отмечено, что развитие микроспор пастернака посевного происходит аналогично развитию микроспор моркови столовой. Для успешной индукции эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *in vitro* необходимо отбирать плотно закрытые бутоны из крайнего ряда зонтиков центрального соцветия, имеющего слабо вогнутую, либо почти плоскую форму и содержащих преимущественно микроспоры на поздней вакуолизированной стадии развития. Размер микроспор пастернака на этой стадии развития составляет 22-29 мкм в длину (в зависимости от генотипа, положения соцветия и условий выращивания донорного растения), в то время как у моркови столовой микроспоры на аналогичной стадии достигали 18-22 мкм. Для индукции эмбриогенеза можно культивировать микроспоры как на модифицированных питательных средах NLN, так и на MSm с 13% сахарозой. Процесс регенерации растений из эмбриоидов пастернака посевного на регенерационной питательной среде, разработанной для моркови (MSm с 2% сахарозой и 0,1 мг/л кинетина) протекает на 2-3 недели дольше по сравнению с морковью. Необходимо учитывать, что в отличие от моркови столовой, развивающийся проросток необходимо переносить на свежую питательную среду каждые 14 дней, иначе достаточно быстро происходит побурение и гибель эксплантов. Максимальная эффективность эмбриогенеза у пастернака наблюдалась на индукционной среде MSm-13, составив 20 эмбриоидов на чашку Петри (диаметр 6 см). Однако лишь 40% эмбриоидов успешно регенерировали и развились до растений (рис. 5), готовых к адаптации к условиям *ex vitro*. Среди исследованных растений-регенерантов были обнаружены как гаплоидные, так и диплоидные формы. Присутствие диплоидных растений подтверждает вероятность спонтанной диплоидизации у этого вида, индуцированной длительным культивированием *in vitro*.

Семейство Amaranthaceae (свёкла столовая). В настоящее время единственным способом получения удвоенных гаплоидов (DH) у свеклы столовой является индукция гиногенеза в культуре неопыленных семяпочек *in vitro*, поскольку сообщения об использовании метода андрогенеза в мире отсутствуют. В лаборатории биотехнологии ФГБНУ ФНЦО исследования по разработке протокола создания удвоенных гаплоидов свеклы столовой в культуре гиногенеза начаты с 2010 года. На первоначальном этапе по результатам экспериментальных исследований определены стадии развития женского гаметофита (семяпочек) как фертильных линий-опылителей,

выделенных из сортопопуляций разных сортотипов, так и гибридных популяций свеклы столовой из коллекции лаборатории селекции и семеноводства столовых корнеплодов. Для успешной индукции гиногенеза у свеклы использовали семяпочки, содержащие зрелый зародышевый мешок, что соответствовало бутонам, расположенным на участке колосовидного цветоноса донорных растений сразу за недавно раскрытым бутоном. Выявлено, что для успешной индукции гиногенеза у свеклы оптимально использовать семяпочки со зрелым зародышевым мешком, отобранные из бутонов, расположенных на колосовидном цветоносе растений сразу за раскрывшимся бутоном. Разработанная в ходе проведенных экспериментов питательная среда IMB с 0,4 мг/л тидаизуриона (TDZ) и культивирование в условиях 28°C, в темноте в течение 4 недель позволило добиться эффективности индукции гиногенеза у наиболее отзывчивого генотипа Нежность до 25 штук на 100 культивируемых [21]. В эксперименте удалось индуцировать образование каллуса у шести из 11 включенных в исследование образцов свеклы столовой. В зависимости от генотипа среднее количество семяпочек, индуцирующих гиногенез, варьировало от $1,2 \pm 0,37$ до $7,4 \pm 0,23$ штук на одну чашку Петри. У трех генотипов максимально получено от шести до девяти индуцированных семяпочек с одной чашки Петри. В экспериментах с добавлением нитрата серебра для всех генотипов наблюдалось незначительное увеличение количества индуцированных семяпочек на 1-2 шт. в одной чашке Петри. Отмечено, что в присутствии нитрата серебра семяпочки более длительное время не изменяли свою окраску до темно-коричневой и оставались белыми или бледно-розовыми [21]. У пяти изученных генотипов индукционная активность семяпочек вообще не выявлена. Эффективность индукции гиногенеза свеклы сахарной с использованием такого же состава индукционной питательной среды составила максимально у наиболее отзывчивого генотипа № 37130 – 27,3%, а в жидкой питательной среде того же состава – до 8%. Увеличение в индукционной питательной среде концентрации тидаизуриона до 0,8 мг/л приводило к ингибированию гиногенеза, либо снижению индукции в 1,5-1,9 раза в зависимости от генотипа. В экспериментах со свеклой сахарной установлено, что наибольшая эффективность индукции гиногенеза достигнута при концентрации сахара 5%; снижение концентрации до 20 г/л, либо увеличение до 80 г/л не было эффективно. Отличительной особенностью процесса гиногенеза свеклы столовой на твердой питательной среде стало преимущественное развитие по пути каллусогенеза, тогда как у свеклы сахарной – через прямой эмбриогенез, часто с одновременным образованием эмбриоидных и каллусных структур, а в редких случаях сросшихся эмбриоидов в результате полиэмбрионии [5].

