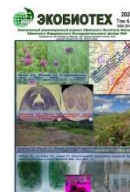




ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ОТЗЫВЧИВОСТЬ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* ИЗОЛИРОВАННЫХ ПЫЛЬНИКОВ ЗЛАКОВ

Сельдиминова О.А.^{1*}, Никонов В.И.²

¹Уфимский Институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, Уфа

²Башкирский НИИ СХ УФИЦ РАН, Уфа

*E-mail: o_seldimirova@mail.ru

Метод культуры *in vitro* изолированных пыльников – один из перспективных биотехнологических подходов в селекционных исследованиях сельскохозяйственных культур. Основная проблема, снижающая эффективность применения данного метода и широкое внедрение его в селекционную практику – низкая отзывчивость инокулированных пыльников. В связи с этим вопросы, посвященные пониманию механизмов, лежащих в основе смены гаплоидными клетками пыльника программы развития актуальны и практически значимы, что особенно касается хозяйственно ценных злаков.

Цель данной статьи – провести анализ работ, посвященных изучению различных факторов, влияющих на отзывчивость культивируемых *in vitro* пыльников злаков и дать оценку современного состояния в этой области исследований. Следует отметить, что в публикациях по анализируемой теме отсутствуют унифицированные термины, поэтому мы будем использовать термины, приведенные в работе [Круглова, 2009].

Ключевые слова: андроклиния ♦ культура *in vitro* пыльников ♦ отзывчивость ♦ злаки

FACTORS INFLUENCING RESPONSIVENESS IN THE *IN VITRO* CULTURE OF INSULATED CEREAL ANTHERS

Seldimirova O.A.^{1*}, Nikonov V.I.²

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

²Bashkirian Research Institute of Agriculture of UFRS RAS, Ufa

*E-mail: o_seldimirova@mail.ru

The method of isolated anther culture *in vitro* is one of the promising biotechnological approaches in breeding research of agricultural crops. The main problem that reduces the effectiveness of this method and its widespread introduction into breeding practice is the low responsiveness of inoculated anthers. In this regard, questions devoted to understanding the mechanisms underlying the replacement of the development program by haploid cells in the anther are relevant and practically significant, which is especially true for economically valuable cereals.

The aim of this article is to analyze the works devoted to the study of various factors affecting the responsiveness of cereal anthers cultivated *in vitro* and to assess the current state of affairs in this area of research. It should be noted that there are no unified terms in publications on the analyzed topic, so we will use the terms given in [Kruglova, 2009].

Keywords: androcliny ♦ anther culture *in vitro* ♦ responsiveness ♦ cereals

Поступила в редакцию: 5.07.2021

DOI: [10.31163/2618-964X-2021-4-2-107-120](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2021-4-2-107-120)

На сегодняшний день метод культуры *in vitro* изолированных пыльников – один из перспективных биотехнологических подходов в селекционных исследованиях сельскохозяйственных культур, в том числе хлебных злаков. В основе данного метода лежит биологический феномен андроклинии – формирования гаплоидного растения-регенеранта из клетки пыльника – микроспоры, развитие которой переключается с обычного гаметофитного пути на принципиально иной путь развития – спорофитный [Суханов, 1983; От микроспоры .., 2010; Dwivedi et al., 2015]. Преимущество андроклининой 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 андроклиной гаплоидии – один из немногих способов закрепления удачных комбинаций генов, в том числе, ценного гетерозисного эффекта гибридов 1-го поколения [От микроспоры..., 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; Abd El-Fatah et al., 2020; Pyushko et al., 2020, 2021; Garda et al., 2020; Samantaray et al., 2021].

В то же время, одна из основных проблем, снижающих эффективность применения данного метода и широкое внедрение его в селекционную практику – низкая отзывчивость инокулированных пыльников [Белинская, 2008; От микроспоры..., 2010; Salvo et al., 2018; Testillano, 2019; Abd El-Fatah et al., 2021]. Несмотря на большое количество в пыльнике гаплоидных клеток (от нескольких тысяч до миллионов в зависимости от вида и сорта), выход гаплоидов у злаков часто исчисляется долями процента или несколькими процентами [От микроспоры..., 2010].

В данном обзоре рассматривается ряд факторов, влияющих на отзывчивость в культуре *in vitro* пыльников.

Успешное применение метода культуры *in vitro* изолированных пыльников зависит от влияния экзогенных и эндогенных факторов. К экзогенным факторам относятся условия выращивания донорных растений, такие как интенсивность освещения, фотопериод день/ночь, температурный и водный режимы, обеспеченность микро- и макроэлементами. Эндогенные факторы тесно связаны с физиологическим статусом донорных растений, такими, как гормональный статус, обеспеченность клеток микро- и макроэлементами, генотип [От микроспоры..., 2010; Dunwell, 2010; Seguí-Simarro, 2010; Ferrie, Caswell, 2011; Germana, 2011; Neumann et al., 2020].

Литературные данные [Белинская, 2008, 2010; Kumari et al., 2009; Игнатова, 2011; El-Hennawy et al., 2011; Kahrizi et al., 2011; Redha, Suleman, 2011; Першина и др., 2013; Сатарова и др., 2013; Dong et al., 2013; Doubled Haploidy ..., 2016; Hu et al., 2016; Begheyn et al., 2017; Abd El-Fatah et al., 2020; Pyushko et al., 2020, и др.] свидетельствуют о том, что успешное культивирование *in vitro* изолированных пыльников злаков во многом зависит от генотипа донорного растения, определяющего также такие признаки, как частота образования эмбриоидов и/или каллусов, частота регенерации зеленых/альбиносных растений. Высказано мнение, что именно генотипическая обусловленность гаплопродукционного процесса препятствует реализации больших потенциальных возможностей культуры пыльников *in vitro* и сдерживает широкое внедрение этого метода в селекционную практику [Белинская, 2008б 2009]. Поэтому вопрос о природе андроклинии *in vitro* и механизмах генетического контроля этого явления, включая наследование, хромосомную локализацию и функционирование генов, детерминирующих спорофитное развитие микроспор, является актуальным как в теоретическом, так и прикладном аспектах [Белинская, 2008; Loyola-Vargas, Ochoa-Alejo, 2016; Tripathi, 2017; Žur et al., 2021].

На примере рекомбинантных гомозиготных линий ячменя [Белинская, 2008] было показано, что причиной трансгрессивной сегрегации (изменчивости количественного

признака у потомства, выходящей за пределы его значений, характерных для родительских особей) по способности к андроклинии *in vitro* и дальнейшей регенерации растений в популяциях удвоенных гаплоидов является дисперсное распределение у родительских сортов генов, контролирующих морфогенез в культуре пыльников *in vitro*, и их удачное (положительные трансгрессии) или неудачное (отрицательные трансгрессии) сочетание в геноме линий.

