



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>



Обзор

ОЦЕНКА КОЛЛЕКЦИИ ГЕНОТИПОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ОТЗЫВЧИВОСТИ ЭКСПЛАНТОВ НА УСЛОВИЯ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* КАК БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРИЁМА

Сельдиминова О.А.¹, Круглова Н.Н.¹,
Никонов В.И.²

¹ Уфимский институт биологии Уфимского
федерального исследовательского центра РАН, Уфа
² Башкирский научно-исследовательский институт сельского
хозяйства Уфимского федерального исследовательского
центра РАН, Уфа

E-mail: kruglova@anrb.ru

Проведена оценка отзывчивости в условиях культуры *in vitro* изолированных пыльников коллекции генотипов яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. Выявлены генотипы, перспективные для использования в качестве донорных растений при введении в культуру *in vitro*. Показано отсутствие зависимости между частотой образования эмбриоидов у родительских генотипов и их гибридов.

Ключевые слова: андроклиния, культура *in vitro* пыльников, яровая мягкая пшеница, *Triticum aestivum* L., отзывчивость

EVALUATION OF THE COLLECTION OF SPRING SOFT WHEAT GENOTYPES FOR RESPONSIVE OF EXPLANTS ON *IN VITRO* CULTURE CONDITIONS AS BIOTECHNOLOGICAL METHOD

Seldimirova O.A.¹, Kruglova N.N.¹,
Nikonov V.I.²

¹ Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research
Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa

² Bashkirian Research Institute of Agriculture
of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences, Ufa

E-mail: kruglova@anrb.ru

The responsiveness under conditions of isolated anther culture *in vitro* of the collection of spring soft wheat *Triticum aestivum* L. genotypes was assessed. Genotypes were identified that are promising for use as donor plants when introduced into culture *in vitro*. It was shown that there is no correlation between the frequency of embryo formation in parental genotypes and their hybrids.

Keywords: androcliny, anther culture *in vitro*, spring soft wheat, *Triticum aestivum* L., responsiveness

Поступила в редакцию: 11.05.2018

DOI: [10.31163/2618-964X-2018-1-2-71-79](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2018-1-2-71-79)

ВВЕДЕНИЕ

Андроклинная гаплоидия как получение гаплоидных растений-регенерантов на основе биологического феномена андроклинии [Суханов, 1983; Круглова и др., 2005] – один из перспективных биотехнологических подходов в селекционных исследованиях сельскохозяйственных культур, в том числе яровой мягкой пшеницы – основного хлебного злака России. Преимущество андроклинной гаплоидии по сравнению с традиционными методами селекции заключается в возможности быстрого получения гомозиготных константных гибридов 1-го поколения, сохраняющих в генотипе хозяйственно-ценные признаки родительских форм. Использование полученных растений-регенерантов облегчает отбор фенотипов по качественным и количественным признакам и дает возможность ускорить оценку перспективности полученных гибридов. Перевод гаплоидов в дигаплоидное состояние позволяет получать полноценные семена таких растений. Кроме того, биотехнология андроклинной гаплоидии – один из немногих способов закрепления ценного гетерозисного эффекта гибридов 1-го поколения [Круглова и др., 2005; Круглова, 2009; Advances in Haploid Production..., 2009; Батыгина и др., 2010; Dunwell, 2010; Seguí-Simarro,

2010; Dhooghe et al., 2011; Ferrie, Caswell, 2011; Ferrie, Mollers, 2011; Germana, 2011; Soriano et al., 2013; Takahata et al., 2013; Portemer et al., 2015; Doubled Haploidy ..., 2016; Основы биотехнологии растений., 2017; Ren et al., 2017; Yan et al., 2017].