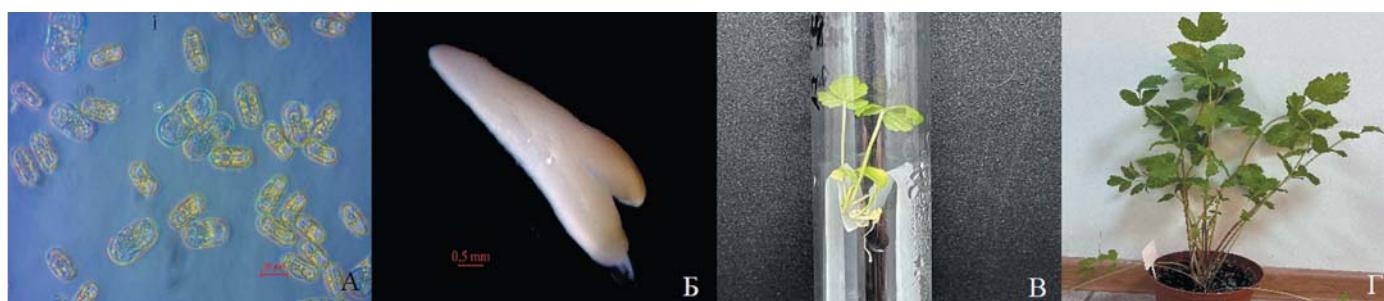


Рис. 5. Этапы технологии получения растений пастернака в культуре микроспор:
многоклеточные эмбриоидные структуры (А); эмбриоид на семядольной стадии развития (Б);
регенерация растений R0 из эмбриоидов (В); адаптация растений регенерантов к условиям *ex vitro* (Г)
Fig. 5. Stages of the technology for producing parsnip (*Pastinaca sativa* L.) plants via microspore culture:
multicellular embryooid structures (A); an embryooid at the cotyledonary stage of development (B);
regeneration of R0 plants from embryooids (B); acclimation of regenerant plants to *ex vitro* conditions (Г)

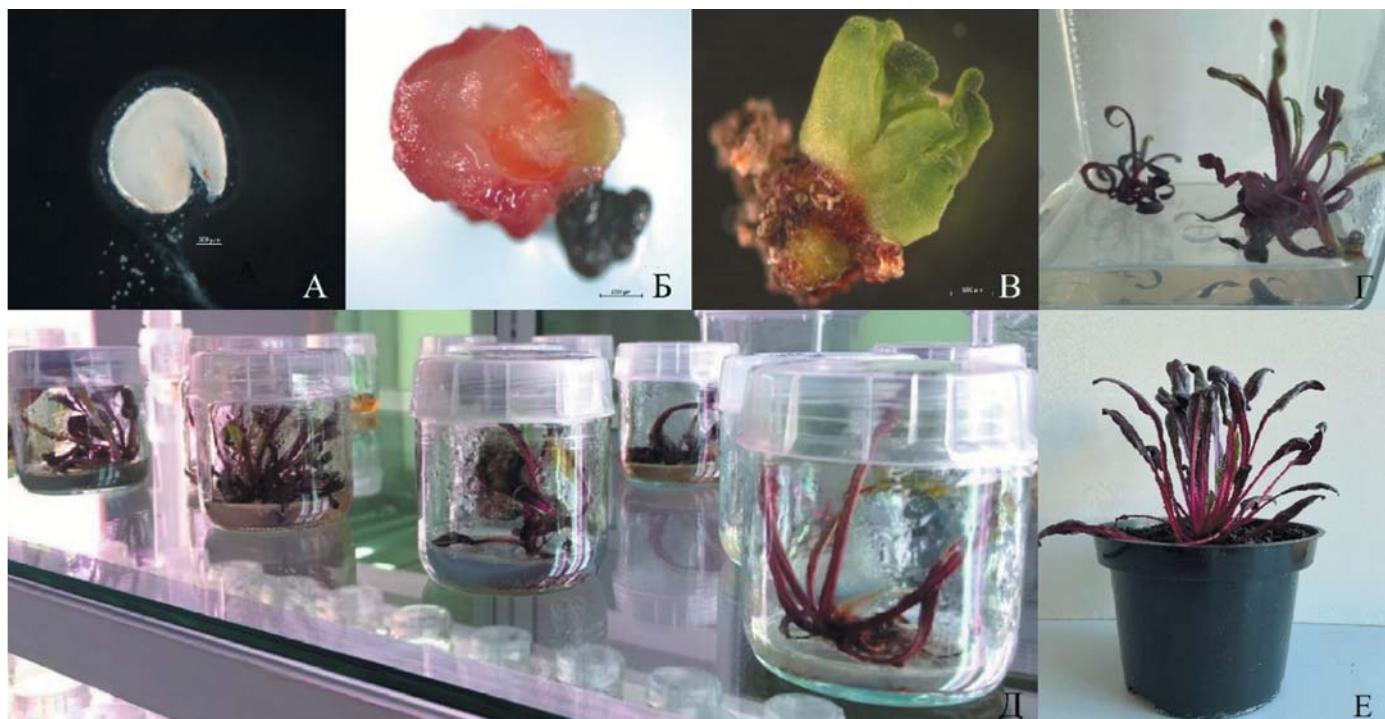


Рис. 6. Разработка технологии получения гиногенных растений свеклы столовой в культуре неопыленных семяпочек *in vitro*: семяпочки свеклы столовой на подходящей стадии развития сразу после выделения на индукционную питательную среду IMB с 0,4 мг/л ТДЗ (А); образование гиногенной структуры в результате разрыва микропиллярной части семяпочки через 4-6 недель культивирования (Б); образование зелёных меристематических участков, инициирующих регенерацию побегов на регенерационной питательной среде MS с 1 мг/л БАП и 0,1 мг/л ГК (В); регенерация побегов (Г); развитие растений-регенерантов с формированием корневой системы на безгормональной питательной среде MS после обработки эксплантов раствором индолилмасляной кислоты (ИМК) с концентрацией 50 мг/л в условиях *in vitro* (Д); гаплоидное растение свеклы столовой, акклиматизированное к условиям *ex vitro* (Е)