Такой характер наследования способности к андроклинии *in vitro* у дигаплоидных линий гибридного происхождения ячменя [Белинская, 2008; Mucoz-Amatriain et al., 2008], пшеницы [Torp et al., 2009; Abd El-Fatah et al., 2020], тритикале [Krzewska et al., 2012] и ржи [Grosse et al., 1997] свидетельствует о детерминации андрогенной способности несколькими генами или локусами количественных признаков (QTLs) с различной хромосомной локализацией.

У ячменя [Белинская, 2008] и пшеницы [Abd El-Fatah et al., 2020] выделены дигаплоидные линии, которые в несколько раз превышают исходные сорта и гибриды по признакам отзывчивости, что свидетельствует о существенной роли эффектов взаимодействия неаллельных генов в детерминации способности к андроклинии *in vitro*.

Авторы вышеуказанных работ делают заключение, что аддитивное действие генов и идентификация новых QTLs, отвечающих за отзывчивость, может способствовать оценке селективной значимости генотипов и в последующем способствовать селекционному процессу с помощью переноса генов от высокоотзывчивых генотипов к неотзывчивым.

Таким образом, генотип донорного растения – один из важнейших факторов, определяющих возможность практического использования биотехнологии андроклинии 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.

Еще один важнейший фактор – статус гаплоидной клетки пыльника, которая в условиях культуры *in vitro* дает начало андроклиническим структурам. В развитии пыльника существует определенное «окно», во время которого клетки пыльника (так называемые инициальные) способны переключаться с гаметофитного пути развития на спорофитный. Большинство авторов [Dunwell, 2010; Seguí-Simarro, 2010; От микроспоры..., 2010; Salos et al., 2012; Warchoń et al., 2019; Chaikam, Prasanna, 2020; Rivas-Sendra et al., 2020; Mayakaduwa, Silva, 2021] сходятся во мнении, что для многих видов «окно» находится в промежутке «до первого митоза – после первого митоза». По отношению к злакам достоверно установлено, что такой инициальной клеткой является микроспора в сильновакуолизированной фазе развития (согласно периодизации развития пыльника [Круглова, 1999]), морфогенетически компетентная к переключению программы развития с гаметофитной на спорофитную [Круглова и др., 2000; Круглова, 2001, 2002; Babbar et al., 2004; Clement et al., 2005; Datta, 2005; Maraschin et al., 2005; Круглова, Куксо, 2006; Seguí-Simarro, Nuez, 2008; От микроспоры ..., 2010; Germana, 2011; Guasmi et al., 2013]. Способность такой микроспоры к смене программы развития определяется ее цитологическими особенностями: интерфазное состояние, структурное сходство с зиготой растений и высокий уровень транскрипционной активности ядра [Круглова, 2001; Batygina, Vasilyeva, 2003]. Высказано мнение, что фаза «сильновакуолизированная микроспора» соответствует одной из критических стадий развития пыльника как сложной

интегрированной системы [Круглова, 2001, 2002; Batygina, Vasilyeva, 2003; От микроспоры ..., 2010]. Действие любого стрессового (для злаков, как правило, холодового) внешнего фактора способно нарушить «динамическое равновесие» этой чрезвычайно активной и «напряженной» клетки и индуцировать ее нетрадиционное спорофитное развитие [Круглова, 2001, 2002; Круглова, Куксо, 2006].

Немаловажен и такой важный фактор, как гормональный статус донорных растений и инокулируемых пыльников. Как правило, подбор оптимальной концентрации гормональных компонентов питательной среды для индукции формирования андроклинных структур в культуре изолированных пыльников *in vitro* носит достаточно случайный характер: исследователь проводит перебор довольно широкого диапазона концентраций различных гормонов и их сочетаний друг с другом. В результате подбор оптимальной концентрации гормона оказывается достаточно трудоемким и дорогостоящим процессом. Необходим поиск надежного подхода к прогнозированию этого параметра на основе определенных физиологических показателей пыльников, инокулируемых на индукционную питательную среду. Для повышения отзывчивости инокулированных пыльников рядом исследователей разработан методический подход, заключающийся в подборе адекватного баланса эндогенной ИУК, содержащейся в пыльниках, и экзогенного синтетического ауксина 2,4-Д, вводимого в индукционную питательную среду. Кроме того, такой подход обеспечивает принципиальную возможность регуляции путей морфогенеза в культивируемых *in vitro* пыльниках путем подбора адекватного для индукции желаемого пути баланса [Gorbunova et al., 2001; Зайцев и др., 2006; От микроспоры..., 2010].

На примере тритикале была предпринята попытка также выявить роль эндогенной АБК в отзывчивости культивируемых пыльников. Однако было показано, что корреляция между содержанием эндогенной АБК и отзывчивостью пыльников отсутствует, тем не менее существует отрицательная корреляция между содержанием АБК и регенерацией растений [Zur et al., 2012].

Из экзогенных факторов важнейшим шагом в протоколах культивирования пыльников является стрессовая предобработка пыльников, индуцирующая переключение программы развития клеток пыльника с гаметофитной на спорофитную. Пыльники подвергаются таким стрессовым обработкам, как азотное голодание, углеводное голодание, осотический шок, тепловой шок, интенсивность освещения [Touraev et al., 1997; От микроспоры..., 2010; Islam, Tuteja, 2012; Pourmohammad et al., 2021]. Но наиболее часто применяемая в биотехнологической практике – холодовая предобработка [Grewal et al., 2009; Ochatt et al., 2009; От микроспоры..., 2010; Islam, Tuteja, 2012; Ferrie et al., 2014; Garda et al., 2020 и мн.др.].

Также важным экзогенным фактором является состав индукционной питательной среды. Используются среды B5 [Gamborg et al., 1968], N6 [Chu, 1978], Мурасиге-Скуга [Murashige, Skoog, 1962], NLN-13 [Lichter, 1981], но наиболее часто используемой все же является среда PotatoII [Chuang, Ouyang, 1978].

Известно, что осмотический потенциал питательной среды определяет поступление в растительные клетки воды и ее выход. Нарушение осмотического потенциала – важный сигнал, также переключающий развитие клеток пыльника на спорофитный путь развития [Wojnarowicz et al., 2004]. Имеются сведения, что отзывчивость значительно повышается при введении в среду осмотиков, таких как маннит [Asif et al., 2014] или полиэтиленгликоль [Corral-Martínez, Seguí-Simarro 2012]. В питательных средах для культуры *in vitro* растительных клеток, тканей и органов, в том числе и пыльников злаков, в качестве гелеобразователя чаще всего используется агар-агар. Считается, что он не утилизируется культивируемыми клетками, а служит инертным носителем и обеспечивает осмотический

потенциал среды. Тем не менее, получены данные об отрицательном влиянии агар-агара на процессы индукции андроклинных структур и регенерации растений в культуре пыльников *in vitro*. Показано, что замена агар-агара на модифицированный крахмал положительно влияет на индукцию андроклинных структур в культуре *in vitro* пыльников ячменя [Белинская др., 2009; Білінська, Дульнев, 2014; 2015].

