

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Морфогенетические особенности репродуктивной биологии в селекции сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.)

Т.П. Жужжалова , А.А. Налбандян, Е.Н. Васильченко , Н.Н. Черкасова

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова, пос. ВНИИСС, Рамонский район, Воронежская область, Россия

 biotechnologiya@mail.ru; vasilchenko@inbox.ru

Аннотация. В обзоре рассмотрены процессы морфогенеза, задействованные при разработке методов размножения и создания нового исходного материала сахарной свеклы. Показано, что методы партикуляции, микроклонирования *in vitro* и клеточной селекции, отражая неполовые формы репродукции растений, повышают результативность селекционных экспериментов. Приведены данные применения методов культуры *in vitro*, сохраняющих склонность растений к вегетативному размножению и стимулирующих повышение генетической изменчивости при использовании мутагенов этилметансульфоната, методов генетической трансформации (бактериальные гены *mf2* и *mf3*) и селективных агентов (ионы Cd^{++} и абсцизовая кислота). Отражены результаты применения методов оценки степени самонесовместимости растений: флуоресцентной микроскопии, цитофотометрии, и определения уровня фитогормонов и содержания нуклеиновых кислот в ядрах клеток для прогнозирования завязываемости семян. Выявлено, что длительное самоопыление растений вызывает снижение фертильности пыльцевых зерен, стерилизацию мужских гамет и образование пистиллодийных цветков. Самофертильные растения, выделенные из этих линий, служат закрепителями стерильности. В обзоре продемонстрирована роль апомиксиса в реализации изменчивости при онто- и филогенетическом развитии растений. Отражены морфологические особенности развития половых и соматических клеток зародышей *in vitro* при формировании проростков на основе флоральной и вегетативной эмбриогении. Применение молекулярно-генетических маркеров SNP и SSR, обладающих высоким уровнем полиморфизма, оказалось эффективным для характеристики создаваемого селекционного материала гибридов при проведении скрещиваний. Интерес для селекции представляют исследования исходных материалов сахарной свеклы на наличие минисателлитных локусов TRs, позволившие выявлять растения-опылители O-типа (закрепитель стерильности) и растения MC (мужскостерильные) формы. Созданный материал может найти широкое использование в селекционной работе при создании гибридных форм, сокращая сроки селекции в 2–3 раза. Обсуждаются перспективы разработки и возможности применения новых методов и оригинальных схем в генетике, биотехнологии и селекции сахарной свеклы.

Ключевые слова: сахарная свекла; репродукция; морфогенез; эмбриогения; молекулярные маркеры; самонесовместимость; цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС); апомиксис.

Для цитирования: Жужжалова Т.П., Налбандян А.А., Васильченко Е.Н., Черкасова Н.Н. Морфогенетические особенности репродуктивной биологии в селекции сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(3):207-217. DOI 10.18699/VJGB-23-27

Morphogenetic peculiarities of reproductive biology in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) breeding

T.P. Zhuzhzhhalova , A.A. Nalbandyan, E.N. Vasilchenko , N.N. Cherkasova

The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, vil. VNISS, Ramonsky district, Voronezh region, Russia

 biotechnologiya@mail.ru; vasilchenko@inbox.ru

Abstract. This review considers the processes of morphogenesis used in the development of propagation methods and the creation of a new starting material for sugar beet. It has been demonstrated that methods of particulation, *in vitro* microcloning and cell breeding that reflect non-sexual forms of plant reproduction increase the effectiveness of breeding experiments. The review describes the *in vitro* culture methods maintaining a tendency in plants for vegetative propagation and stimulating increase in genetic variability of properties when mutagens such as ethyl methanesulfonate, alien genetic structures with *mf2* and *mf3* bacterial genes in *Agrobacterium tumefaciens* strains, and selective agents (Cd^{++} ions and abscisic acid) are incorporated into plant cells. It presents the results of using fluorescent microscopy, cytophotometry, biochemical analysis and determining the level of phytohormones and content of nucleic acids in nuclei for forecasting the seed setting ability. It has demonstrated that long self-pollination of plants causes decrease in fertility of pollen grains, resulting in the sterilization of male gametes and the appearance of pistillody flowers. Self-fertile plants isolated from these lines serve as sterility fixers, while the apomixis elements increased the ovule number, additional embryo sacs and embryos. A role of apomixis in contributing to variability in

the onto- and phylogenetic development of plants have been substantiated. The review reflects the morphological features of the *in vitro* development of sexual and somatic cells in embryos during the formation of seedlings based on floral and vegetative embryoidogeny. Use of the SNP and SSR (Unigenes) molecular-genetic markers having a high polymorphism level has appeared effective to characterize the developed breeding material and hybrid components when carrying out crossings. The study of sugar beet starting materials for the presence of TRs mini-satellite loci making it possible to reveal O-type plants-pollinators (sterility fixing agent) and MS-form plants are of interest for breeding as well. The selected material can be widely used in breeding to produce hybrids, allowing for a 2–3-fold reduction of the development period. The review also discusses the prospects for the development and implementation of new methods and original schemes in sugar beet genetics, biotechnology and breeding.

Key words: sugar beet; reproduction; morphogenesis; embryoidogeny; molecular markers; self-incompatibility; cytoplasmic male sterility (CMS); apomixis.

For citation: Zhuzhzhhalova T.P., Nalbandyan A.A., Vasilchenko E.N., Cherkasova N.N. Morphogenetic peculiarities of reproductive biology in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(3):207-217. DOI 10.18699/VJGB-23-27

Введение

Первые исследования репродуктивных свойств сахарной свеклы относятся к началу XX в. В этот период были определены систематическое положение и пути эволюции данного вида, проведено изучение эмбриологических закономерностей и морфологических свойств органов, тканей и клеток растений. Находят отражение исследования особенностей развития цветка сахарной свеклы, формирования пыльников, пыльцевых зерен. Установлены анатомические и эмбриологические закономерности развития семязачатка, зародыша и семени, подготавливается атлас рисунков по анатомии *Beta vulgaris*, где представлены основные морфологические признаки этого вида. В дальнейшем более глубокие исследования включали процессы формирования цветка и его элементов, стадии редукционного деления, этапы образования пыльцы, зародышевого мешка, формирования зародыша и семени. Это стало стартом широкого развертывания работ по генетике и селекции данной культуры и послужило базой для постановки селекционно-генетических программ, стимулируя создание первых многосемянных сортов-популяций сахарной свеклы (Мазлумов, 1970).