Fig. 6. Development of a technology for producing gynogenic plants of table beet (*Beta vulgaris* L.) in unfertilized ovule culture *in vitro*: table beet ovules at the appropriate developmental stage immediately after isolation on the induction nutrient medium IMB with 0.4 mg/L TDZ (A); formation of a gynogenic structure resulting from the rupture of the micropylar part of the ovule after 4-6 weeks of cultivation (B); formation of green meristematic areas initiating shoot regeneration on the regeneration nutrient medium MS with 1 mg/L BAP and 0.1 mg/L GA (B); shoot regeneration (Г); development of regenerant plants with root system formation on hormone-free MS nutrient medium after treatment of explants with a 50 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) solution under *in vitro* conditions (Д); a haploid table beet plant acclimatized to *ex vitro* conditions (Е)

Успешное развитие гиногенных структур свеклы столовой, также как и свеклы сахарной наблюдалось на твердой регенерационной питательной среде MS с 1 мг/л БАП и 0,1 мг/л ГК. Регенерация листовых розеток свеклы столовой из образовавшихся в индуцированных семяпочках эмбриоидов наблюдалась в результате разрастания семядольных и гипокотильных участков. Регенерационная способность каллусных структур, развившихся из одной индуцированной семяпочки, определялась генотипом и варьировалась от 0 до 27,3%. У свеклы столовой отмечена низкая регенерационная способность, только у четырех из шести генотипов удалось инициировать побегообразование и получить микророзетки/микропобеги. Наибольшая морфогенетическая активность каллусных структур и выход растений-регенерантов в количестве 24 штук отмечены у сорта Нежность, у которого все семяпочки индуцировали развитие морфогенного каллуса и эмбриоидов и с одной семяпочки получено 4,9±1,8 микропобегов. Регенерационная способность каллусных структур из индуцированных семяпочек сорта Добрыйня составила 12,5%, получено 16 растений-регенерантов в условиях *in vitro*. В отличие от свеклы столовой, у всех исследуемых генотипов свеклы сахарной удалось инициировать регенерацию и получить микророзетки/микропобеги, до семи побегов из одной индуцированной семяпочки у наиболее отзывчивого генотипа № 37130. Процесс укоренения полученных регенерантов свеклы столовой являлся трудоемким и проходил с осложнениями. Развитие корневой системы у 80% микропобегов свеклы столовой было достигнуто только в

случае обработки оснований побегов раствором индолилмасляной кислоты (ИМК) в концентрации 50 мг/л в течение 10-15 с. в отличие от свеклы сахарной, у которой дополнительного этапа укоренения для микропобегов не требовалось. С использованием проточной цитометрии, прямого подсчета хромосом в меристемных клетках гиногенных растений свеклы сахарной и столовой показано, что все полученные растения-регенеранты были гаплоидами ($n=x=9$) [5].

В современной селекции свеклы столовой, особенно для создания гетерозисных гибридов, помимо получения удвоенных гаплоидов, большое значение для ускоренного размножения и долговременного сохранения селекционноМценных генотипов приобретает клonalное микроразмножение, базирующееся на использовании культуры соматических клеток и тканей *in vitro*. Применение микроклонирования в практической селекции свеклы, как двулетней, трудоемкой культуры, позволит сохранить в культуре, размножить и включить в селекционный процесс целый ряд исходных линий с признаками ЦМС, закрепительной способностью и другими хозяйственными признаками. В связи с этим в лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений ФГБНУ ФНЦО проводятся исследования по разработке технологии клonalного микроразмножения свеклы столовой. В результате этих исследований выявлено, что оптимальными эксплантом для введения в культуру соматических клеток и тканей *in vitro* являются гипокотильные экспланты, выделенные из

асептических проростков, а также верхние участки колосовидных соцветий, образованные еще не сформированными бутонами. Использование в качестве исходных эксплантов верхних участков соцветий свеклы и культивирование их на питательной среде MS с 1 мг/л БАП позволяет достичь выхода регенерантов с коэффициентом размножения 1,9. Наибольший практический выход растений-регенерантов свеклы получен при использовании в качестве исходных эксплантов фрагментов гипокотиля длиной 4-5 мм, выделенных из верхней части асептических проростков, выращенных из семян, и захватывающих ткани апикальной мериостемы. Такого типа экспланты, культивируемые на питательной среде MS с 0,1 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК обладали высокой способностью к органогенезу и демонстрировали высокую эффективность размножения с коэффициентом размножения – до 10 микропобегов с одного экспланта.

Семейство Brassicaceae (редис, дайкон, репа). В отличие от рапса для большинства овощных культур семейства Капустные, эффективные протоколы получения удвоенных гаплоидов до сих пор не созданы. Это в полной мере относится к таким важным корнеплодным культурам, как репа, редис и дайкон. Среди них редис демонстрирует наибольшую сложность, характеризуясь минимальной отзывчивостью и считаясь одной из наиболее проблемных культур для данного биотехнологического подхода. В ФГБНУ ФНЦО были разработаны протоколы получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор для редиса [8] и

репы [9,10]. Для трудноотзывчивых генотипов предлагается использовать новый способ изоляции микроспор, разработанный для культур семейства Brassicaceae [11]. Этот технологический прием повышает чистоту препарата, расширяет диапазон линейных размеров бутонов, пригодных для технологии, увеличивает процент микроспор на восприимчивой к эмбриогенезу стадии развития, увеличивает выход эмбриоидов и позволяет получить удвоенные гаплоиды даже у ранее неотзывчивых генотипов (Патент на изобретение № 2807444 «Способ изоляции микроспор для получения удвоенных гаплоидов семейства Brassicaceae в культуре микроспор *in vitro*». Патентообладатель - ФГБНУ ФНЦО). Эффективность метода была доказана экспериментальным путем на капусте белокочанной, капусте краснокочанной, рапсе яровом, горчице сарептской, редисе и репе. Выход эмбриоидов при использовании данной модификации технологии увеличивался в несколько раз (у отдельных генотипов в 7,5 раз) и позволял получить эмбриоиды даже у неотзывчивых ранее генотипов. При использовании культуры изолированных микроспор для редиса максимальная эффективность технологии составила – 8 эмбриоидов на чашку Петри, а для репы – 53 эмбриоида [9]. Полученные DH-линии были переданы селекционерам и включены в селекционный процесс.