В ряде исследований было показано, что в поддержании осмотического потенциала питательной среды важную роль играют также и сахара [Guo, Pulli, 2000; Warchol et al., 2018; Zieliński et al., 2020; Samantarayet al., 2021]. Однако имеются сведения, что применение разных типов сахаров не оказывает значительного влияния на отзывчивость в культивируемых пыльниках риса [Arisandi et al., 2020].

Не менее важен тип регуляторов роста, вводимых в индукционную питательную среду. При культивировании пыльников злаков, как правило, в качестве ауксина используют 2,4-Д [Danwell, 2010; От микроспоры..., 2010; Asif, 2013]. На примере риса, однако, было показано, что наиболее эффективным было использование в качестве ауксина НУК, в то время как применение 2,4-Д не вызывало какого-либо ответа [Arisandi et al., 2020; Maharani et al., 2020]. У пшеницы повышение отзывчивости одинаково вызывалось обработкой пятью видами гербицидов с ауксин-подобным действием [Weigt et al., 2020]. Введение в питательную среду такого регулятора роста, как эпибрассинолид, значительно увеличивало отзывчивость, однако негативно сказывалось на пролиферации каллусов [Corral-Martínez, Seguí-Simarro 2014]. Для пшеницы, риса и ячменя созданы эффективные протоколы культивирования пыльников *in vitro* с использованием тидиазулона [Esteves, Belzile, 2018]. Отмечено ингибирующее действие гиббереллиновых кислот на формирование андроклинных структур в пыльниках тритикале [Yerzhebayeva et al., 2017]. Добавление ингибитора этилена значительно повышало каллусообразование в пыльниках риса только некоторых сортов и не влияло на отзывчивость у других [Arisandi et al., 2020], что еще раз подтверждает важную роль генотипа в успешном культивировании пыльников злаков *in vitro*.

Введение других добавок также оказывает влияние на отзывчивость культивируемых пыльников. Так, при культивировании пыльников риса критичным было добавление в среду ионов меди и серебра [Orłowska, Bednarek, 2020]. У тритикале и пшеницы отзывчивость повышалась при добавлении в индукционную питательную среду фитосульфокина [Asif et al., 2014]. Добавление в среду полиаминов положительно влияло на отзывчивость культивируемых пыльников пшеницы [Redha, Suleman, 2011]. Введение в среду аскорбиновой кислоты повышало выход андроклинных структур в культивируемых пыльниках тритикале [Yerzhebayeva et al., 2017].

Отзывчивость пыльников можно также повысить добавлением в индукционную питательную среду арабино-галактановых белков (АГБ). Установлено, что АГБ играют важную роль как *in vivo* [Ellis et al., 2010], так и *in vitro*, в том числе при культивировании изолированных пыльников злаков [Testillano et al., 2002; Borderies et al., 2004; Goralski et al., 2005; Letarte et al., 2006; Coskun, Savaskan, 2012; Makowska et al., 2017]. Считается, что морфогенетически компетентные микроспоры внутри пыльников и развивающиеся из них эмбриониды сами могут выделять в среду для культивирования активные вещества, в том числе и АГБ. Так, ко-культивирование с эмбрионидогенными микроспорами ячменя увеличивало количество глобулярных эмбрионидов в культуре *in vitro* микроспор овса [Sidhu, Davies, 2009]. Эффективность эмбрионидогенеза в культуре *in vitro* микроспор пшеницы повышали добавлением в среду для культивирования уже использованной среды [Patel et al.,

2004]. Следует отметить, что кондиционирование питательной среды культурами изолированных микроспор также значительно улучшало развитие *in vitro* изолированных зигот ячменя [Li, Devaux, 2001] и изолированных зиготических зародышей кукурузы [Paire et al., 2003]. Поэтому мнение [Borderies et al., 2004] о том, что неотзывчивость в культуре *in vitro* пыльников и низкая частота образования андроклинных структур связана с неспособностью микроспор и эмбриоидов/каллусов самим синтезировать АГБ, кажется вполне обоснованным.

Условия выращивания донорных растений также влияют на отзывчивость культивируемых пыльников. В работе [Rivas-Sendra et al., 2020] установлено, что дополнительная интенсивность освещения в теплице при выращивании донорных растений повышала отзывчивость по сравнению с растениями, выращенными в полевых условиях. В тоже время в работах [Білінська, 2013; Mishra, Rao, 2016; Pourmohammad et al., 2021] показано, что лучшей отзывчивостью характеризовались донорные растения, выращенные в поле. На примере ячменя показана важность температурного режима. Большая частота формирования андроклинных структур наблюдалась в пыльниках взятых у растений, выращенных в летне-осенний период, по сравнению с весенне-летним периодом [Білінська, 2013]. Высказано мнение, что сильное сезонное влияние на отзывчивость культивируемых пыльников представляет своего рода «биологические часы», которые контролируют процессы репродукции растений и критически важны для жизнеспособности клеток пыльника и их потенциала к формированию андроклинных структур [Zur et al., 2021].

С недавнего времени большое внимание уделяется роли про-/антиоксидантных систем в регуляции развития растений [Asif et al., 2013; Considine, Foyer, 2014; Kocsy et al., 2014; Schmitt et al., 2014; Dietz et al., 2016; Mittler, 2017; Mhamdi, van Breusegem, 2018; Noctor et al., 2018; Zur et al., 2021 и мн. др.]. Считается, что перепрограммирование клеток пыльника с гаметофитного пути развития на спорофитный связано с генерацией активных форм кислорода (АФК) [Zur et al., 2021]. В течение многих лет считалось, что АФК – нежелательные продукты аэробного метаболизма, способные вызвать сильный окислительный стресс, ведущий к разрушению клеточных компонентов, нарушению метаболизма и, в конечном итоге, к гибели клеток. Однако в последнее десятилетие установлено, что начиная с процесса оплодотворения и первого клеточного деления и в ходе всей последующей жизни растения, все процессы развития регулируются изменением редокс-статуса на организменном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях [Kocsy et al., 2013; Considine, Foyer 2014]. Более того, АФК играют важную сигнальную роль, информируя растение о стрессе, и участвуют в распознавании многих опасных факторов [Mittler, 2017; Schmitt et al., 2014, Noctor et al., 2018; Mhamdi, van Breusegem, 2018].

Среди АФК наибольший интерес вызывает перекись водорода (H_2O_2), поскольку это вещество способно диффундировать через клеточные мембраны, подготавливая их к триггерным химическим реакциям, и влияет на отзывчивые мишени, такие как метаболиты или белки. Однако другие АФК, такие, как синглетный кислород (1O_2) и супероксидный анион (O_2^-), не могут быть исключены из группы потенциальных кандидатов сигнальных молекул, вовлеченных в индукцию механизма реакции на стресс [Schmitt et al., 2014; Dietz et al., 2016; Noctor et al., 2018, Mhamdi, van Breusegem, 2018].

О генерации АФК, связанной с процессом эмбриогенеза в культуре *in vitro*, впервые сообщили [Earnshaw, Johnson, 1985; 1987], которые исследовали влияние антиоксидантов на развитие эмбриоидов дикой моркови. Продолжение их исследований привело к заключению, что восстановленная среда стимулирует деление клеток, тогда как более

окисленная среда необходима для индукции эмбриоидов и формирования паттерна [обзоры Yeung et al., 2005; Stasolla et al., 2004; 2008].