На основе феномена андроклиной гаплоидии разработан метод культуры *in vitro* изолированных пыльников яровой мягкой пшеницы [Суханов, 1983; Горбунова, Круглова, 1988; Круглова, Батыгина, 2002; Круглова, Сельдимирова, 2011]. Получение гаплоидных растений-регенерантов в данном случае связано с реализацией в культуре *in vitro* двух путей морфогенеза – эмбриоидогенеза и гемморизогенеза [Круглова и др., 1995; Круглова, Горбунова, 1997, 2001; Круглова, Куксо, 2006а,б; Батыгина и др., 2010; Круглова, Сельдимирова, 2010, 2011, 2013; Круглова, Дубровная, 2011; Сельдимирова, Круглова, 2014; Bevitori et al., 2014; Seldimirova et al., 2016a,b; Zur et al., 2015, 2016; Titova et al., 2016]. При эмбриоидогенезе инициальная клетка (у яровой мягкой пшеницы – сильновакуолизованная микроспора [Горбунова, Круглова, 1997; Круглова, Батыгина, 2001; Круглова и др., 2005; Батыгина и др., 2010], по периодизации [Круглова, 1999]) дает начало эмбриоиду – биполярной зародышеподобной структуре, которая сразу же развивается в растение-регенерант. При гемморизогенезе инициальная клетка сначала дает начало морфогенному каллусу, в котором затем индуцируют формирование почек и корней. Оба пути морфогенеза *in vitro* ведут к формированию растений-регенерантов (рис.). По ряду причин (главным образом, с эмбриологических позиций) биотехнологически оптимальный путь морфогенеза – эмбриоидогенез *in vitro* [Круглова, 2002, 2009; 2012; Круглова и др., 2000; 2005; Батыгина и др., 2010; Круглова, Сельдимирова, 2011; Seldimirova, Kruglova, 2013; Seldimirova et al., 2017].

БИОТЕХНОЛОГИЯ АНДРОКЛИНОЙ ГАПЛОИДИИ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

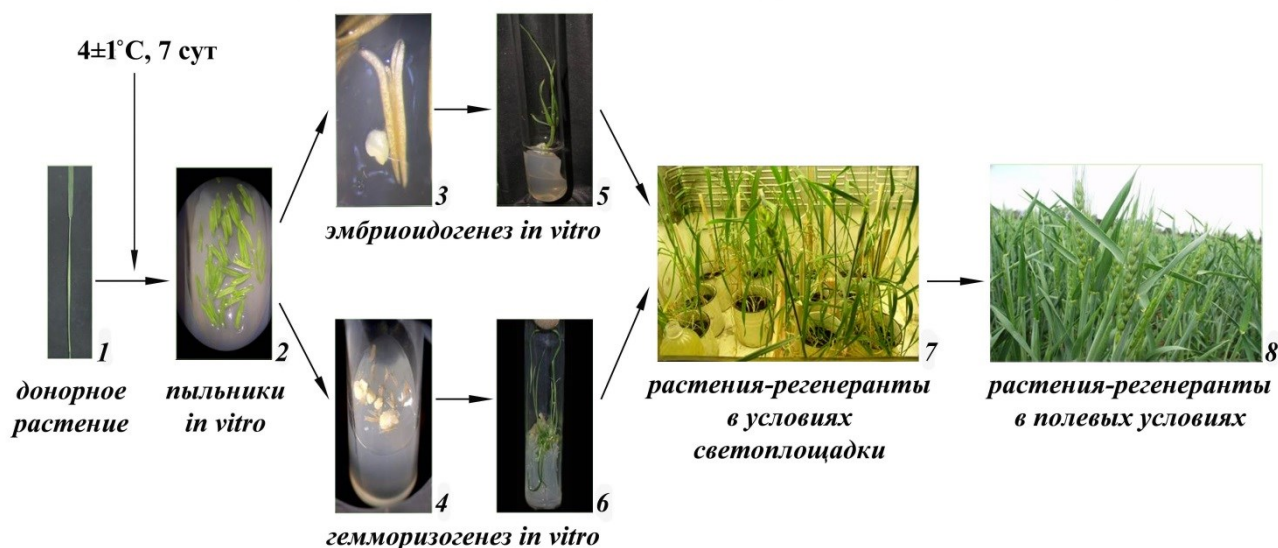


Рис. Этапы биотехнологии андроклиной гаплоидии яровой мягкой пшеницы:

1 – оценка фенотипических критериев донорных растений в полевых условиях; 2 – инокуляция пыльников на питательную среду в условия *in vitro*; 3 – формирование эмбриоида в условиях *in vitro*; 4 – формирование морфогенных каллусов в условиях *in vitro*; 5 – формирование растения-регенеранта из эмбриоида в условиях *in vitro*; 6 – формирование растения-регенеранта из морфогенного каллуса в условиях *in vitro*; 7 – развитие растений-регенерантов в условиях светоплощадки; 8 – развитие растений-регенерантов в полевых условиях (по: [Круглова, 2009])