Из полученного семенного потомства R0 растений-регенерантов редиса европейского по хозяйственно ценным признакам было выделено три DH-линии редиса.



Рис. 7. DH-линия редиса европейского «Веня»
Fig. 7. A DH-line of European radish «Venya»



Рис. 8. DH-линия редиса европейского «Персей»
Fig. 8. A DH-line of European radish «Persey»



Рис. 9. DH-линия редиса европейского «Жегалов»
Fig. 9. A DH-line of European radish «Zhegalov»

Иммунологическая оценка этих линий выявила более высокую их устойчивость к бактериальной гнили относительно исходных родительских форм. Данные линии уже включены в процесс гибридизации селекционерами ФГБНУ ФНЦО и получены авторские свидетельства на селекционные достижения: DH-линия редиса европейского Жегалов (заявка

№7754534 от 17.08.2023), DH-линия редиса европейского Веня (заявка №7754535 от 17.08.2023), DH-линия редиса европейского Персей (заявка №7754533 от 17.08.2023).

Перспективным направлением, позволяющим значительно расширить генетическое разнообразие является межродовая (intergeneric) и межвидовая (interspecific) гибридизация

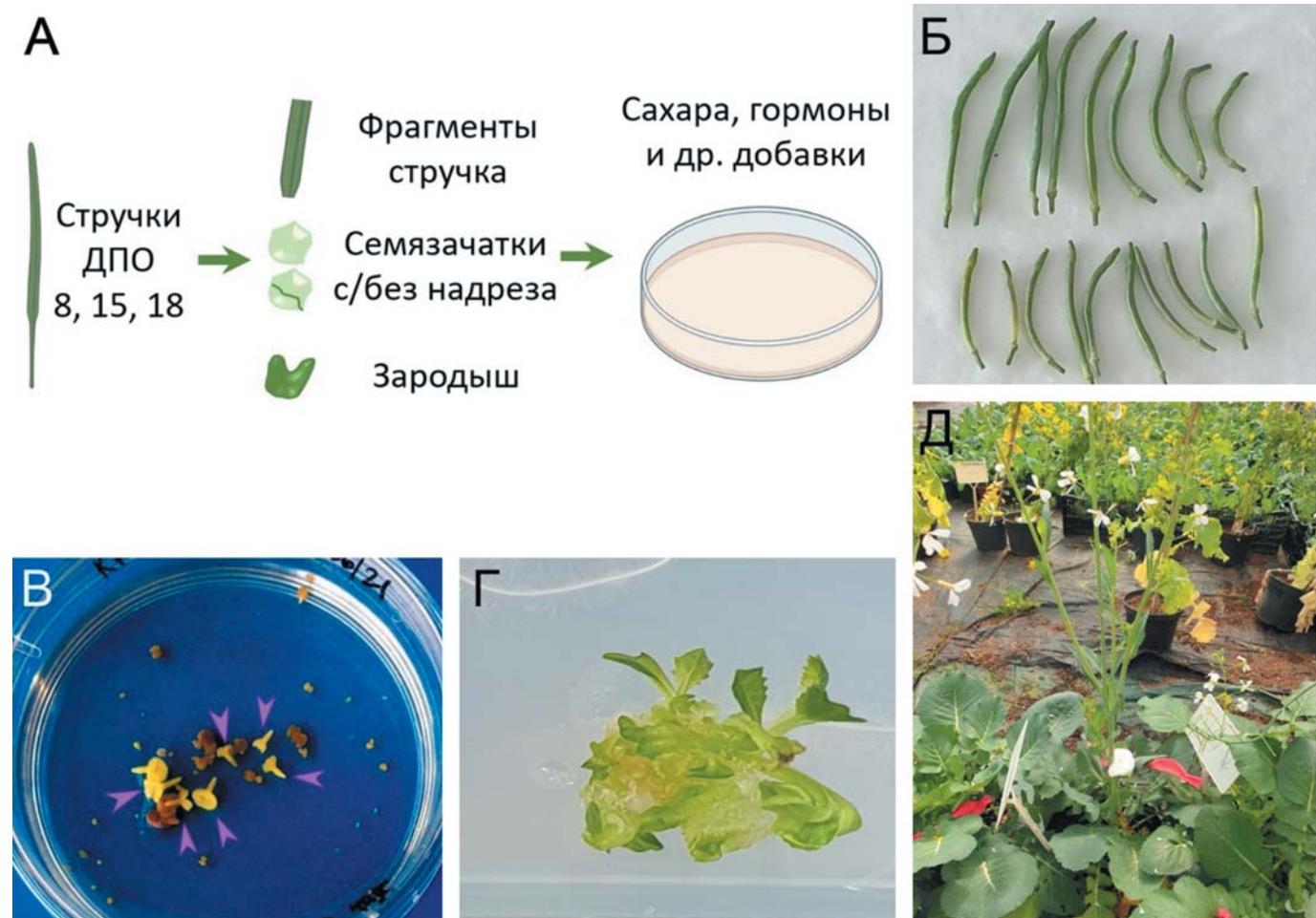


Рис. 10. Спасение зародышей, полученных при отдаленной гибридизации: на 9, 15 и 18 ДПО собирали стручки от скрещивания капусты белокочанной и дайкона, стручки подвергали поверхностной стерилизации, после чего в стерильных условиях выделялись и высаживались на различные среды фрагменты стручков, надрезанные и интактные семязачатки, а также изолированные зародыши (А); внешний вид стручков от гибридизации (Б); выделенные и надрезанные семяпочки, из которых вымыались развивающиеся зародыши (В); вторичный эмбриогенез и формирование полноценных растений из зародышей на агаризованной среде для регенерации (Г); адаптированные к условиям *ex vitro* растения, выращенные в условиях теплицы, растения проявляли промежуточные фенотипические характеристики относительно обоих родителей: слаборассеченный лист и восковой налет (от капусты белокочанной), при этом белая окраска цветков и наличие опушения у листьев (от дайкона) (Д)

ция. Отдельные представители семейства *Brassicaceae* обладают уникальными адаптивными характеристиками, включая устойчивость к патогенам, толерантность к абиотическим стрессам и повышенное содержание биоактивных соединений. Однако успешное получение межвидовых/межродовых гибридов часто лимитировано наличием презиготических барьера, постгамной несовместимостью, приводящей к аборту зародыша на ранних стадиях развития, а также стерильностью полученных гибридных форм. Технология «спасения зародышей *in vitro*» позволяет преодолевать барьеры несовместимости путем изоляции и культивирования незрелых гибридных зародышей на искусственных питательных средах. Последующее удвоение хромосомного набора за счет обработки антимитотическими веществами *in vivo* и *in vitro* позволит получить fertильные аллополиплоидные и амфидиплоидные формы.