На примере тритикале и ячменя была показана высокая положительная корреляция между генерацией H_2O_2 и способностью клеток пыльника формировать эмбриоиды, подтверждая важную роль АФК в перепрограммировании клеток пыльника с гаметофитной программы развития на спорофитную. Однако высокая отзывчивость клеток пыльника и генерация H_2O_2 должны быть связаны с высокой активностью антиокислительных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы [Zur et al., 2021]. Это подтверждается данными о том, что в микроспорах кукурузы, приступающих к первому спорофитному делению, было отмечено значительное увеличение пулов супероксиддисмутазы и аскорбатпероксидазы, что дало возможность авторам также сделать вывод об активном участии этих ферментных систем в переключении программы развития микроспор и важную роль окислительного стресса в отзывчивости клеток пыльника на условия культуры *in vitro* [Uvakova et al., 2012]. В работе [Rodriguez-Serrano et al., 2012], продемонстрировано участие активных форм кислорода и такой сигнальной молекулы, как оксид азота, в инициации клеточных делений в стресс-индуцированных микроспорах ячменя.

Показано, что изменение редокс-состояния глутатиона (основного компонента редокс-буферной системы клетки, поддерживающего ее гомеостаз) – один из ключевых факторов, регулирующих рост и развитие как зародышей *in planta*, в том числе пшеницы [De Gara et al., 2003], так и эмбриоидов *in vitro* различного происхождения у разных видов растений [Stasolla, 2010; Bossio et al., 2013], в том числе в культуре *in vitro* изолированных пыльников [Maraschin et al., 2006], пшеницы и тритикале [Asif et al., 2013]. Экспериментальный перевод глутатиона в окисленное состояние за счет применения L-бутионин-S,R-сульфоксимиона способствует нормальному развитию апикальной меристемы побега эмбриоида, в которой экспрессируются свойственные для нее гены-маркеры [Stasolla, 2010], а добавление в питательные среды аскорбата и салициловой кислоты в качестве антиоксидантов глутатиона значительно увеличивает количество формирующихся эмбриоидов и регенерацию из них зеленых растений у пшеницы и тритикале [Asif et al., 2013]. Эти данные согласуются с данными о корреляции между содержанием в клетках перекиси водорода, уровнем супероксиддисмутазы и способностью к регенерации у эмбриоидов тритикале [Zur et al., 2009].

Таким образом, можно сделать заключение, что отзывчивость пыльников, культивируемых *in vitro*, зависит от многих взаимодействующих факторов. Для оценки морфогенетического потенциала культивируемых *in vitro* изолированных пыльников и повышения эффективности применения данного метода необходимо предпринимать комплексные исследования, которые позволят понять структурные аспекты и физиологические механизмы, лежащие в основе процесса репрограммирования клеток пыльника и отзывчивости их на условия культивирования.

Исследование выполнено в рамках Договора о творческом сотрудничестве между Уфимским Институтом биологии УФИЦ РАН и Башкирским НИИ СХ УФИЦ РАН на 2018-2023 гг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белинская Е.В. Наследование способности к андрогенезу *in vitro* у ярового ячменя // Цитология и генетика. 2008. Т. 42. № 4. С. 27–37.

2. Белинская Е.В., Тымчук С.М., Дульнев П.Г., Дербизова О.Ю. Использование высокоамилозного крахмала кукурузы в питательной среде для культивирования пыльников ячменя // Физиология и биохимия культ. растений. 2009. Т. 41. № 6. С. 539–546.
3. Білінська О.В. Вплив умов вирощування донорних рослин та складу живильного середовища на ефективність отримання гаплоїдів ріпаку ярого в культурі пиляків *in vitro* // Фактори експериментальної еволюції організмів. 2013. Т. 12. С. 190–194.
4. Білінська О.В. Дульнев П.Г. Морфогенетичний ефект і трофічні властивості хімічно модифікованого крохмалю Д-5аМ у культурі *in vitro* пиляків та ізольованих зародків ячменю ярого (*Hordeum vulgare* L.) // Фактори експериментальної еволюції організмів. 2015. Т. 17. С. 107–111.
5. Білінська О.В. Дульнев П.Г. Вплив гелеутворюючого компонента живильного середовища на ефективність отримання гаплоїдів ячменю ярого (*Hordeum vulgare* L.) у культурі пиляків *in vitro* // Фактори експериментальної еволюції організмів. 2014. Т. 15. С. 20–24.
6. Зайцев Д.Ю., Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Особенности индукции путей морфогенеза в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Клеточные культуры. 2006. Вып. 21. С. 54–61.
7. Игнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*. Одесса: Астропринт, 2011. 224 с.
8. Круглова Н.Н. Периодизация развития пыльника злаков как методологический аспект изучения андрогенеза *in vitro* // Известия РАН. Серия биол. 1999. № 3. С. 275–281.
9. Круглова Н.Н. Унификация терминологии при разработке инновационной биотехнологии андроклиной гаплоидии *in vitro* // Физиология и биохимия культ. растений. 2009. Т. 41. № 5. С. 476–486.
10. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б., Сельдимирова О.А. Морфогенетический потенциал спорогенных клеток пыльника злаков // Успехи соврем. биологии. 2000. Т. 120. № 5. С. 490–500.
11. Круглова Н.Н. Микроспора злаков как модельная система для изучения путей морфогенеза: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. СПб., 2002. 48 с.
12. Круглова Н.Н. Морфогенез в культуре пыльников пшеницы: эмбриологический подход. Уфа: Гилем, 2001. 203 с.
13. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Инициальная клетка андроклинии // Физиология и биохимия культ. раст. 2006. Т. 38. № 4. С. 279–291.
14. Основы биотехнологии растений / Б.Р. Кулуев, Н.Н. Круглова, А.А. Зарипова, Р.Г. Фархутдинов. Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. 244 с
15. От микроспоры – к сорту / Т.Б. Батыгина, Н.Н. Круглова, В.Ю. Горбунова, Г.Е. Титова, О.А. Сельдимирова. М.: Наука. 2010. 174 с.
16. Першина Л.А., Осадчая Т.С., Бадаева Е.Д., Белан И.А., Россеева Л.П. Изучение особенностей андрогенеза в культуре пыльников сортов и перспективной формы яровой мягкой пшеницы западносибирской селекции, различающихся наличием или отсутствием пшенично-чужеродных транслокаций // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2013. Т. 17. № 1. С. 40–49.
17. Сатарова Т.Н., Черчель В.Ю., Черенков А.В. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспекты гаплоидии. Днепрпетровск: Новая идеология, 2013. 552 с.