Литературные данные [Belinskaya, 2008; Kumari et al., 2009; Игнатова, 2011; El-Hennawy et al., 2011; Kahrizi et al., 2011; Redha, Suleman, 2011; Сатарова и др., 2013; Dong et al., 2013; Pershina et al., 2013; Doubled Haploidy .., 2016; Hu et al., 2016 и др.] свидетельствуют о том, что успешное культивирование *in vitro* изолированных пыльников злаков во многом зависит от генотипа донорного растения, определяющего такие признаки, как частота образования эмбриоидов и/или каллусов, частота регенерации зеленых/альбиносных растений.

Таким образом, генотип донорного растения – один из важнейших факторов, определяющих возможность практического использования биотехнологии андроклиной гаплоидии. С этой точки зрения для решения селекционных задач необходимо выявить генотипы, с одной стороны характеризующиеся высокой отзывчивостью в культуре *in vitro* изолированных пыльников, с другой стороны – обладающие признаками, хозяйственно-ценными в условиях конкретного региона.

В связи с этим цель данной работы заключалась в оценке отзывчивости в условиях культуры *in vitro* изолированных пыльников яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. из коллекции генотипов (сортов и их гибридных комбинаций). перспективных для климатической зоны Южного Урала и интенсивно используемых в селекционных программах лаборатории селекции и семеноводства яровой пшеницы Башкирского научно-исследовательского института сельского хозяйства УФИЦ РАН (г. Уфа).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили сорта (Башкирская 26, Башкирская 28, Боевчанка, Дуэт, Жница, Ирень, Московская 35, Салават Юлаев, Симбирка, Скала, Тулайковская золотистая, Экада 70) и линии (Л42875, Л42938, 76/98а, Э43018) яровой мягкой пшеницы, а также гибридные комбинации на их основе, семена которых были любезно предоставлены Башкирским НИИСХ УФИЦ РАН.

Для экспериментов использовали донорные растения, выращенные в полевых условиях научного стационара Уфимского Института биологии УФИЦ РАН (Уфимский район). В работе использовали авторский метод культуры *in vitro* изолированных пыльников яровой мягкой пшеницы [Круглова, Батыгина, 2002]. Образование в пыльниках только эмбриоидов индуцировали, используя методический подход, основанный на оценке баланса эндогенных (в пыльниках) и экзогенных (в составе питательной среды) фитогормонов [Gorbunova et al., 2001; Круглова и др., 2005; Seldimirova et al., 2016b]. Отзывчивость генотипов оценивали по частоте образования эмбриоидов (отношения количества образовавшихся эмбриоидов к общему количеству инокулированных пыльников, выраженного в процентах). Статистическую обработку полученных результатов вели с применением программы Microsoft Office Excel 2010, учитывая основные статистические параметры. В таблицах представлены средние арифметические значения и ошибки средних.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы 1, родительские генотипы яровой мягкой пшеницы, вовлеченные в скрещивание, контрастны по отзывчивости на условия культуры *in vitro* изолированных пыльников. Гибриды, полученные с их участием, также различались по частоте образования эмбриоидов (табл. 2).

Согласно анализу результатов, приведенных в таблицах 1 и 2, зависимость между частотой образования эмбриоидов у родительских генотипов и их гибридов отсутствует. Высокоотзывчивые родительские генотипы могут давать низкоотзывчивые гибриды (например, Л42875 x Экада 70, Л42875 x 76/98a) и наоборот (например, Жница x Московская 35). Отмечен случай, когда при скрещивании неотзывчивых родительских генотипов получен гибрид с достаточно высокой отзывчивостью (Э43018 x Тулайковская золотистая).