В результате проведенных исследований был оптимизирован протокол технологии «спасение зародышей» для получения гибридов от отдаленной гибридизации. Методика была применена для создания межродовых гибридов между капустой белокочанной (*Brassica oleracea* L.) и устойчивым к килю дайконом (*Raphanus sativus* L.), а также межвидовых гибридов при скрещивании капусты белокочанной с репой ($\text{♀ } B. oleracea$ L. \times $\text{♂ } B. rapa$). В результате было получено 28 гибридных растений. Эффективность технологии составила 4,6% развивающихся зародышей от числа введенных в культуру семяпочек. Наилучшим эксплантом оказались надрезанные скальпелем семяпочки, которые изолировали из стерилизованных стручков на 15–18 день после опыления (ДПО). Наивысшая эффективность развития зародышей была достигнута при культивировании семяпочек в чашках Петри на жидкой питательной среде MS с 80 г/л сахарозы и 400 мг/л гидролизата казеина при постоянном покачивании на шейкере (60 об/мин), температуре 24°C и естественном комнатном освещении.

При фенотипической оценке межвидовых гибридов был выявлен широкий спектр проявления родительских признаков. Такие особенности, как рассеченность листьев, восковой налет и опущенность, проявлялись у разных растений в различных комбинациях и с разной степенью выраженности, что отражает смешение признаков обоих родителей. Несмотря на то, что все генотипы зацвели в первый год, получить семена от самоопыления смогли только от растения одного генотипа (рис. 10). Остальные межвидовые гибриды были обработаны колхицином (0,02% раствор в течение 24 и 48 часов) в культуре *in vitro* и культуре *ex vitro* с целью удвоения генома, которое позволит преодолеть стерильность растений.

Микроклональное размножение служит ключевым инструментом в современной селекции, применяясь как в качестве самостоятельной технологии (для размножения ценных образцов и форм с мужской стерильностью), так и в качестве отдельного этапа в технологиях получения удвоенных гаплоидов и «спасения» зародышей для последующего тиражирования растений-регенерантов. Проведенные исследования на редисе позволили разработать оптимизированный протокол клонального микроразмножения для корне-

плодных культур *R. sativus* L. Установлено, что наиболее эффективными эксплантами являются гипокотилии с участком меристематических тканей эпикотиля. Прямая регенерация на питательной среде с НУК и БАП в концентрациях 0,2 мг/л обеспечивала развитие до 17 адвентивных побегов с одного экспланта при частоте регенерации 25%. Существенное увеличение выхода побегов – в пять раз – достигалось при ориентации гипокотиля точкой роста вверх. Предобработка эксплантов 0,1% раствором нитрата серебра в течение 1 часа способствовала повышению коэффициента размножения в 1,2–5 раз [22]. На этапе укоренения наибольшая эффективность была достигнута на безгормональной питательной среде MS, при этом критически важной являлась техника высадки микропобегов строго на поверхность среды без заглубления. Альтернативный высокоэффективный метод заключался в использовании жидкой среды MSm с добавлением 0,1 мг/л кинетина в пробирках с мостиками из фильтровальной бумаги. Для преодоления аномально-го морфогенеза у части растений, проявляющегося в образовании корнеплодоподобных структур и вторичных опухолевидных разрастаний, применялась много-кратная диссекция аномалий с последовательными пересадками. В результате модификации этапа укоренения процент успешной адаптации растений-удвоенных гаплоидов к условиям *in vivo* был повышен с 0–14% до 95–98%, что подтверждает высокую эффективность разработанного протокола для целей уско-ренной селекции [23].