18. Суханов В.М. Андроклиния и ее особенности у пшеницы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 1983. 24 с.
19. Abd El-Fatah B.E.S., Sayed M.A., El-Sanusy S.A. Genetic analysis of anther culture response and identification of QTLs associated with response traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Mol. Biol. Rep. 2020. V. 47. № 12. P. 9289–9300. DOI: [10.1007/s11033-020-06007-z](https://doi.org/10.1007/s11033-020-06007-z)
20. Arisandi D.P., Paradisa F.V., Sugiharto B., Avivi S., Fanata W.I.D. Effect of ethylene inhibitor, type of auxin, and type of sugar on anther culture of local East Java aromatic rice varieties // J. Crop Sci. Biotechnol. 2020. V. 23. № 4. P. 367–373. DOI: [10.1007/s12892-020-00045-6](https://doi.org/10.1007/s12892-020-00045-6)
21. Asif M. Progress and Opportunities of Doubled Haploid Production. Cham; Heidelberg; New York; Dordrecht; London: Springer, 2013. 75 p. DOI: [10.1007/978-3-319-00732-8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-00732-8)
22. Asif M., Eudes F., Randhawa H., Amundsen E., Spaner D. Induction medium osmolality improves microspore embryogenesis in wheat and triticale // *In Vitro Cell Dev. Biol. – Plant*. 2014. V.50. № 1. P. 121–126. DOI: [10.1007/s11627-013-9545-5](https://doi.org/10.1007/s11627-013-9545-5)
23. Asif M., Eudes F., Randhawa H., Amundsen E., Spaner D. Phytosulfokine alpha enhances microspore embryogenesis in both triticale and wheat // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 2014. V. 116. № 1. P. 125–130. DOI: [10.1007/s11240-013-0379-y](https://doi.org/10.1007/s11240-013-0379-y)
24. Babbar Sh.B., Kumari N., Mishra J.K. *In vitro* androgenesis: events preceding its cytological manifestation // *Plant biotechnology and molecular markers* / Eds Srivastava P.S., Narula A., Srivastava Sh. New Delhi: Anamaya Publishers, 2004. P. 1–17. DOI: [10.1007/1-4020-3213-7](https://doi.org/10.1007/1-4020-3213-7)
25. Batygina T.B., Vasilyeva V.E. Periodization of development of reproductive structures. Critical periods // *Acta Biol. Cracov. Ser. Bot.* 2003. V. 45. № 1. P. 27–36.
26. 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. № 3. P. 667–679. DOI: [10.1007/s11240-017-1255-y](https://doi.org/10.1007/s11240-017-1255-y)
27. Bednarek P.T., Orłowska R. Plant tissue culture environment as a switch-key of (epi)genetic changes *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 2020. V. 140. № 3. P. 245–257. DOI: [10.1007/s11240-019-01724-1](https://doi.org/10.1007/s11240-019-01724-1)
28. Borderies G., Behec M., Rossignol M., Lafitte C., Le Deunff E., Beckert M., Dumas C., Matthys-Rochon E. Characterisation of proteins secreted during maize microspore culture: arabinogalactan proteins (AGPs) stimulate embryo development // *Eur. J. Cell. Biol.* 2004. V. 83. № 5. P. 205–212. DOI: [10.1078/0171-9335-00378](https://doi.org/10.1078/0171-9335-00378)
29. Bossio E., Diaz Paleo A., del Vas M., Baroli I., Acevedo A., Rios R.D. Silencing of the glutathione biosynthetic pathway inhibits somatic embryogenesis in wheat // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 2013. V. 112. № 2. P. 239–248. DOI: [10.1007/s11240-012-0228-4](https://doi.org/10.1007/s11240-012-0228-4)
30. Chaikam V., Prasanna B.M. Doubled Haploid Technology for Rapid and Efficient Maize Breeding // *Accelerated Plant Breeding* / Eds Gosal S., Wani S. V. 1. Cham: Springer, 2020. P. 257–292. DOI: [10.1007/978-3-030-41866-3_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-41866-3_11)
31. Clement C., Sangwan R.S., Sangwan-Norreel B. Microspore embryo induction and development in higher plants: cytological and ultrastructural aspects // *Haploids in Crop Improvement II. Biotechnology in Agriculture and Forestry*. V. 56. / Eds Don Palmer C., Keller W.A., Kasha K.J. Berlin, Heidelberg: Springer, 2005. P. 53–72. DOI: [10.1007/3-540-26889-8_4](https://doi.org/10.1007/3-540-26889-8_4)
32. Corral-Martínez P., Seguí-Simarro J.M. Efficient production of callus-derived doubled haploids through isolated microspore culture in eggplant (*Solanum melongena* L.) // *Euphytica*. 2012. V. 187. № 1. P. 47–61. DOI: [10.1007/s10681-012-0715-z](https://doi.org/10.1007/s10681-012-0715-z)

33. Chu C.-C. The N6 medium and its application to anther culture of cereal crops // Plant Tissue Culture: Proc. Symp. – Peking: Sci. Press, 1978. P. 43–45.
34. Chuang Ch.-Ch., Ouyang T.-W. A set of potato media for wheat anther culture // Sympos. on Plant Tissue Culture: Proceed. Peking: Sci. Press., 1978. P. 52–56.
35. Coskun Y., Savaskan C. Advances in isolated microspore culture for the production of plant regeneration of Turkish durum wheat genotypes // J. Biotechnol. 2012. V. 161. Suppl. P. 47. DOI: [10.1016/j.jbiotec.2012.07.155](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.07.155)
36. Datta S.K. Androgenic haploids: factors controlling development and its application in crop improvement // Curr. Sci. 2005. V. 89. № 11. P. 870–1878.
37. De Gara L., de Pinto M.C., Moliterni V.M.C., Egidio M.G.D. Redox regulation and storage processes during maturation in kernels of *Triticum durum* // J. Exp. Bot. 2003. V. 54. № 381. P. 249–258. DOI: [10.1093/jxb/erg021](https://doi.org/10.1093/jxb/erg021)
38. 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. № 7. P. 1713–1720. DOI: [10.1007/s00122-013-2086-9](https://doi.org/10.1007/s00122-013-2086-9)
39. Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation // Plant Biotechnol. J. 2010. V. 8. № 4. P. 377–424. DOI: [10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x)
40. Dwivedi S.L., Britt A.B., Tripathi L., Sharma S., Upadhyaya H.D., Ortiz R. Haploids: constraints and opportunities in plant breeding // Biotechnol. Adv. 2015. V. 33. № 6. P. 812–829. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2015.07.001](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.001)
41. Dhoooghe E., Van Laere K., Eeckhaut T., Leus L., Van Huylenbroeck J. Mitotic chromosome doubling of plant tissues *in vitro* // Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 2011. V. 104. № 3. P. 359–373 DOI: [10.1007/s11240-010-9786-5](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9786-5)
42. Doubled Haploidy in Model and Recalcitrant Species / Ed. Segui-Simarro J.M. Front. Plant Sci. 2016. V. 6. 119 p. DOI: [10.3389/978-2-88919-783-5](https://doi.org/10.3389/978-2-88919-783-5)
43. 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. № 2. P. 63-72. DOI: [10.1016/j.aos.2011.05.008](https://doi.org/10.1016/j.aos.2011.05.008)
44. Ellis M., Egelund J., Schultz C.J. et al. Arabinogalactan-proteins: key regulators at the cell surface? // Plant Physiol. 2010. V. 153. № 2. P. 403–419. DOI: [10.1104/pp.110.156000](https://doi.org/10.1104/pp.110.156000)
45. Esteves P., Belzile F.J. TDZ in Cereal Gametic Embryogenesis // Thidiazuron: From Urea Derivative to Plant Growth Regulator / Eds Ahmad N., Faisal M. Singapore: Springer, 2018. P. 159–174. DOI: [10.1007/978-981-10-8004-3_7](https://doi.org/10.1007/978-981-10-8004-3_7)
46. Ferrie A.M.R., Caswell K.L. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production // Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 2011. V. 104. № 3. P. 301–309. DOI: [10.1007/s11240-010-9800-y](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9800-y)
47. Ferrie A.M.R., Irmen K.I., Beattie A.D., Rosnagel B.G. Isolated microspore culture of oat (*Avena sativa* L.) for the production of doubled haploids: effect of pre-culture and post-culture conditions // Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 2014. V. 116. № 1. P. 89–96. DOI: [10.1007/s11240-013-0385-0](https://doi.org/10.1007/s11240-013-0385-0)
48. Ferrie A.M.R., Mollers C. Haploids and doubled haploids in *Brassica* spp. for genetic and genomic research // Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 2011. V. 104. № 3. P. 375–386. DOI: [10.1007/s11240-010-9831-4](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9831-4)
49. Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // Experimental Cell Res. 1968. V. 50. № 1. P. 151–158. DOI: [10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)