Вторая половина XX в. стала переходным периодом от популяционной селекции к созданию гибридов растений свеклы с признаками цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), раздельноплодности и повышенного уровня плоидности. Этому содействовали результаты изучения структуры кариотипа видов рода *Beta*, особенностей митоза, развития генеративных органов, оплодотворения и эмбриогенеза при создании полиплоидов и самоопыленных линий. Результаты позволили обосновать новое направление в селекционной работе по получению гетерозисных гибридов, обладающих высокой урожайностью и сахаристостью (Балков и др., 2017). Получению высокопродуктивных генотипов с ценными признаками способствовало изучение репродуктивных процессов, обеспечивающих генетическую изменчивость по морфологическим, цитологическим и биохимическим признакам (Simko et al., 2012; Stevanato et al., 2015).

Репродуктивная биология растительных организмов включает четыре главных уровня развития: молекулярный и субклеточный, клеточный, организменный и популяционный, отражающих свойства растений при воспроизведении потомства (Малецкий, 2005). Поэтому при изучении селекционного материала сахарной свеклы при-

меняют широкий круг методов, касающихся различных типов репродукции растений, с использованием генетического маркирования (Banzal et al., 2014), цитологии, эмбриологии, физиологии, морфологии (Paesold et al., 2012; Tomaszewska-Sowa et al., 2017). В процессе исследований учитывается специфика репродукции растений в отношении многовариантности способов образования индивидуумов (половой, бесполой, апомиксис), различных путей морфогенеза (эмбриогенез, эмбриоидогенез и гемморизогенез) и типов размножения (семенное, вегетативное) (Батыгина, Виноградова, 2007). Такой подход позволяет прогнозировать генотип потомства и открывает новые перспективы в управлении отдельными этапами онтогенеза и при разработке оригинальных селекционных программ (Малецкая, Малецкий, 2010; Бартенев и др., 2018).

В настоящее время в селекции растений наиболее активно применяются методы молекулярного маркирования. Высокая частота встречаемости молекулярных маркеров в геноме, обнаруживаемая с помощью универсальных и постоянно развивающихся методов анализа, позволяет использовать ДНК-маркеры в селекции (Хлесткина, 2013). Это дает возможность не только точно и быстро выявлять генетическое разнообразие популяций, линий и гибридов сахарной свеклы, но и определять селекционную ценность растительного материала, создаваемого опытным путем (Налбандян и др., 2020). Наиболее эффективным считается использование молекулярных маркеров ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats), SSR (Simple Sequence Repeats), SNP (Single Nucleotide Polymorphism).

Цель настоящей работы – обобщение литературных и собственных данных и методов, применяемых для характеристики морфогенетического потенциала сахарной свеклы на разных этапах ее развития.

Репродукция вегетативных тканей растений

Партикуляция. Для стабилизации наиболее ценных признаков и свойств селекционного материала сахарной свеклы часто используют способность растений к размножению вегетативным путем, что обусловлено особенностями морфолого-анатомического строения корня, стебля, ростовых почек и их преобразованием в онтогенезе.

Процессы роста и развития растений после прорастания семян включают формирование листового аппарата и

корнеплодов. Обычно в этот период верхняя часть корнеплода – «головка» – представляет собой куполообразный укороченный стебель, где листья располагаются по типу розетки. В центре розетки имеется верхушечная почка, у основания листьев – пазушные почки, формирующиеся путем органогенеза.

Успех вегетативного размножения в зимний период надежно определяется предварительным использованием процесса яровизации, обеспечивающего эпигенетические изменения экспрессии генов, вызывающих развитие растений после яровизации (Шевелуха, 1992; Лутова и др., 2010). Наблюдаемая активизация меристематических тканей (феллоген, камбий), стимулирующая на корнеплодах развитие верхушечной и пазушной почек, а затем центрального и боковых побегов, обеспечивала быстрое размножение селекционного материала путем травматической партикуляции (Барыкина и др., 2004). Для этого отобранные из суперэлиты корнеплоды (педигри) разделяли на 4–8 частей, где одну часть клонировали, а при выращивании остальных получали семена.

Недостатками этого метода были значительная длительность (до 5 лет) создания выровненного материала, ограниченное количество размноженных клонов и большая трудоемкость процесса. Вместе с тем данный прием давал возможность в течение нескольких поколений сохранять в относительной чистоте генотипы с высокой урожайностью и сахаристостью. Настоящий метод нашел широкое распространение и применение в селекционных схемах на основе индивидуального отбора в сочетании с клонированием и гибридизацией (Балков и др., 2017).

Для ускорения размножения позднее был использован способ клонирования свеклы на базе развития боковых побегов (с 3–8 листьями) из пазушных почек корнеплода, а затем их укоренения. Метод давал возможность значительно увеличить количество укорененных побегов и выращенных растений. Однако этот способ не получил широкого распространения в селекции сахарной свеклы.

Способность растений сахарной свеклы к партикуляции является одним из резервов системы репродукции и в сочетании с семенным размножением позволяет обеспечивать пластичность организма, выживание и сохранение *B. vulgaris* как вида.

Микроклонирование. Наиболее перспективными для использования в селекции оказались биотехнологические методы массового вегетативного размножения растений в условиях *in vitro* (Murashige, 1974). Принципиальная основа данных методов заключается в способности соматических клеток при культивировании восстанавливать целостность организма со всеми его признаками (Атанасов, 1993).