Заключение

Проведенные исследования подтвердили высокую эффективность применения комплекса биотехнологических методов для значительного ускорения селекционного процесса корнеплодных культур. Разработанные и оптимизированные протоколы получения удвоенных гаплоидов через культуру изолированных микроспор и неопыленных семяпочек, технологии спасения зародышей и клонального микроразмножения показали воспроизводимые результаты на представителях ключевых семейств: *Amaranthaceae* (свекла столовая и свекла сахарная), *Apiaceae* (морковь, пастернак) и *Brassicaceae* (редис, репа, дайкон). Полученные количественные показатели по эффективности DH-технологий, такие как выход до 161 эмбриоида у моркови и 53 эмбриоидов у репы, демонстрируют практическую значимость методик. Успешное создание межвидовых гибридов с использованием «embryo rescue» и регистрация новых сортов и перспективных DH-линий (таких как морковь «Соната» и редис «Жегалов», «Веня», «Персей») являются прямым доказательством успешной интеграции биотехнологических подходов в практическую селекцию. Таким образом, реализованный в работе комплексный подход, основанный на тесном взаимодействии биотехнологов и селекционеров, позволяет преодолеть ключевые ограничения традиционной селекции. Внедрение этих методов открывает возможность существенного сокращения сроков создания новых конкурентоспособных сортов и гибридов корнеплодных культур, что является весомым вкладом в решение задачи обеспечения продовольственной безопасности.

• Литература

1. Тюкавин Г.Б. Основы биотехнологии моркови. Под общ. ред. и с препр. В.Ф. Пивоварова. Москва, 2007. 479 с. ISBN 978-5-901695-19-7.
2. Федорова М.И., Степанов В.А. Корнеплодные овощные растения, направления селекции, результаты. *Овощи России*. 2017;(4):16–22. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-4-16-22>
3. Домбладес А.С. Разработка лабораторной технологии получения гиногенных растений моркови *in vitro*. Москва, 2001. 140 с. <https://www.elibrary.ru/qdkcsp>
4. Masuda K., Kikuta Y., Okazawa Y. A revision of the medium for somatic embryogenesis in carrot suspension culture. *Journal of the Faculty of Agriculture*. 1981. <https://www.semanticscholar.org/paper/A-REVISION-OF-THE-MEDIUM-FOR-SOMATIC-EMBRYOGENESIS-Masuda-Kikuta/940c4aca79be26d0f0011e82d1c5b132da818119>
5. Zayachkovskaya T., Alyokhina K., Mineykina A., Romanova O., Vjurts T., Tukuser Y., et al. Optimizing Different Medium Component Concentration and Temperature Stress Pretreatment for Gynogenesis Induction in Unpollinated Ovule Culture of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). *Horticulturae*. 2023;9(8):900. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9080900>
6. Murashige T, Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
7. Lichter R. Induction of Haploid Plants From Isolated Pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 1982;105(5):427–434. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(82\)80040-8](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(82)80040-8).
8. Kozar E., Domblides E. Protocol of European Radish (*Raphanus sativus* L.) Microspore Culture for Doubled Haploid Plant Production. In: Segui-Simarro JM (ed.) Doubled Haploid Technology: Volume 2: Hot Topics, Apiaceae, Brassicaceae, Solanaceae. New York, NY: Springer US; 2021. p. 217–232. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1335-1_13
9. Shumilina D., Kozar E., Chichvarina O., Korotseva K., Domblides E. *Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* Isolated Microspore Culture Protocol. In: Segui-Simarro JM (ed.) Doubled Haploid Technology: Volume 2: Hot Topics, Apiaceae, Brassicaceae, Solanaceae. New York, NY: Springer US; 2021. p. 145–162. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1335-1_9
10. Shumilina D., Konyukhin D., Domblides E., Soldatenko A., Artemyeva A. Effects of Genotype and Culture Conditions on Microspore Embryogenesis and Plant Regeneration in *Brassica Rapa* ssp. *Rapa* L. *Plants*. 2020;9(2):278. <https://doi.org/10.3390/plants9020278>
11. Kozar E.V., Kozar E.G., Domblides E.A. Effect of the Method of Microspore Isolation on the Efficiency of Isolated Microspore Culture *In Vitro* for Brassicaceae Family. *Horticulturae*. 2022;8(10):864. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100864>
12. Domblides A.S. Anther and ovule *in vitro* culture in carrot (*Daucus carota* L.). *Acta Horticulturae*. 2017;(1153):55–60. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1153.9>
13. Matsubara S., Dohya N., Murakami K. Callus formation and regeneration of adventitious embryous from carrot, fennel and mitsuba microspores by anther and isolated microspore cultures. *Acta Horticulturae*. 1995;(392):129–138. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.392.15>
14. Górecka K., Kowalska U., Krzyżanowska D., Kiszcza W. Obtaining carrot (*Daucus carota* L.) plants in isolated microspore cultures. *Journal of Applied Genetics*. 2010;51(2):141–147. <https://doi.org/10.1007/BF03195722>
15. Li J.R., Zhuang F.Y., Ou C.G., Hu H., Zhao Z.W., Mao J.H. Microspore embryogenesis and production of haploid and doubled haploid plants in carrot (*Daucus carota* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2013;112(3):275–287. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0235-5>
16. Вюртц Т.С., Домбладес Е.А., Шмыкова Н.А., Федорова М.И., Кан Л.Ю., Домбладес А.С. Получение ДН-растений в культуре изолированных микроспор моркови. *Овощи России*. 2017;(5):25–30. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-5-25-30>
17. Shmykova N., Domblides E., Vjurts T., Domblides A. Haploid Embryogenesis in Isolated Microspore Culture of Carrots (*Daucus carota* L.). *Life*. 2021;11(1):20. <https://doi.org/10.3390/life11010020>
18. Romanova O., Vjurts T., Mineykina A., Tukuser Y., Kulakov Y., Akhramenko V., et al. Embryogenesis induction of carrot (*Daucus carota* L.) in isolated microspore culture. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):25–34. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-548>
19. Fomicheva M., Kozar E., Domblides E. Carrot (*Daucus carota* L.) Haploid Embryo Genome Doubling with Colchicine and Trifluralin. *Horticulturae*. 2025;11(5):505. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11050505>
20. Fujimura T., Komamine A. Synchronization of Somatic Embryogenesis in a Carrot Cell Suspension Culture. *Plant Physiology*. 1979;64(1):162–164. <https://doi.org/10.1104/pp.64.1.162>
21. 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. <https://doi.org/10.3390/plants10122703>
22. Зячковская Т.В. Оценка исходного материала вида *Raphanus sativus* L. с использованием методов репродуктивной биологии для селекции на гетерозис. Москва, 2005. 26 с. <https://www.elibrary.ru/nibstz>
23. Kozar E.V., Kozar E.G., Soldatenko A.V., Domblides E.A. Rooting technique of double haploids obtained in culture of microspore *in vitro* for European radish. *Vegetable crops of Russia*. 2020;(5):3–15. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-5-3-15>