50. Garda M., Hale B., Rao N., Lowe M., Bright M., Goodling S., Phillips G.C. Soybean androgenesis I: identification of pyramidal stressors in anther cultures that sustain cell divisions and embryo formation from isolated microspore cultures// *In Vitro Cell, Dev. Biol. – Plant*. 2020. V. 56. № 4. P. 415–429. DOI: [10.1007/s11627-020-10074-z](https://doi.org/10.1007/s11627-020-10074-z)
51. Germana M.A. Anther culture for haploid and doubled haploid production // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 2011. V. 104. № 3. P. 283–300. DOI: [10.1007/s11240-010-9852-z](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9852-z)
52. Goralski G., Rozier F., Matthys-Rochon E., Przywara L. Cytological features of various microspore derivatives appearing during culture of isolated maize microspores // *Acta Biol. Cracov. Ser. Bot.* 2005. V. 47. № 1. P. 75–83.
53. Gorbunova, V.Y., Kruglova, N.N. & Abramov, S.N. The Induction of Androgenesis in vitro in Spring Soft Wheat. Balance of Exogenous and Endogenous Phytohormones // *Biology Bulletin*. 2001. V. 28. № 1. P.25–30. DOI: [10.1023/A:1026602603527](https://doi.org/10.1023/A:1026602603527)
54. Grewal R.K., Lulsdorf M., Croser J., Ochatt S., Vandenberg A., Warkentin T.D. Doubled-haploid production in chickpea (*Cicer arietinum* L.): role of stress treatments // *Plant Cell Rep.* 2009. V. 28. № 8. P. 1289–1299. DOI: [10.1007/s00299-009-0731-1](https://doi.org/10.1007/s00299-009-0731-1)
55. Guasmi F., Elfalleh W., Hannachi Y. et al. Influence of various physical parameters on anther culture of barley // *J. Plant Nutr.* 2013. V. 36. № 5. P. 836–847. DOI: [10.1080/01904167.2012.759230](https://doi.org/10.1080/01904167.2012.759230)
56. Guo Y.D., Pulli S. Isolated microspore culture and plant regeneration in rye (*Secale cereale* L.) // *Plant Cell Rep.* 2000. V. 19. № 9. P. 875–880. DOI: [10.1007/s002990000194](https://doi.org/10.1007/s002990000194)
57. Hu H., Schrag T.A., Peis R., Unterseer S., Schipprack W., Chen S., Lai J., Yan J., Prasanna B.M., Nair S.K., Chaikam V., Rotarencu V., Shatskaya O.A., Zavalishina A., Scholten S., Schön C.-C., Melchinger A.E. The Genetic Basis of Haploid Induction in Maize Identified with a Novel Genome-Wide Association Method // *Genetics*. 2016. V. 202. № 4. P. 1267-1276. DOI: [10.1534/genetics.115.184234](https://doi.org/10.1534/genetics.115.184234)
58. Grosse B.A., Deimling S., Geiger H.H. Mapping of genes for anther culture ability in rye by molecular markers // *Vortr Pflanzenzüchtung*. 1997. № 35. P. 282–283.
59. Islam S.M.S., Tuteja N. Enhancement of androgenesis by abiotic stress and other pretreatments in major crop species // *Plant Sci.* 2012. V. 182. P. 134–144. DOI: [10.1016/j.plantsci.2011.10.001](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.10.001)
60. Piyushko M.V., Guchenko S.S., Romashova M.V. Intracallus and Intercallus Morphological Variability of Rice Doubled Haploids Obtained in *In Vitro* Androgenesis // *Russ. Agricult. Sci* 2021. V. 47. № 1. P. 11–16. DOI: [10.3103/S1068367421010080](https://doi.org/10.3103/S1068367421010080)
61. Piyushko M.V., Romashova M.V. Formation of Rice Tetraploids in *In Vitro* Androgenesis // *Russ. Agricult. Sci* 2020. V. 46. № 4. P. 332–336. DOI: [10.3103/S1068367420040084](https://doi.org/10.3103/S1068367420040084)
62. Kahrizi D., Mahmood S., Bakhshi Khanik G., Mirzaei M. Effect of genotype on androgenesis in barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Biharean Biologist*. 2011. V. 5. № 2. P. 132-134.
63. Krzewska M., Czyczyło-Mysza I., Dubas E. Gołębiowska-Pikania G., Golemić E., Stojalowski S., Chrupek M., Zur I. Quantitative trait loci associated with androgenic responsiveness in triticale (*x Triticosecale* Wittm.) anther culture // *Plant Cell Rep.* 2012. V. 31. № 11. P. 2099–2108. DOI: [10.1007/s00299-012-1320-2](https://doi.org/10.1007/s00299-012-1320-2)
64. 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)
65. Letarte J., Simion E., Miner M., Kasha K.J. Arabinogalactans and arabinogalactan-proteins induce embryogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) microspore culture // *Plant Cell Rep.* 2006. V. 25. № 12. P. 691–698. DOI: [10.1007/s00299-005-0013-5](https://doi.org/10.1007/s00299-005-0013-5)