Установлено, что вегетативные клетки формируют растение двумя путями: из каллусной ткани через регенерацию почек и эмбрионидов или в результате активации развития непосредственно из меристем апекса стебля, пазушных и спящих почек (Катаева, Бутенко, 1983; Rusea et al., 2020). Однако длительное пассирование каллуса приводило к изменению плоидности, накоплению генных мутаций, потере морфологического потенциала. Наиболее широкое распространение получило применение в качестве эксплантов меристемы побегов, а также листо-

вых пластинок, черешков, пыльников, семязачатков, зародышей и семян (Лейке и др., 1980). При использовании гормональной активизации этого материала наблюдалось развитие ростовых почек и проростков (Ильенко, 1983; Seman, Farago, 1988).

Наиболее подходящим методом для разработки микроклонирования сахарной свеклы оказалось использование апикальной меристемы, обладающей высокой генетической стабильностью клеток и их повышенной способностью к морфогенезу (Знаменская, 2010). Апикальная меристема может давать начало наземным органам растений, которые формируются по модульному типу (элемент побега включает: лист, междоузлие, пазушную почку), а стволовые клетки меристемы способны дифференцироваться и стимулировать развитие новых органов (Лутова и др., 2010). Существенной основой метода стало также уникальное свойство тотипотентности растительных клеток, способных при отделении от маточных растений и под воздействием экзогенных факторов культуральной среды восстанавливать растительный организм со всеми его свойствами (Шевелуха, 1992).

При разработке метода микроклонирования обязательным приемом было выращивание исходного материала для эксплантации в условиях закрытого грунта, что позволило снять инфицированность эксплантов в 1.5 раза (Знаменская, Жужжалова, 1989). Дальнейшее культивирование материала обязательно включало оптимизацию режима стерилизации верхушечной меристемы эксплантов при использовании 0.05 % раствора сулемы в течение 1–3 часов.

Следование оптимального гормонального баланса основных веществ: гиббереллина, 6-бензиламинопурина и кинетина в концентрации 0.2–0.3 мг/л, при соотношении этих компонентов в питательной среде 1:1:1, стимулировало морфогенез. При корнеобразовании эту роль выполняли индолилмасляная или индолилуксусная кислота в количестве 1 мг/л. При данных концентрациях число боковых побегов на один эксплант повысилось до 9–10 шт., прирост микроклонов – до 73.4 мм, а корнеобразование – до 74.3 %. Разработанный метод дал возможность получать неограниченное количество клонов от одного донора, сократив продолжительность селекционного периода вдвое, минуя двухлетний цикл развития сахарной свеклы (Знаменская, Жужжалова, 1989). Потомство созданных линий, благодаря тотипотентности, сохраняло в полевых условиях генотип, фенотип, плоидность, раздельноцветковость и способность закреплять признак ЦМС.

Для длительного использования созданного линейного материала в селекционной практике в настоящее время применяют трехлетний цикл селекционных, биотехнологических и агротехнических приемов (Колесникова, Жужжалова, 2018). На первом этапе отобранные гибридные генотипы вводят в культуру *in vitro* и затем переводят в генетический банк элитных клонов, обеспечивая длительность хранения ценных свойств материала. Второй этап включает микроразмножение элитных регенерантов, укоренение и перевод в почвенный субстрат теплиц для формирования штеклингов (небольших корнеплодов) массой около 100 г. На третьем этапе выращивают растения для получения семян элиты. Уборку семян осуществляют

раздельно. Растения МС-формы и гетерозисного опылителя срезают и обмолачивают индивидуально. Этот прием внес существенный вклад в селекционно-семеноводческий процесс при создании высокопродуктивных гибридов нового поколения во ВНИИ сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова (г. Рамонь, Воронежская область) и применяется в коммерческих целях.

Клеточная селекция. Селекция на клеточном уровне включает разработку методов культивирования изолированных клеток, органов и тканей растений, что позволяет расширить спектр наследственной изменчивости. Поэтому методы с добавлением в питательные среды различных химических и физических факторов, таких как: мутагенные вещества, генетические конструкции с чужеродными генами, селективные агенты и т. д., стимулируют изменчивость растительных организмов и повышают устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды (Дубровная, 2017; Kourelis, van der Hoorn, 2018).

Проведенные эксперименты показали, что мутаген этилметансульфонат оказывает стимулирующее воздействие на клетки черешков листьев сахарной свеклы в концентрации от 2 до 6 мМ в течение 30 мин (Hohmann et al., 2005; Васильченко и др., 2020б). Высокая способность к регенерации диплоидного растительного материала составляла 38.1–53.1 %, у гаплоидов достигала 71.3–87.5 %. Применение данного метода также обеспечивало генетическую изменчивость регенерантов путем повышения плоидности гаплоидов до диплоидного и полиплоидного уровня. Молекулярно-генетический анализ с использованием специфического SSR-маркера mSSCIR 47 позволил отобрать 9 линий, в генотипах которых под воздействием мутагена произошли изменения. Выращивание выделенных линий в условиях закрытого грунта дало возможность сохранить до 92 % микроклонов и получить небольшие корнеплоды массой от 30 до 89 г (Васильченко и др., 2020а). Исследования будут продолжены во ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова. Для дальнейшего изучения материала будет применен метод TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes), разработанный С.М. Mc Callum с коллегами (2000).

Эффективным оказалось использование генетических конструкций *Agrobacterium tumefaciens* с бактериальными генами *mf2* (*Bacillus thuringiensis*) и *mf3* (*Pseudomonas fluorescens*), индуцирующих неспецифическую устойчивость к грибным и вирусным патогенам (Dzhavakhia et al., 2005; Васильченко и др., 2009). Кокультивирование растительных тканей сахарной свеклы и *A. tumefaciens* с чужеродными генами *mf2* и *mf3* позволило создать генно-модифицированные растения сахарной свеклы, устойчивые к фузариозным гнилям, трансгенная природа которых была подтверждена молекулярным и биохимическим анализами, а также фитопатологической оценкой в закрытом грунте (Хуссейн и др., 2013; Васильченко и др., 2014). Всего было создано семь новых линий сахарной свеклы с геном *mf2* и восемь линий с геном *mf3*.