• References

1. Tyukavin G.B. Fundamentals of Carrot Biotechnology: monograph. under the general editorship and with a preface by V.F. Pivovarov. Moscow: All-Russian Research Institute of Breeding and Seed Production of Vegetable Crops, 2007. 479 p. ISBN 978-5-901695-19-7. (In Russ.)
2. Fedorova M.I., Stepanov, V.A. Root vegetable crops, breeding directions, results. *Vegetable crops of Russia*. 2017;0(4):16–22. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-4-16-22>
3. Domblides A.S. Development of a laboratory technology for producing gynogenic carrot plants *in vitro*. Moscow, 2001. 140 p. (In Russ.) <https://www.elibrary.ru/qdkcsp>
4. Masuda K., Kikuta Y., Okazawa Y. A revision of the medium for somatic embryogenesis in carrot suspension culture. *Journal of the Faculty of Agriculture*. 1981. <https://www.semanticscholar.org/paper/A-REVISION-OF-THE-MEDIUM-FOR-SOMATIC-EMBRYOGENESIS-Masuda-Kikuta/940c4aca79be26d0f0011e82d1c5b132da818119>
5. Zayachkovskaya T., Alyokhina K., Mineykina A., Romanova O., Vjurts T., Tukuser Y., et al. Optimizing Different Medium Component Concentration and Temperature Stress Pretreatment for Gynogenesis Induction in Unpollinated Ovule Culture of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). *Horticulturae*. 2023;9(8):900. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9080900>
6. Murashige T, Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
7. Lichter R. Induction of Haploid Plants From Isolated Pollen of *Brassica napus*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 1982;105(5):427–434. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(82\)80040-8](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(82)80040-8).
8. Kozar E., Domblides E. Protocol of European Radish (*Raphanus sativus* L.) Microspore Culture for Doubled Haploid Plant Production. In: Segui-Simarro JM (ed.) Doubled Haploid Technology: Volume 2: Hot Topics, Apiaceae, Brassicaceae, Solanaceae. New York, NY: Springer US; 2021. p. 217–232. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1335-1_13
9. Shumilina D., Kozar E., Chichvarina O., Korotseva K., Domblides E. *Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* Isolated Microspore Culture Protocol. In: Segui-Simarro JM (ed.) Doubled Haploid Technology: Volume 2: Hot Topics, Apiaceae, Brassicaceae, Solanaceae. New York, NY: Springer US; 2021. p. 145–162. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1335-1_9

- US; 2021. p. 145–162. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1335-1_9
10. Shumilina D., Korniyukhin D., Domblides E., Soldatenko A., Artemyeva A. Effects of Genotype and Culture Conditions on Microspore Embryogenesis and Plant Regeneration in *Brassica Rapa* ssp. *Rapa* L. *Plants*. 2020;9(2):278. <https://doi.org/10.3390/plants9020278>
11. Kozar E.V., Kozar E.G., Domblides E.A. Effect of the Method of Microspore Isolation on the Efficiency of Isolated Microspore Culture *In Vitro* for Brassicaceae Family. *Horticulturae*. 2022;8(10):864. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100864>
12. Domblides A.S. Anther and ovule *in vitro* culture in carrot (*Daucus carota* L.). *Acta Horticulturae*. 2017;(1153):55–60. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1153.9>
13. Matsubara S., Dohya N., Murakami K. Callus formation and regeneration of adventitious embryos from carrot, fennel and mitsuba microspores by anther and isolated microspore cultures. *Acta Horticulturae*. 1995;(392):129–138. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.392.15>
14. Górecka K., Kowalska U., Krzyżanowska D., Kiszcza W. Obtaining carrot (*Daucus carota* L.) plants in isolated microspore cultures. *Journal of Applied Genetics*. 2010;51(2):141–147. <https://doi.org/10.1007/BF03195722>
15. Li J.R., Zhuang F.Y., Ou C.G., Hu H., Zhao Z.W., Mao J.H. Microspore embryogenesis and production of haploid and doubled haploid plants in carrot (*Daucus carota* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2013;112(3):275–287. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0235-5>
16. Vjurts, T.S., Domblides, E.A., Shmykova, N.A., Fedorova, M.I., Kan, L.Yu., Domblides, A.S. Production of DH-plants in isolated microspore culture of carrot. *Vegetable crops of Russia*. 2017;(5):25–30. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-5-25-30>
17. Shmykova N., Domblides E., Vjurts T., Domblides A. Haploid Embryogenesis in Isolated Microspore Culture of Carrots (*Daucus carota* L.). *Life*. 2021;11(1):20. <https://doi.org/10.3390/life11010020>
18. Romanova O., Vjurts T., Mineykina A., Tukuser Y., Kulakov Y., Akhramenko V., et al. Embryogenesis induction of carrot (*Daucus carota* L.) in isolated microspore culture. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):25–34. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-548>
19. Fomicheva M., Kozar E., Domblides E. Carrot (*Daucus carota* L.) Haploid Embryo Genome Doubling with Colchicine and Trifluralin. *Horticulturae*. 2025;11(5):505. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11050505>
20. Fujimura T., Komamine A. Synchronization of Somatic Embryogenesis in a Carrot Cell Suspension Culture. *Plant Physiology*. 1979;64(1):162–164. <https://doi.org/10.1104/pp.64.1.162>
21. 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. <https://doi.org/10.3390/plants10122703>
22. Zayachkovskaya T.V. Evaluation of the initial material of the species *Raphanus sativus* L. using methods of reproductive biology for heterosis breeding. Moscow, 2005. 26 p. (In Russ.) <https://www.elibrary.ru/nibstz>
23. Kozar E.V., Kozar E.G., Soldatenko A.V., Domblides E.A. Rooting technique of double haploids obtained in culture of microspore *in vitro* for European radish. *Vegetable crops of Russia*. 2020;(5):3–15. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-5-3-15>
- <https://elibrary.ru/dsqqpo>