Таблица 1. Отзывчивость изолированных пыльников родительских генотипов яровой мягкой пшеницы в культуре *in vitro*

генотип	отзывчивость, %
Жница	23.33±1.64
Дуэт	22.92±7.9
Экада 70	21.10±2.82
76/98a	30.91±6.93
Л42875	25.70±4.28
Л42938	77.8±6.3
Башкирская 26	9.64±2.25
Башкирская 28	10.88±1.74
Московская 35	14.13±2.94
Салават Юлаев	15.24±4.87
Симбирка	11.37±2.37
Скала	13.3±2.1
Ирень	3.80±0.34
Э43018	0
Тулайковская золотистая	0
Боевчанка	0

Таблица 2. Отзывчивость изолированных пыльников гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы в культуре *in vitro*

родословная гибридов 1-го поколения	отзывчивость, %
Л42938 x Салават Юлаев	3.53±0.90
Боевчанка x Ирень	0
Дуэт x Башкирская 28	0
Башкирская 26 x Экада 70	4.17±1.23
Э43018 x Тулайковская золотистая	16.79±4.44
Л42875 x Экада 70	12.39±3.36
Л42875 x 76/98a	5.29±0.68

Такие данные подтверждают мнение ряда исследователей о том, что отзывчивость пыльников гибридов 1-го поколения яровой мягкой пшеницы на условия культуры *in vitro* определяется сложным взаимодействием генотипов родительских форм [Datta, 2001; Chen et al., 2007; Belinskaya, 2008; Alheit et al., 2011; Nielsen et al., 2015; Begheyn et al., 2017]. Возможно, этот признак контролируется множественными генами, что, в целом, характерно для количественных признаков [Сатарова и др., 2013]. Такое предположение подтверждается данными, полученными на примере других культур. Так, у тритикале обнаружены локусы, связанные с частотой образования эмбриоидов, локализованные на разных хромосомах. Локусы, снижающие частоту образования эмбриоидов, находятся на хромосомах 3RL и 5R, повышающие частоту – на хромосомах 1AL, 5A, 4R, 5R и 7R [Martinez et al., 1994]. У ячменя выявлено три локуса, повышающих частоту образования эмбриоидов [Игнатова, 2011]. У

рапса идентифицировано 16 генов, связанных с экспрессией микроспориального эмбриогенеза, а также выявлена корреляция между количественной экспрессией этих генов и эмбриогенным потенциалом разных сортов [Malik et al., 2007; Krzewska et al., 2012].

Анализ отзывчивости изученных гибридов яровой мягкой пшеницы, полученных при реципрокных скрещиваниях (табл. 3), показал, что частота образования эмбриоидов зависит и от направления скрещивания, что совпадает с данными других исследователей [Basay, Ellialtıođlu, 2013]. Это дает основание предположить участие в контроле признака не только ядерных, но и цитоплазматических генов, как показано в работе [Орлов, 2001].

Таблица 3. Отзывчивость пыльников гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы, полученных при реципрокных скрещиваниях, в культуре *in vitro*

родословная гибридов 1-го поколения	отзывчивость, %
Скала х Жница	21.43±4.35
Жница х Скала	4.76±1.01
Скала х Симбирка	27.78±3.2
Симбирка х Скала	4.02±0.90
Скала х Московская 35	24.07±2.4
Московская 35 х Скала	5.56±1.46
Жница х Московская 35	85.53±9.85
Московская 35 х Жница	13.40±3.26
Жница х Симбирка	8.11±1.44
Симбирка х Жница	6.10±1.05
Московская 35 х Симбирка	3.77±0.80
Симбирка х Московская 35	35.52±5.82

В целом, можно сделать вывод о том, что генотипы, используемые в селекционных программах Башкирского НИИСХ УФИЦ РАН, перспективны в качестве донорных растений при введении в культуру *in vitro* изолированных пыльников. Из 16 протестированных родительских генотипов только 3 оказались неотзывчивыми на условия культуры *in vitro*, остальные же характеризовались достаточно высокой отзывчивостью (табл. 1). Эти генотипы могут быть использованы для создания константных гомозиготных линий и включаться в селекционный процесс в качестве исходных форм.