Интересным было воздействие ионов тяжелых металлов, в частности Cd^{2+} , на культивируемые проростки семян (Черкасова и др., 2020). Проведение нескольких отборов при концентрации 4 мМ ацетата кадмия ($Cd(CH_3CO_2)_2$) показало высокую адаптивную способность

и выживаемость регенерантов, достигающую 74.8 %, что свидетельствовало о повышенном уровне их устойчивости. Молекулярно-генетический анализ данных микроклонов выявил наличие определенных значимых SNP в гене *MTP4*, предположительно, играющих ключевую роль в формировании устойчивости к данному абиотическому фактору, что перспективно для современной селекции (Налбандян и др., 2019; Хуссейн и др., 2021).

Известно, что абсцизовая кислота (АБК) является стрессовым гормоном растений, играющим роль в механизмах повышения устойчивости организмов к засухе благодаря снижению устьичной проводимости и транспирации (Лутова и др., 2010). Абсцизовая кислота отслеживает в растениях абиотический стресс (засоление, засуха, температура), вызывая покой тканей растений (клетки, почки, листья) путем закрывания устьиц. Возможно также, что данный гормон выполняет важную роль в качестве стимулятора, запускающего процесс повышения устойчивости, который в дальнейшем развивается уже независимо от содержания этого вещества (Титов и др., 2007). Поэтому изучение свойств АБК при использовании в культуре *in vitro* может надежно способствовать созданию селекционного материала, устойчивого к засухе. В результате проведенных нами исследований выявлена оптимальная концентрация с (2.0–3.0 мг/л), обеспечивающая отбор устойчивых к засухе регенерантов сахарной свеклы в количестве 70.0–87.5 % (Черкасова и др., 2018, 2021). Это дает возможность использовать АБК для моделирования засухи при создании форм сахарной свеклы, толерантных к осмотическому стрессу.

Повышение адаптивных свойств регенерантов в репродуктивном цикле развития позволяет увеличивать спектр генетической изменчивости, создавать новый исходный материал и быстро его размножать.

Репродуктивная способность генеративных органов

Само- и перекрестная несовместимость

Сахарная свекла – однодомный гермафродитный вид, растениям которого свойственны перекрестное опыление и состояние самонесовместимости, препятствующее самооплодотворению. В популяциях сахарной свеклы различного происхождения наибольшую группу (65.3–78.1 %) составляют самонесовместимые растения. Эти растения при изоляции, после 1–2-кратного инцухта, не завязывают семена. Частота встречаемости самосовместимых (самофертильных) форм в сортовых популяциях очень незначительна и варьирует в пределах 4.3–12.9 % при фертильности пыльцевых зерен, достигающей 83.6–98.2 %. Самофертильные линии, как правило, характеризуются более высокими уровнем урожайности корнеплодов и сахаристостью, хотя инбредную депрессию у них по некоторым признакам полностью снять не удавалось.

Эксперименты показали, что у ряда форм самонесовместимость индивидуальных растений практически не меняется при изменении экологических условий их выращивания (Корниенко, Знаменская, 2001). Так, выращивание растений сахарной свеклы в различных экологических зонах почти не влияло на завязываемость семян, которая

была в среднем 7.4 % в Рамони (Воронежская область) и 6.3 % в Пржевальске (Киргизия). В то же время в работах ряда исследователей показано, что завязываемость семян при самоопылении растений в условиях пониженных температур значительно выше, чем при более высоких. Это открытие легло в основу метода репродукции семян при низких температурах, с помощью которого была создана обширная коллекция инбредных линий сахарной свеклы (Малецкий, Малецкая, 1996). Расхождения в результатах разных исследователей указывают на сложность процессов семенной репродукции у сахарной свеклы. Генетические и физиологические механизмы этих процессов требуют дальнейшего изучения и остаются важными вопросами в решении проблемы полового воспроизведения.

Согласно современным генетическим данным, система несовместимости у сахарной свеклы довольно сложная, гаметофитного типа и основана на комплементарном взаимодействии аллелей 2–4 S-локусов (Larsen, 1977). Эти данные также учитывались при создании линейного материала путем самоопыления и преодоления физиологического барьера само- и перекрестной несовместимости для успешного перехода от популяционной селекции к получению межлинейных гетерозисных гибридов.

Среди внутренних факторов, определяющих формирование семян при инкутировании, основное место занимает генетическая и гормональная регуляция процесса оплодотворения. Завязываемость семян у самосовместимых линий оставалась на уровне самоопыления или несколько снижалась. Внутрилинейные скрещивания частично совместимых линий повышали завязываемость семян в 1.5–13 раз. Перспективным приемом оказалось также проведение отбора отдельных растений внутри изучаемых линий, отличающихся по восприимчивости рыльца к пыльце и способности производить опыление. Такой отбор позволил создавать линейный материал с преимущественными признаками материнской или отцовской формы, что повышало эффективность близкородственных (внутрилинейных) скрещиваний (Корниенко и др., 2014).

Для определения степени несовместимости и изучения роста пыльцевых трубок использовали флуоресцентную микроскопию с модификацией метода для сахарной свеклы (Зайковская, Жужжалова, 1976; Вайсман и др., 1984). Метод стал основой для установления потенциальной семенной продуктивности растений уже в фазу цветения, что позволило выявлять завязываемость семян и осуществлять подбор пар непосредственно при гибридизации селекционного материала по активности роста пыльцевых трубок. Локализация реакции несовместимости четко выражалась в морфологическом изменении пыльцевых трубок, утолщениях, вздутиях, подавлении активности роста на рыльце пестика или в завязи, в зоне отложения оксалата кальция. Считается, что важную роль в росте пыльцевых трубок играют ионы Ca^{++} , являющегося одним из первых регуляторов прорастания пыльцы (Bednarska, 1989). Никакое иное вещество не способствует прорастанию, если нет ионов Ca^{++} .