Об авторах:

Елена Алексеевна Домбlideс – кандидат с.-х. наук, зав. лабораторией репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, <https://orcid.org/0000-0002-2695-190X>, SPIN-код: 4733-7540, автор для переписки, edomblides@mail.ru

Татьяна Владимировна Заячковская – кандидат с.-х. наук, научный сотрудник лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, <https://orcid.org/0000-0001-8435-8197>, SPIN-код: 8777-2919, taivka34@mail.ru

Татьяна Сергеевна Вюртц – кандидат с.-х. наук, научный сотрудник лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, <https://orcid.org/0000-0003-3956-4172>, SPIN-код: 5482-3921, tajtza@yandex.ru

Юрий Владимирович Кулаков – младший научный сотрудник лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, <https://orcid.org/0000-0002-3718-3854>, SPIN-код: 1070-4035, ykulakov12@yandex.ru

Ольга Александровна Чичварина – младший научный сотрудник лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, <https://orcid.org/0000-0001-5297-2969>, SPIN-код: 1013-5493, chichvarina07@rambler.ru

Яна Петровна Тукuser – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и цитологии, <https://orcid.org/0000-0003-2305-1575>, SPIN-код: 8520-1999, yana-tukuser@mail.ru

Ксения Станиславовна Стебницкая – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и цитологии, <https://orcid.org/0000-0002-2284-0532>, SPIN-код: 1152-1934, k-korottseva@yandex.ru

Мария Григорьевна Фомичева – кандидат биол. наук, научный сотрудник лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, <https://orcid.org/0000-0002-0281-0467>, SPIN-код: 3219-3462, maria.fomicheva.1@yandex.ru

Анна Игоревна Минейкина – кандидат с.-х. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и цитологии, <https://orcid.org/0000-0001-9864-1137>, SPIN-код: 7179-7360, anna-batmanova@mail.ru

Артур Сергеевич Домбlideс – доктор с.-х. наук, зав. лабораторией молекулярной генетики и цитологии, <https://orcid.org/0000-0002-5617-9498>, SPIN-код: 3884-5069, arthurdom@inbox.ru

Елена Викторовна Козарь – кандидат биол. наук, научный сотрудник лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, <https://orcid.org/0000-0001-5447-5341>, SPIN-код: 4950-0540, koz.len04ek@gmail.com

About the Authors:

Elena A. Domblides – Cand. Sci. (Agriculture), Head of Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0002-2695-190X>, SPIN-code: 4733-7540, Corresponding Author, edomblides@mail.ru

Tatyana V. Zayachkovskaya – Cand. Sci. (Agriculture), Researcher of Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0001-8435-8197>, SPIN-code: 8777-2919, taivka34@mail.ru

Tatyana S. Vjurts – Cand. Sci. (Agriculture), Researcher of Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0003-3956-4172>, SPIN-code: 5482-3921, tajtza@yandex.ru

Yuri V. Kulakov – Junior Researcher of Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0002-3718-3854>, SPIN-code: 1070-4035, ykulakov12@yandex.ru

Olga A. Chichvarina – Junior Researcher of Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0001-5297-2969>, SPIN-code: 1013-5493, chichvarina07@rambler.ru

Yana P. Tukuser – Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Cytology, <https://orcid.org/0000-0003-2305-1575>, SPIN-code: 8520-1999, yana-tukuser@mail.ru

Ksenia S. Stebnitskaya – Junior Researcher of Laboratory of Molecular Genetics and Cytology, <https://orcid.org/0000-0002-2284-0532>, SPIN-code: 1152-1934, k-korottseva@yandex.ru

Maria G. Fomicheva – Cand. Sci. (Biology), Researcher at the Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0002-0281-0467>, SPIN-code: 3219-3462, maria.fomicheva.1@yandex.ru

Anna I. Mineykina – Cand. Sci. (Agriculture), Researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Cytology, <https://orcid.org/0000-0001-9864-1137>, SPIN-code: 7179-7360 anna-batmanova@mail.ru

Artur S. Domblides – Dr. Sci. (Agriculture), Head of the Laboratory of Molecular Genetics and Cytology, <https://orcid.org/0000-0002-5617-9498>, SPIN-code: 3884-5069, arthurdom@inbox.ru,

Elena V. Kozar – Cand. Sci. (Biology), Researcher of Laboratory of Reproductive Biotechnology in Crop Breeding, <https://orcid.org/0000-0001-5447-5341>, SPIN-code: 4950-0540, koz.len04ek@gmail.com