Как свидетельствуют полученные данные, не следует прогнозировать отзывчивость гибридов 1-го поколения на условия культуры *in vitro* изолированных пыльников, основываясь только на результатах отзывчивости родительских форм (например, неотзывчивые генотипы Э43018 и Тулайковская золотистая и их гибрид, характеризующийся отзывчивостью, составляющей 16.79±4.44%, см. табл. 2). По-видимому, перспективность использования гибридных комбинаций в биотехнологии андроклиной гаплоидии можно оценить пока только эмпирическим путем. Необходимость понимания механизмов, отвечающих за индукцию эмбриогенеза и частоту образования эмбриоидов, на сегодняшний день представляется весьма актуальной проблемой.

Исследование выполнено в рамках Договора о творческом сотрудничестве между Уфимским Институтом биологии УФИЦ РАН и Башкирским НИИ СХ УФИЦ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. От микроспоры – к сорту. М.: Наука. 2010. 178 с.
2. Горбунова В.Ю., Круглова Н.Н. Методические аспекты культивирования изолированных пыльников пшеницы. Уфа: БНЦ УрО АН СССР. 1988. 20 с.
3. Горбунова В.Ю., Круглова Н.Н. Индукция андрогенеза *in vitro* у яровой мягкой пшеницы. Оптимальная фаза микроспорогенеза // Известия РАН. Серия биол. 1997. № 6. С. 668-676.
4. Игнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*. Одесса: Астропринт. 2011. 224 с.
5. Круглова Н.Н. Периодизация развития пыльника злаков как методологический аспект изучения андрогенеза *in vitro* // Известия РАН. Серия биол. 1999. № 3. С. 275-281.
6. Круглова Н.Н. Микроспора злаков как модельная система для изучения путей морфогенеза: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 2002. 48 с.
7. Круглова Н.Н. Инновационная биотехнология андроклинии гаплоидии яровой мягкой пшеницы: эмбриологический подход // Аграрная Россия. 2009. № 1. С. 34–38.
8. Круглова Н.Н. Оптимизация биотехнологии получения растений пшеницы в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 3. С. 57-61.
9. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б. Стресс как фактор индукции андроклинии у злаков. Компетентный объект стрессового воздействия // Успехи соврем. биологии. 2001. Т. 121. № 1. С. 67–78.
10. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б. Методические рекомендации по использованию морфогенетического потенциала пыльника в биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы. Уфа: Гилем. 2002. 39 с.
11. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. Эмбриологические основы андроклинии пшеницы. М.: Наука. 2005. 99 с.
12. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б., Сельдиминова О.А. Морфогенетический потенциал спорогенных клеток пыльника злаков // Успехи соврем. биологии. 2000. Т. 120. № 5. С. 490–501.
13. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. Каллусогенез как путь морфогенеза в культуре пыльников злаков // Успехи соврем. биологии. 1997. Т. 117. Вып. 1. С. 83–94.
14. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. Стресс как фактор индукции андроклинии у злаков. Стресс-реакция *in situ* морфогенных спорогенных клеток пыльника // Успехи соврем. биологии. 2001. Т. 121. № 4. С. 378–387.
15. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Батыгина Т.Б. Эмбриоидогенез как путь морфогенеза в культуре изолированных пыльников злаков // Успехи соврем. биологии. 1995. Т. 115. Вып. 6. С. 692–705.
16. Круглова Н.Н., Дубровная О.В. Морфогенез андроклинных каллусов злаков *in vitro* // Физиол. и биох. культ. раст. 2011. Т. 43. № 1. С. 15–25.
17. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Начальный этап андроклинии // Успехи соврем. биологии. 2006а. Т. 126. № 5. С. 462–471.
18. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Стрессовая индукция андроклинии // Успехи соврем. биологии. 2006. Т. 126б. № 3. С. 275–285.

19. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Морфогенез в андроклинных каллусах злаков: цитогистологические особенности // Успехи соврем. биологии. 2010. Т. 130. № 3. С. 247–257.
20. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
21. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Пути морфогенеза *in vitro* клеток андроклинного каллуса пшеницы // Физиол. раст. и генетика. 2013. Т. 45. С. 382–389.
22. Орлов П.А. Взаимодействие ядерных и цитоплазматических генов в детерминации развития растений. Минск: Национальная Академия наук Беларуси. 2001. 170 с.
23. Основы биотехнологии растений / Б.Р. Кулуев, Н.Н. Круглова, А.А. Зарипова, Р.Г. Фархутдинов. Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. 244 с.
24. Сатарова Т.Н., Черчель В.Ю., Черенков А.В. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспекты гаплоидии. Днепропетровск: Новая идеология, 2013. 552 с.
25. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Андроклиный эмбриоидогенез *in vitro* у злаков // Успехи совр. биологии. 2014. Т. 134. № 5. С. 476–487.
26. Суханов В.М. Андроклиния и ее особенности у пшеницы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1983. 24 с.
27. Advances in Haploid Production in Higher Plants / [Eds. A.Touraev, B.P.Forster, S.M. Jain]. Springer Netherlands, 2009. 348 p. DOI: [10.1007/978-1-4020-8854-4](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8854-4)
28. Alheit K.V., Reif J.C., Maurer H.P., Hahn V., Weissmann E.A., Miedaner T., Würschum T. Detection of segregation distortion loci in triticale (*x Triticosecale* Wittmack) based on a high-density DArT marker consensus genetic linkage map // BMC Genomics. 2011. V. 12. P. 380. DOI: [10.1186/1471-2164-12-380](https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-380)
29. Basay S., Ellialtıođlu S.S. Effect of genotypical factors on the effectiveness of anther culture in eggplant (*Solanum melongena* L.) // Turk. J. Biol. 2013. V. 37. P. 499–505. DOI: [10.3906/biy-1210-38](https://doi.org/10.3906/biy-1210-38)
30. Begheyn R.F., Roulund N., Vangsgaard K., Kopecký D., Studer B. Inheritance patterns of the response to *in vitro* doubled haploid induction in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) // Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 2017. V. 130. P. 667–679. DOI: [10.1007/s11240-017-1255-y](https://doi.org/10.1007/s11240-017-1255-y)
31. Belinskaya E.V. Inheritance of potential for *in vitro* androgenesis in spring barley // Cytol. Genet. 2008. V. 42. P. 237-245. DOI: [10.3103/S009545270804004X](https://doi.org/10.3103/S009545270804004X)
32. Bevitori R., Popielarska-Konieczna M., dos Santos E.M. et al. Morpho-anatomical characterization of mature embryo-derived callus of rice (*Oryza sativa* L.) suitable for transformation // Protoplasma. 2014. V. 251. P. 545–554. DOI: [10.1007/s00709-013-0553-4](https://doi.org/10.1007/s00709-013-0553-4)
33. Chen X.-W., Cistué L., Muñoz-Amatriáin M., Sanz M., Romagosa I., Castillo A.-M., Vallés M.-P. Genetic markers for doubled haploid response in barley // Euphytica. 2007. V. 158. P. 287–294. DOI: [10.1007/s10681-006-9310-5](https://doi.org/10.1007/s10681-006-9310-5)
34. Datta S.K. Androgenesis in cereals // Current trends in the embryology of Angiosperms / Eds. Bhojwani S.S., Soh W.Y. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad. Publ, 2001. P. 471-488. DOI: [10.1007/978-94-017-1203-3_19](https://doi.org/10.1007/978-94-017-1203-3_19)
35. Dhooghe E., Van Laere K., Eeckhaut T., Leus L., Van Huylenbroeck J. Mitotic chromosome doubling of plant tissues *in vitro* // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2011. V. 104. P. 359-373. DOI: [10.1007/s11240-010-9786-5](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9786-5)
36. Dong X., Xu X., Miao J., Li L., Zhang D., Mi X., Liu C., Tian X., Melchinger A.E., Chen S. Fine mapping of qhir1 influencing *in vivo* haploid induction in maize // Theor. Appl. Genet. 2013. V. 126. P. 1713-1720. DOI: [10.1007/s00122-013-2086-9](https://doi.org/10.1007/s00122-013-2086-9)