По времени действия генов самонесовместимости и месту локализации их продуктов различают спорофитную и гаметофитную несовместимость. Морфологически это проявляется при спорофитном типе реакции – на рыльце

пестика, а при гаметофитной системе – в столбике. У сахарной свеклы, согласно современным представлениям, локализация реакции самонесовместимости соответствует типу, характерному для видов с гаметофитным контролем несовместимости (Вишнякова, 1998).

Показателем проявления генов несовместимости стало также содержание нуклеиновых кислот в ядрах клеток завязи и семязачатка сахарной свеклы, установленное методом цитофотометрии (Жужжалова и др., 2007). В случае совместимого опыления обычно в этих клетках наблюдалось увеличение количества РНК и суммы нуклеиновых кислот на ядро. Соотношение РНК/ДНК при несовместимом опылении оставалось неизменным, как и в неопыленных пестиках. Значительное увеличение количества РНК до 36 % отмечено после третьего дня задержки опыления. Возможно, что генетически детерминированный механизм несовместимости на данной стадии в молекулах ДНК, как и у других растений, служит показателем функциональных изменений в ядрах семязачатков, связанных с процессом оплодотворения (Ковалева, 1991). Это дает возможность предположить, что оплодотворение стимулирует процессы транскрипции и редупликации, которые способствуют увеличению содержания РНК и суммы нуклеиновых кислот на ядро. Ослабление барьера несовместимости коррелирует с накоплением РНК в клеточных ядрах. Полученные данные также свидетельствуют, что генетические и физиологические свойства несовместимости не выяснены и остаются важными вопросами при изучении этой проблемы.

Дальнейшие исследования показали, что процессы роста пыльцевых трубок сопровождаются также сложными перестройками в гормональной системе рыльца и столбика растений. Это подтверждается экспериментами по определению уровня эндогенных фитогормонов: этилена, ИУК, АБК, гиббереллинов, цитокининов, в спорофитных тканях пестика (Ковалева и др., 2016). Поэтому вопросы функционирования системы репродукции растений с выделением особой роли само- и перекрестной несовместимости остаются перспективными для изучения в будущем.

Использование данного признака является целесообразным приемом для преодоления барьера несовместимости в плане развития работ по гетерозисной селекции, включающем контролируемые скрещивания и получение межлинейных гибридов на фертильной основе.

Цитоплазматическая мужская стерильность

Известно, что у свеклы существует два типа цитоплазмы – нормальная (N) и стерильная (S), влияние которых регулируется двумя рецессивными генами, x и z (Owen, 1952). Полная мужская стерильность определяется как $Sxxzz$. Присутствие доминантных генов в гетерозиготном состоянии дает полустерильные формы $SXxzz$ и $SXzZz$. Однако многие причины возникновения и формирования ЦМС у свеклы до настоящего времени полностью не установлены и находятся на стадии дальнейшего более глубокого генетического изучения (Дыбшиц и др., 2010).

В селекционном процессе поддержание и стабилизацию признака ЦМС у отобранных форм сахарной свеклы осуществляют путем близкородственного размножения с закрепителем ЦМС, обладающим высокой фертиль-

ностью пыльцы и завязываемостью семян (Балков и др., 2017). Выявлению особенностей генетического разнообразия селекционного материала способствует использование ДНК-маркеров. Проведение микросателлитного (SSR) анализа дало возможность установить полиморфизм MC-форм, сростноплодных опылителей (ОП) сахарной свеклы и их гибридов путем определения величины уровня полиморфизма (PIC), установленного для каждого локуса (Налбандян и др., 2021). Применение SSR-маркеров Unigenes (9 пар праймеров) позволило четко дифференцировать материал на основе расчета генетических дистанций и выделить родительские компоненты, наиболее подходящие для проведения скрещиваний. Праймеры, характеризующиеся высоким полиморфизмом к SSR-локусам: Unigene 22373, Unigene 27833, Unigene 16898, Unigene 7492, Unigene 24552, рекомендованы для идентификации селекционных материалов сахарной свеклы (Налбандян и др., 2021).

Интерес для селекции представили также исследования исходных материалов сахарной свеклы на наличие минисателлитных локусов TRs, связанных с цитоплазматической мужской стерильностью (Nishizawa et al., 2000; Брагин и др., 2011). В результате экспериментального скрининга селекционного материала сахарной свеклы на основе минисателлитных локусов TR1 и TR3 выявлено присутствие митохондриальных геномов N- и S-типов (Федулова и др., 2022). Растения MC-форм содержали ампликоны размером 400 п. н. Растения-опылители O-типа (закрепитель стерильности) характеризовались наличием ДНК-ампликонов длиной 700 п. н. для праймера TR1 и 500 п. н. – для праймера TR3. Отобранный материал может найти широкое применение в селекционной работе при создании гибридов, сокращая сроки селекции в 2–3 раза (Каракотов и др., 2021).

В процессе селекционных исследований замечено, что многократное инцухтирование самофертильных линий характеризуется появлением мужской стерильности в виде формирования пестилодийных цветков (Ошевнев и др., 1986а, б). Вместо тычинок и пыльников в цветке на завязи формировались пестилодийные структуры – рыльца или семязачатки, но без зародышевых мешков. Фенотипическое расщепление потомств линейного материала в процессе селекции показало, что признак пестилодийности контролируется моногенно (Ошевнев, Грибанова, 2010). Формы растений со стерильными пыльниками были использованы в качестве материнского компонента межлинейных гибридов сахарной свеклы. Выделенные из этого материала фертильные растения с высокой степенью самосовместимости (самофертильности) стали служить закрепителями стерильных по пыльце форм при создании гибридов. Разработанная схема создания линий O-типа на основе признака пестилодийности стала завершающим этапом надежного перехода к селекции на гетерозис (Ошевнев, Грибанова, 2010).

Полученные результаты свидетельствуют, что стерилизация мужского гаметофита происходит разными путями, но в итоге приводит к гинодиции, т. е. к появлению в популяциях растений с обоеполями и женскими цветками. Дальнейшее изучение этого вопроса имеет важное значение для генетических исследований.