66. Li H., Devaux P. Enhancement of microspore culture efficiency of recalcitrant barley genotypes // *Plant Cell Rep.* 2001. V. 20. № 6. P. 475–481. DOI: [10.1007/s002990100368](https://doi.org/10.1007/s002990100368)
67. Maharani A., Fanata W.I.D., Laeli F.N., Kim K.-M., Handoyo T. Callus Induction and Regeneration from Anther Cultures of Indonesian Indica Black Rice Cultivar// *J. Crop Sci. Biotechnol.* 2020. V. 23. № 1. P. 21–28. DOI: [10.1007/s12892-019-0322-0](https://doi.org/10.1007/s12892-019-0322-0)
68. Makowska K., Kałużniak M., Oleszczuk S., Zimny J., Czaplicki A., Konieczny R. Arabinogalactan proteins improve plant regeneration in barley (*Hordeum vulgare* L.) anther culture // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 2017. V. 131. № 2. P. 247–257. DOI: [10.1007/s11240-017-1280-x](https://doi.org/10.1007/s11240-017-1280-x)
69. Loyola-Vargas V.M., Ochoa-Alejo N. Somatic embryogenesis. An Overview // *Somatic embryogenesis: fundamental aspects and applications* / Eds Loyola-Vargas V.M., Ochoa-Alejo N. Cham: Springer International Publishing, 2016. P. 1–8. DOI: [10.1007/978-3-319-33705-0](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0)
70. Lichter R. Anther culture of *Brassica napus* L. in a liquid culture medium // *Z. Pflanzenphysiol.* 1981. V. 103. № 3. P. 229–237. DOI: [10.1016/S0044-328X\(81\)80155-9](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(81)80155-9)
71. Maraschin S.F., Caspers M., Potokina E., Wülfert F., Graner A., Spaink H.P., Wang M. cDNA array analysis of stress-induced gene expression in barley androgenesis // *Physiol. Plant.* 2006. V. 127. № 4. P. 535–550. DOI: [10.1111/j.1399-3054.2006.00673.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00673.x)
72. Maraschin S.F., de Priester W., Spaink H.P. et al. Androgenic switch: an example of plant embryogenesis from the male gametophyte perspective // *J. Exp. Bot.* 2005a. V. 56. № 417. P. 1711–1726. DOI: [10.1093/jxb/eri190](https://doi.org/10.1093/jxb/eri190)
73. Mayakaduwa, D.M.R.G., Silva, T.D. *In vitro* response of Indica rice microspores subjected to cold stress: a cytological and histological perspective // *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 2021. DOI: [10.1007/s11627-021-10177-1](https://doi.org/10.1007/s11627-021-10177-1)
74. Mishra R, Rao GJN (2016) *In-vitro* androgenesis in rice: advantages, constraints and future prospects // *Rice Sci.* 2016. V. 23. № 2. P. 57–68. DOI: [10.1016/j.rsci.2016.02.001](https://doi.org/10.1016/j.rsci.2016.02.001)
75. Mucoz-Amatriain M., Castillo A.M., Chen X.W., Cistue L., Valles M.P. Identification and validation of QTLs for green plant percentage in barley (*Hordeum vulgare* L.) anther culture // *Mol. Breed.* 2008. V. 22. № 1. P. 119–129. DOI: [10.1007/s11032-008-9161-y](https://doi.org/10.1007/s11032-008-9161-y)
76. Murashige T., Skoog F. A revised medium for growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. № 3. P. 473–497. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x)
77. Neumann KH., Kumar A., Imani J. Some Endogenous and Exogenous Factors in Cell Culture Systems // *Plant Cell and Tissue Culture – A Tool in Biotechnology.* Cham: Springer, 2020. DOI: [10.1007/978-3-030-49098-0_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-49098-0_8)
78. Ochatt S., Pech C., Grewal R., Conreux C., Lulsdorf M., Jacas L. Abiotic stress enhances androgenesis from isolated microspores of some legume species (Fabaceae) // *J. Plant Physiol.* 2009. V. 166. № 12. P. 1314–1328. DOI: [10.1016/j.jplph.2009.01.011](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.01.011)
79. Orłowska R., Bednarek P.T. Precise evaluation of tissue culture-induced variation during optimization of *in vitro* regeneration regime in barley // *Plant Mol. Biol.* 2020. V. 103. № 1–2. P. 33–50. DOI: [10.1007/s11103-020-00973-5](https://doi.org/10.1007/s11103-020-00973-5)
80. Paire A., Devaux P., Lafitte C., Dumas C., Matthys-Rochon E. Proteins produced by barley microspores and their derived androgenic structures promote *in vitro* zygotic maize embryo formation // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 2003. V. 73. № 2. P. 167–176. DOI: [10.1023/A:1022805623167](https://doi.org/10.1023/A:1022805623167)

81. Patel M., Darvey N.L., Marshall D.R., Berry J.O. Optimization of culture conditions for improved plant regeneration efficiency from wheat microspore culture // *Euphytica*. 2004. V. 140. № 3. P. 197–204. DOI: [10.1007/s10681-004-3036-z](https://doi.org/10.1007/s10681-004-3036-z)
82. 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: 147. DOI: [10.3389/fpls.2015.00147](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00147)
83. Pourmohammad, A., Moieni, A., Dehghani, H., Monfared S.R. Field-grown donor plants and arabinogalactan proteins improve microspore embryogenesis in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) // *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 2021. V. 57. № 3. P. 510–518. DOI: [10.1007/s11627-020-10152-2](https://doi.org/10.1007/s11627-020-10152-2)
84. Redha A., Suleman P. Effects of exogenous application of polyamines on wheat anther cultures // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 2011. V. 105. № 3. P. 345–353. DOI: [10.1007/s11240-010-9873-7](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9873-7)
85. Ren J., Wu P., Trampe B., Tian X., Lubberstedt T., Chen Sh. Novel technologies in doubled haploid line development // *Plant Biotechnol. Journ.* 2017. V. 15. № 11. P. 1361–1370. DOI: [10.1111/pbi.12805](https://doi.org/10.1111/pbi.12805)
86. Rivas-Sendra A., Corral-Martínez P., Camacho-Fernández C., Porcel R., Seguí-Simarro J.M. Effects of growth conditions of donor plants and *in vitro* culture environment in the viability and the embryogenic response of microspores of different eggplant genotypes // *Euphytica*. 2020. V. 216. № 11: 167. DOI: [10.1007/s10681-020-02709-4](https://doi.org/10.1007/s10681-020-02709-4)
87. Salas P., Rivas-Sendra A., Prohens J., Seguí-Simarro J.M. Influence of the stage for anther excision and heterostyly in embryogenesis induction from eggplant anther cultures // *Euphytica*. 2012. V. 184. № 2. P. 235–250. DOI [10.1007/s10681-011-0569-9](https://doi.org/10.1007/s10681-011-0569-9)
88. Salvo S., Cook J., Carlson A.R., Hirsch C.N., Kaeppler S.M., Kaeppler H.F. Genetic fine-mapping of a quantitative trait locus (QTL) associated with embryogenic tissue culture response and plant regeneration ability in maize (*Zea mays* L.) // *Plant Genome*. 2018. V. 11. № 2: 170111. DOI: [10.3835/plantgenome2017.12.0111](https://doi.org/10.3835/plantgenome2017.12.0111)
89. Samantaray S.J.A., Nicolas K.L.C., Katara J.L., Verma R.L., Parameswaran C., Devanna B.N., Kumar A., Dash B., Bhuyan S.S. Doubled Haploids in Rice Improvement: Approaches, Applications, and Future Prospects // *Rice Improvement* / Eds Ali J., Wani S.H. Cham: Springer, 2021. P. 425–447. DOI: [10.1007/978-3-030-66530-2_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-66530-2_12)
90. Seguí-Simarro J.M. Androgenesis Revisited // *Bot. Rev.* 2010. V. 76. № 3. P. 377–404. DOI: [10.1007/s12229-010-9056-6](https://doi.org/10.1007/s12229-010-9056-6)
91. Seguí-Simarro J.M., Nuez F. How microspores transform into haploid embryos: changes associated with embryogenesis induction and microspore-derived embryogenesis // *Physiol. Plant.* 2008. V. 134. № 1. P. 1–12. DOI: [10.1111/j.1399-3054.2008.01113.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01113.x)
92. Sidhu P.K., Davis P.A. Regeneration of fertile green plants from oat isolated microspore culture // *Plant Cell Rep.* 2009. V. 28. № 4. P. 571–577. DOI: [10.1007/s00299-009-0684-4](https://doi.org/10.1007/s00299-009-0684-4)
93. Soriano M., Li H., Boutilier K. Microspore embryogenesis: establishment of embryo identity and pattern in culture // *Plant Reprod.* 2013. V. 26. №3. P. 181–196. DOI: [10.1007/s00497-013-0226-7](https://doi.org/10.1007/s00497-013-0226-7)
94. Stasolla C. Glutathione redox regulation of *in vitro* embryogenesis // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. V. 48. № 5. P. 319–327. DOI: [10.1016/j.plaphy.2009.10.007](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.10.007)
95. Testillano P.S. Microspore embryogenesis: targeting the determinant factors of stress-induced cell reprogramming for crop improvement. *J. Exp. Bot.* 2019. V. 70. № 11. P. 2965–2978. DOI: [10.1093/jxb/ery464](https://doi.org/10.1093/jxb/ery464)