37. Doubled Haploidy in Model and Recalcitrant Species / Ed. Segui-Simarro J.M. Front. Plant Sci. 2016. V. 6. DOI: [10.3389/978-2-88919-783-5](https://doi.org/10.3389/978-2-88919-783-5)
38. Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation // Plant Biotechnology Journal. 2010. V. 8. P. 377–424. DOI: [10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x)
39. El-Hennawy M.A., Abdalla A.F., Shafey S.A., Al-Ashkar I.M. Production of doubled haploid wheat lines (*Triticum aestivum* L.) using anther culture technique // Ann. Agricult. Sci. 2011. V. 56. P. 63-72.
40. Ferrie A.M.R., Caswell K.L. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production // Plant Cell Tiss. Organ. Cult. 2011. V. 104. P. 301-309. DOI: [10.1007/s11240-010-9800-y](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9800-y)
41. Ferrie A.M.R., Mollers Ch. Haploids and doubled haploids in Brassica spp. for genetic and genomic research // Plant Cell Tiss. Organ. Cult. 2011. V. 104. P. 375-386. DOI [10.1007/s11240-010-9831-4](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9831-4)
42. Germana M.A. Anther culture for haploid and doubled haploid production // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2011. V. 104. P. 283-300. DOI: [10.1007/s11240-010-9852-z](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9852-z)
43. Gorbunova V.Yu., Kruglova N.N., Abramov S.N. The Induction of Androgenesis *in vitro* in Spring Soft Wheat. Balance of Exogenous and Endogenous Phytohormones // Biol. Bull. 2001. V. 28. P. 25–30. DOI: [10.1023/A:1026602603527](https://doi.org/10.1023/A:1026602603527)
44. Hu H., Schrag T.A., Peis R. et al. The Genetic Basis of Haploid Induction in Maize Identified with a Novel Genome-Wide Association Method // GENETICS. 2016. V. 202. P. 1267-1276. DOI: [10.1534/genetics.115.184234](https://doi.org/10.1534/genetics.115.184234)
45. Kahrizi D., Mahmood S., Bakhshi Khanik G., Mirzaei M. Effect of genotype on androgenesis in barley (*Hordeum vulgare* L.) // Biharean Biologist. 2011. V. 5. P. 132-134.
46. Krzewska M., Czyczyło-Mysza I., Dubas E. et al. Quantitative trait loci associated with androgenic responsiveness in triticale (*Triticosecale* Wittm.) anther culture // Plant Cell Rep. 2012. V. 31. P. 2099–2108. DOI: [10.1007/s00299-012-1320-2](https://doi.org/10.1007/s00299-012-1320-2)
47. Kumari M., Clarke H.J., Small I., Siddique K.H. Albinism in plants: a major bottleneck in wide hybridization, androgenesis and doubled haploid culture // Crit. Rev. Plant Sci. 2009. V. 28. P. 393–409. DOI: [10.1080/07352680903133252](https://doi.org/10.1080/07352680903133252)
48. Malik M.R., Wang F., Dirpaul J.M. et al. Transcript profiling and identification of molecular markers for early microspore embryogenesis in *Brassica napus* // Plant Physiol. 2007. V. 144. P. 134–154. DOI: [10.1104/pp.106.092932](https://doi.org/10.1104/pp.106.092932)
49. Martinez I., Bernard M., Nicolas P., Bernard S. Study of androgenetic performance and molecular characterization of a set of wheat-rye addition lines // Theor. Appl. Gen. 1994. V. 89. P. 982–990. DOI: [10.1007/BF00224528](https://doi.org/10.1007/BF00224528)
50. Nielsen N.H., Andersen S.U., Stougaard J. et al. Chromosomal regions associated with the *in vitro* culture response of wheat (*Triticum aestivum* L.) microspores // Plant Breed. 2015. V. 134. P. 255–263. DOI: [10.1111/pbr.12257](https://doi.org/10.1111/pbr.12257)
51. Pershina L.A., Osadchaya T.S., Badaeva E.D. et al. Androgenesis in Anther Cultures of Cultivars and a Promising Form of Spring Common Wheat of West Siberia Differing in the Presence or Absence of Wheat–Alien Translocations // Vavilov. Zhurn. Gen.Sel. 2013. V. 17. P. 40-49. DOI: [10.1134/S2079059713040096](https://doi.org/10.1134/S2079059713040096)
52. Portemer V., Renne Ch., Guillebaux A., Mercier R. Large genetic screens for gynogenesis and androgenesis haploid inducers in *Arabidopsis thaliana* failed to identify mutants // Front. Plant Sci. 2015. V.6. DOI: [10.3389/fpls.2015.00147](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00147)