Апомиксис (агамоспермия)

Одно из центральных направлений в селекции растений – использование явления апомиксиса (агамоспермии). Данная своеобразная форма размножения, происходящая без слияния гамет, способна обеспечивать в ряде случаев материнскую наследственность, однородность потомства и высокую продуктивность в неограниченном ряду поколений. В связи с этим анализ морфогенетических процессов и изучение эмбриологических особенностей развития агамоспермных форм сахарной свеклы позволяют находить возможные пути практического применения апомиктического размножения в селекционном процессе.

Генетический полиморфизм способов размножения растений, происходящих без слияния гамет, обычно представлен двумя основными типами апомиксиса: **гаметофитным** и **спорофитным**, а также **эмбриондогенной** – образованием соматических зародышей в семязачатке и вегетативных органах.

Гаметофитный апомиксис. Цитологические исследования показали, что растения сахарной свеклы склонны формировать зародыши с гаплоидным набором хромосом путем апогаметии из ядер зародышевого мешка – синергид или антипод. Однако гаметофитный апомиксис у сахарной свеклы выражался в виде диплоспории (Фоменко и др., 2003). Возможно, это было обусловлено использованием селекционного материала, полученного на основе принудительных опылений растений пыльцой, облученной высокими дозами гамма-радиации в пределах 1500–3000 Гр (Агафонов и др., 1992). Цитологическое изучение растений данного материала показало, что процесс мейоза при мегаспорогенезе сопровождается отсутствием образования тетрад мегаспор. В результате клетки зародышевого мешка формировались непосредственно из мегаспороцита и имели нередуцированное число хромосом. Это обычно вызывает нестабильные генетические изменения. Вместе с тем метод позволил получить несколько гамма-линий сахарной свеклы, обладающих признаками факультативного апомиксиса и способностью закреплять признак ЦМС. Продуктивность созданных гибридов на основе использования апомиктической линии γ -MC-2113 достигала по урожаю корнеплодов 122.2 %, по сахаристости – 104.5 % по сравнению с контролем (Богомолов, 2010). В настоящее время данный растительный материал используется в селекционной работе.

Спорофитный апомиксис. Этот вид апогаметии основан на развитии зародышей из соматических клеток материнского растения с диплоидным набором хромосом, входящих в состав нуцеллуса, интегументов, эндосперма материнского растения или клеток дочернего зародыша, полученного при оплодотворении (Батыгина, 2010). В процессе экспериментов у сахарной свеклы неоднократно была замечена способность к почкованию или расщеплению семязачатка на два или несколько новых. В результате в семенах происходило образование нескольких зародышей, имеющих различную наследственность: половой зародыш и зародыши, формирующиеся из соматических клеток нуцеллуса или интегументов. Зародыши, возникающие из ядер эндосперма, наблюдались обычно в халазальном конце зародышевого мешка при создании

полиплоидных и анеуплоидных форм сахарной свеклы (Ярмолук и др., 1990).

Выявленные особенности формирования зародышей свидетельствуют, что половой и бесполой способы семенной репродукции, существуя совместно, приводят к значительной разнокачественности семенного материала (Зайковская, Перетягко, 1977). В таких случаях возникает генетическое разнообразие линейного материала, вызывающее определенные трудности при создании гибридов.

Эмбриодогения. Данный тип репродукции растительных организмов отражает особую категорию вегетативного размножения. Структурной единицей этого типа считается *эмбриод* (соматический зародыш), являющийся, как и половой зародыш, зачатком нового организма, а не частью его (почка, лист, корень), как это наблюдается при черенковании путем гемморизогенеза (Батыгина, 2010). В зависимости от происхождения и положения соматических зародышей на материнском растении выделяют две основные формы эмбриодогении: флоральную и вегетативную.

Флоральная эмбриодогения у сахарной свеклы является процессом формирования зародышей из гаплоидных ядер зародышевого мешка (яйцеклетка, синергиды, антиподы), а также из клеток диплоидных тканей семязачатка (нуцеллус, интегументы и эндосперм). Так, эмбриологические исследования при культивировании *in vitro* неоплодотворенных семязачатков позволили выявить этапы формирования гаплоидных зародышей (Подвигина, 2010; Tomaszevska-Sowa et al., 2017). Наблюдаемое деление гаплоидных клеток яйцевого аппарата или антипод приводило к образованию многоклеточного проэмбрио, сходного с развитием зародыша, образовавшегося половым путем. Этот прием дал возможность получать от растений-доноров (в 5–6 раз быстрее) генетически и морфологически разнообразный материал с высоким уровнем гомозиготности. Настоящие исследования послужили основой ускоренного создания гомозиготных линий, которые нашли широкое применение в селекции сахарной свеклы (Батыгина, 2010; Kikindonov et al., 2016; Lamaoui et al., 2018; Pazuki et al., 2018).

Вегетативная эмбриодогения основана на формировании эмбриодов из соматических клеток вегетативных органов растений. Так, культивирование *in vitro* черешков листьев сахарной свеклы на питательной среде Мура-сиге–Скуга, дополненной 6-БАП (0.2–0.3 мг/л) и 2.4-D (0.1 мг/л), стимулировало морфологическое развитие проростков из эпидермальных клеток черешка, напоминающее этапы формирования половых клеток зародышевого мешка. Сначала наблюдалось образование от одной до нескольких инициальных клеток, похожих на половые клетки зародышевого мешка. Характерными для них были более плотная цитоплазма и крупное ядро с ядрышком. Инициальная клетка делилась поперечно с образованием клеток будущего корня. В результате дальнейших делений происходило развитие зародышеподобных структур – эмбриодов, преобразующихся в проростки (Богомолова, Жужжалова, 1998). Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, которые также наблюдали развитие структурных элементов, похожих на гипокотиль с листьями, из клеток эпидермиса на атак-

сиальной поверхности культивируемых черешков сахарной свеклы (Mahmoud et al., 2017).