96. Testillano P.S., Raminez C., Domenech J., Coronado M.-J., Vergne Ph., Matthys-Rochon E., Risueño M.C. Young microspore-derived maize embryos show two domains with defined features also present in zygotic embryogenesis // *Int. J. Dev. Biol.-Plant*. 2002. V. 46. № 8. P. 1035–1047.
97. Torp A.M., Andersen S.B. Albinism in microspore culture // *Advances in haploid production in higher plants* / Eds Touraev A., Forster B.P., Jain S.M. Berlin: Springer, 2009. P. 155–160. DOI: [10.1007/978-1-4020-8854-4](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8854-4)
98. Touraev A., Vicente O., Heberle-Bors E. Initiation of microspore embryogenesis by stress // *Trends Plant Sci*. 1997. V. 2. № 8. P. 297–302. DOI: [10.1016/S1360-1385\(97\)89951-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)89951-7)
99. Tripathi M. Synthetic seed technology and its applications: a review // *Int. J. Plant Biotech*. 2017. V. 3. № 1. P. 11–16. DOI: [10.37628/ijpb.v3i1.157](https://doi.org/10.37628/ijpb.v3i1.157)
100. Warchoł M., Czyczyło-Mysza I., Marcińska I., Dziurka K., Noga A., Skrzypek E. The effect of genotype, media composition, pH and sugar concentrations on oat (*Avena sativa* L.) doubled haploid production through oat × maize crosses // *Acta Physiol. Plant*. 2018. V. 40. № 5: 93. DOI: [10.1007/s11738-018-2669-9](https://doi.org/10.1007/s11738-018-2669-9)
101. Weigt D., Siatkowski I., Magaj M., Tomkowiak A., Nawracała J. Impact of Ionic Liquids on Induction of Wheat Microspore Embryogenesis and Plant Regeneration // *Agronomy*. 2020. V. 10. № 6: 839. DOI: [10.3390/agronomy10060839](https://doi.org/10.3390/agronomy10060839)
102. Wojnarowicz G., Caredda S., Devaux P., Sangwan R., Clement C. Barley anther culture: assessment of carbohydrate effects on embryo yield, green plant production and differential plastid development in relation with albinism // *J. Plant Physiol*. 2004. V. 161. № 6. P. 747–755. DOI: [10.1078/0176-1617-01061](https://doi.org/10.1078/0176-1617-01061)
103. 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: 1786. DOI: [10.3389/fpls.2017.01786](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01786)
104. Yerzhebayeva R.S., Abekova A.M., Ainebekova B.A., Urazaliyev K.R., Bazylova T.A., Daniyarova A.K., Bersimbayeva G.Kh. Influence of different concentrations of ascorbic and gibberellic acids and pH of medium on embryogenesis and regeneration in anther culture of spring triticale // *Cytol. Genet*. 2017. V. 51. 3 6. P. 448–454. DOI: [10.3103/S0095452717060032](https://doi.org/10.3103/S0095452717060032)
105. Zieliński K., Krzewska M., Żur I., Juzoń K., Kopeć P., Nowicka A., Moravčíková J., Skrzypek E., Dubas E. The effect of glutathione and mannitol on androgenesis in anther and isolated microspore cultures of rye (*Secale cereale* L.) // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult*. 2020. V. 140. № 3. P. 577–592. DOI: [10.1007/s11240-019-01754-9](https://doi.org/10.1007/s11240-019-01754-9)
106. Żur I., Krzewska M., Dubas E., Gołębiowska-Pikania G., Janowiak F., Stojalowski S. Molecular mapping of loci associated with abscisic acid accumulation in triticale (*×Triticosecale* Wittm.) anthers in response to low temperature stress inducing androgenic development // *Plant Growth Regul*. 2012. V. 68. № 3. P. 483–492. DOI: [10.1007/s10725-012-9738-7](https://doi.org/10.1007/s10725-012-9738-7)
107. Zur I., Dubas E., Golemiec E., Szechyńska-Hebda M., Gołębiowska G., Wedzony M. Stress-related variation in antioxidative enzymes activity and cell metabolism efficiency associated with embryogenesis induction in isolated microspore culture of triticale (*×Triticosecale* Wittm.) // *Plant Cell Rep*. 2009. V. 28. № 8. P. 1279–1287. DOI: [10.1007/s00299-009-0730-2](https://doi.org/10.1007/s00299-009-0730-2)
108. Żur I., Dubas E., Krzewska M., Kopeć P., Nowicka A., Surówka E., Gawrońska K., Gołębiowska G., Juzoń K., Malaga S. Triticale and barley microspore embryogenesis induction requires both reactive oxygen species generation and efficient system of antioxidative defence // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult*. 2021. V. 145, № 2. P. 347–366. DOI: [10.1007/s11240-021-02012-7](https://doi.org/10.1007/s11240-021-02012-7)