53. Redha A., Suleman P. Effects of exogenous application of polyamines on wheat anther cultures // *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 2011. V. 105. P. 345-353. DOI: [10.1007/s11240-010-9873-7](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9873-7)
54. Ren J., Wu P., Trampe B. et al. Novel technologies in doubled haploid line development // *Plant Biotechnol. Journ.* 2017. DOI: [10.1111/pbi.12805](https://doi.org/10.1111/pbi.12805)
55. Segui-Simarro J.M. Androgenesis Revisited // *Bot. Rev.* 2010. V. 76. P. 377-404. DOI: [10.1007/s12229-010-9056-6](https://doi.org/10.1007/s12229-010-9056-6)
56. Seldimiнова O.A., Kruglova N.N. Properties of the initial stages of embryoidogenesis *in vitro* in wheat calli of various origin // *Biol. Bull.* 2013. V. 40. P. 447–454. DOI: [10.1134/S1062359013050154](https://doi.org/10.1134/S1062359013050154)
57. Seldimiнова O.A., Kruglova N.N., Titova G.E., Batygina T.B. Comparative ultrastructural analysis of the *in vitro* microspore embryoids and *in vivo* zygotic embryos of wheat as a basis for understanding of cytophysiological aspects of their development // *Russ. J. Develop. Biol.* 2017. V. 48. P. 185–197. DOI: [10.1134/S1062360417030109](https://doi.org/10.1134/S1062360417030109)
58. Seldimiнова O.A., Titova G.E., Kruglova N.N. A complex morpho-histological approach to the *in vitro* study of morphogenic structures in a wheat anther culture // *Biol. Bull.* 2016a. V. 43. P. 121–126. DOI: [10.1134/S1062359016020084](https://doi.org/10.1134/S1062359016020084)
59. Seldimiнова O.A., Zaytsev D.Yu., Galin I.R., Kruglova N.N. Phytohormonal regulation of *in vitro* formation of wheat androgenic structures // *Научный результат. Серия физиология.* 2016b. Т. 2. С. 3-8. DOI: [10.18413/2409-0298-2016-2-1-3-8](https://doi.org/10.18413/2409-0298-2016-2-1-3-8)
60. Soriano M., Li H., Boutilier K. Microspore embryogenesis: establishment of embryo identity and pattern in culture // *Plant Reprod.* 2013. V. 26. P. 181-196. DOI: [10.1007/s00497-013-0226-7](https://doi.org/10.1007/s00497-013-0226-7)
61. Takahata V., Takahashi Y., Tsuwamoto R. Microspore Culture and Doubled Haploid Technology. Chapter 4 // *Biotechnology of Crucifers* / Ed. S.K. Gupta. NY: Springer, 2013. P. 45–62. DOI: [10.1007/978-1-4614-7795-2_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7795-2_4)
62. Titova G.E., Seldimiнова O.A., Kruglova N.N., Galin I.R., Batygina T.B. Phenomenon of “Siamese embryos” in cereals *in vivo* and *in vitro*: Cleavage polyembryony and fasciations // *Russ. J. Develop. Biol.* 2016. V. 47. P. 122–137. DOI: [10.1134/S1062360416030061](https://doi.org/10.1134/S1062360416030061)
63. Yan G., Liu H., Wang H., Lu Zh., Wang Y., Mullan D., Hamblin J., Liu Ch. Accelerated Generation of Selfed Pure Line Plants for Gene Identification and Crop Breeding // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. DOI: [10.3389/fpls.2017.01786](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01786)
64. Zur I., Dubas E., Krzewska M. et al. Hormonal requirements for effective induction of microspore embryogenesis in triticale (*xTriticosecale* Wittm.) anther cultures // *Plant Cell Rep.* 2015. V. 34. P. 47–62. DOI: [10.3389/fpls.2015.00424](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00424)
65. Zur I., Dubas E., Krzewska M. Current insights into hormonal regulation of microspore embryogenesis // *Doubled haploidy in model and recalcitrant species.* *Front. Plant Sci.*, 2016. P. 110-109. DOI: [10.3389/978-2-88919-783-5](https://doi.org/10.3389/978-2-88919-783-5)