Партеногенез. Эта форма апомиктического размножения включает развитие зародышей или из яйцеклетки без участия мужской гаметы, или из спермия – без участия яйцеклетки (Малецкий, 2005). Согласно современным представлениям, партеногенетическое развитие зародыша сахарной свеклы относится к эпигенетической форме наследственности и изменчивости. Она связана с получением клетками семязачатков цветущих растений внешних или внутренних сигналов, позволяющих перейти от одной программы развития к другой. Изучение форм свеклы с дефектной пыльцой (ЦМС) в полевых условиях показало, что уровень репродукции семян был равен двуродительскому способу или превышал его. В партеногенетических семенных потомствах с высокой частотой встречались семена с гаплоидным набором хромосом. Доля гаплоидов, составляя 3–10 % от числа проросших семян, была на 4 порядка выше, чем при обычном спонтанном получении семян, и соответствовала уровню гаплоидов в культуре *in vitro* (Малецкий и др., 2015). В то же время следует отметить, что получение гаплоидов в партеногенетических потомствах на 3–4 порядка дешевле, чем при получении *in vitro*.

Дальнейшие исследования партеногенеза могут открыть новые возможности в селекции, так как резко упрощают и удешевляют процессы создания МС-гибридов. Это позволяет предположить, что получение гаплоидов данным способом может стать одним из самых эффективных приемов селекции у сахарной свеклы. Реализация того или иного типа воспроизведения и размножения у растений свеклы обеспечивается потенциальными возможностями системы репродукции вида, что позволяет сохранять гомеостаз вида и популяции в целом.

Заключение

Специфика приемов репродуктивной биологии сахарной свеклы состоит в многовариантности образования у растений новых свойств и признаков. Прегенеративный период развития оказался наиболее подходящим для вегетативного размножения и создания селекционного материала, обладающего способностью воспроизводить ценные свойства на основе использования методов партикуляции и микрклонального размножения. Эти методы – один из резервов системы репродукции, в сочетании с семенным размножением обеспечивают пластичность организма, сохраняя в полевых условиях генотип, фенотип, плоидность и другие ценные свойства.

Методы клеточной селекции дают возможность создавать материал, обладающий измененной плоидностью, устойчивостью к неблагоприятным факторам окружающей среды. Наиболее разработанными можно считать морфогенетические приемы репродукции, которые сопровождали создание линейного материала с измененными свойствами, повышающими успешный переход от популяционной к гибридной селекции. Большое влияние на формирование различных направлений систем репродукции оказали такие селекционные процессы, как само- и перекрестная несовместимость, ЦМС и апомиксис. Экспериментальные исследования на основе явлений

апогаметии, диплоспории и партеногенеза открывают широкие возможности для работы в области селекции и биотехнологии. Однако методы агамоспермии недостаточно разработаны для применения в селекции.

Исследования апомиктического размножения сахарной свеклы особенно перспективны у растений с ЦМС. Это связано с наследованием отдельных признаков в потомстве гибридов, которое обусловлено передачей генов только от материнского родителя. Цитоплазматическая мужская стерильность сопровождается присутствием в цитоплазме клеток двух типов внутриклеточных органелл (митохондрии и хлоропласты с собственным генетическим материалом мт-ДНК и хл-ДНК). Цитологические и молекулярно-генетические исследования сахарной свеклы с ЦМС перспективны, так как в агамоспермных потомствах можно выявить гено- и фенотипический полиморфизм. Это позволяет применять инновационные технологии в селекционной работе для создания гомозиготного материала сахарной свеклы с новыми признаками.

Список литературы / References

- Агафонов Н.С., Богомолов М.А., Жужжалова Т.П., Корниенко А.В., Федулова Т.П., Попова И.Р. Способ получения гомозиготных линий сахарной свеклы. Авторское свидетельство 1708210 СССР. МКИ AOLN 1/04. № 4818227/13. Заявл. 12.03.90. Опубл. 30.01.92. Бюл. № 4. 1992.
[Agafonov N.S., Bogomolov M.A., Zhuzhzhhalova T.P., Kornienko A.V., Fedulova T.P., Popova I.R. Method for obtaining sugar beet homozygous lines. Inventor's certificate 1708210 USSR. MКИ AOLN 1/04. No. 4818227/13. Applied 12.03.90. Published 30.01.92. Bulletin No. 4. 1992. (in Russian)]
- Атанасов А. Биотехнология в растениеводстве. Новосибирск, 1993.
[Atanasov A. Biotechnology in Plant Industry. Novosibirsk, 1993. (in Russian)]
- Балков И.Я., Каракотов С.Д., Логвинов А.В., Логвинов В.А., Мищенко В.Н. Эволюция сахарной свеклы: от огородных форм до современных рентабельных гибридов. Щелково, 2017.
[Balkov I.Ya., Karakotov S.D., Logvinov A.V., Logvinov V.A., Mishchenko V.N. Evolution of Sugar Beet: from Garden Forms to Modern Profitable Hybrids. Shchelkovo, 2017. (in Russian)]
- Бартенев И.И., Гаврин Д.С., Нечаева О.М., Сеньютин А.А. Разнообразие популяций семенных растений и качественные показатели семян сахарной свеклы. *Сахар*. 2018;10:46-49.
[Bartenev I.I., Gavrin D.S., Nechaeva O.M., Senyutin A.A. Heterogeneity of seed plant populations and quality indicators of sugar beet seeds. *Sakhar = Sugar*. 2018;10:46-49. (in Russian)]
- Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: МГУ, 2004.
[Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatkov A.G., Dzhhalilova Kh.Kh., Ilyina G.M., Chubatova N.V. Handbook of Botanical Microprocedures: Grounds and Methods. Moscow: Moscow State University Publ., 2004. (in Russian)]
- Батыгина Т.Б. Нетрадиционные представления о типах и способах репродукции. Феномен эмбриодогении, новая категория вегетативного размножения цветковых растений. В: Биология развития: морфогенез репродуктивных структур и роль соматических, стволовых клеток в онтогенезе и эволюции: Матер. Междунар. конф., посвящ. 50-летию юбилею Лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии. Санкт-Петербург, 13-16 декабря 2010 г. М., 2010; 26-31.
[Batygina T.B. Nontraditional views of reproduction types and methods. Phenomenon of embryoidogeny, a new way of flowering plant propagation. In: Developmental Biology: Morphogenesis of Reproductive Structures and the Role of Somatic and Stem Cells in Development and Evolution: Proc. Intern. Conf., Dedicated to the 50th Anniversary of the Laboratory of Embryology and Reproductive Biology. St. Petersburg, December 13-16, 2010. Moscow, 2010; 26-31. (in Russian)]
- Батыгина Т.Б., Виноградова Г.Ю. Феномен полиэмбрионии. Генетическая гетерогенность семян. *Онтогенез*. 2007;38(3):166-191.
[Batygina T.B., Vinogradova G.Yu. Phenomenon of polyembryony. Genetic heterogeneity of seeds. *Russ. J. Dev. Biol.* 2007;38:126-151. DOI 10.1134/S1062360407030022.]
- Богомолов М.А. Индуцированный апомиксис и использование его в селекции сахарной свеклы. В: Энциклопедия рода *Beta*: Биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Изд-во «Сова», 2010;504-513.
[Bogomolov M.A. Induced apomixis and its use in sugar beet breeding. In: Encyclopedia of the *Beta* Genus: Biology, Genetics, and Breeding of Beet. Novosibirsk: Sova Publ., 2010;504-513. (in Russian)]
- Богомолова Н.М., Жужжалова Т.П. Изучение соматического эмбриодогенеза у сахарной свеклы (*B. vulgaris* L.). В: Проблемы ботаники на рубеже XX-XXI веков. Т. 1. СПб.: Ботанический институт РАН, 1998;103.
[Bogomolova N.M., Zhuzhzhhalova T.P. Study of somatic embryoidogenesis in sugar beet (*B. vulgaris* L.). In: Issues of Botanical Sciences at the Turn of the 21st Century. V. 1. St. Petersburg: Botanical Institute RAS Publ., 1998;103. (in Russian)]
- Брагин А.Г., Иванов М.К., Федосеева Л.А., Дымшиц Г.М. Анализ гетероплазматического состояния митохондриальной ДНК фертильных и мужскостерильных растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris*). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2011;15(3):524-530.
[Bragin A.G., Ivanov M.K., Fedoseeva L.A., Dymshits G.M. Analysis of mitochondrial DNA heteroplasmy in fertile and owen CMS sugar beet (*Beta vulgaris*) plants. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektisii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2011;15(3):524-530. (in Russian)]
- Вайсман Н.Я., Жужжалова Т.П., Агафонов Н.С. Цитология несоместимости у сахарной свеклы. В: Генетика сахарной свеклы. Новосибирск: Наука, 1984;121-129.
[Vaisman N.Ya., Zhuzhzhhalova T.P., Agafonov N.S. Cytology of incompatibility in sugar beet. In: Sugar Beet Genetics. Novosibirsk: Nauka Publ., 1984;121-129. (in Russian)]
- Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Колесникова Е.О. Ускоренное получение новых гомозиготных линий сахарной свеклы (*B. vulgaris* L.). *Сахар*. 2020a;2:30-32. DOI 10.24411/2413-5518-2020-10203.
[Vasilchenko E.N., Zhuzhzhhalova T.P., Kolesnikova E.O. Rapid raise of new sugar beet (*B. vulgaris* L.) homozygous lines. *Sakhar = Sugar*. 2020a;2:30-32. DOI 10.24411/2413-5518-2020-10203. (in Russian)]
- Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Ткаченко О.В. Изменение морфологических признаков сахарной свеклы под действием этилметансульфоната. *Сахарная свекла*. 2020b;8:2-6. DOI 10.25802/SB.2020.52.38.001.
[Vasilchenko E.N., Zhuzhzhhalova T.P., Tkachenko O.V. Changes in morphological characteristics of sugar beet under the action of ethylmethanesulphonate. *Sakharaya Svekla = Sugar Beet*. 2020b;8:2-6. DOI 10.25802/SB.2020.52.38.001. (in Russian)]
- Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Федорин Д.Н., Джавахия В.Г. Использование гена *MF2* для трансформации растений сахарной свеклы. В: Современные иммунологические исследования, их роль в создании новых сортов и интенсификация растениеводства. Большие Вяемы, 2009;162-168.
[Vasilchenko E.N., Zhuzhzhhalova T.P., Fedorin D.N., Dzhavakhiya V.G. Use of the *MF2* gene for transformation of sugar beet plants. In: Modern Immunology Studies and Their Role in Development of New Varieties and Intensification of Plant Growing. Bolshie Vyazemy, 2009;162-168. (in Russian)]

- Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Федорин Д.Н., Землянухина О.А. Молекулярные и биохимические свойства трансгенных растений сахарной свеклы. В: Материалы докладов V Всероссийского симпозиума «Трансгенные растения: технологии создания, биохимические свойства, применение, биобезопасность». Москва. 1-4 декабря 2014 г. М., 2014;63-66. [Vasilchenko E.N., Zhuzhzhhalova T.P., Fedorin D.N., Zemlyanukhina O.A. Molecular and biochemical properties of transgenic sugar beet plants. In: Proceedings of the 5th All-Russian Symposium "Transgenic Plants: Development Technologies, Biochemical Properties, Use, and Biosafety". Moscow. December 1-4, 2014. Moscow, 2014;63-66. (in Russian)]
- Вишнякова М.А. Возможные пути эволюции структурных механизмов реакции самонесовместимости у покрытосеменных. В: Проблемы ботаники на рубеже XX–XXI веков. Т. 1. СПб.: Ботанический институт РАН, 1998;107-108. [Vishnyakova M.A. Possible ways of structural mechanisms underlying the evolution of self-incompatibility reaction in angiosperm plants. In: Issues of Botanical Sciences at the Turn of the 21st Century. St. Petersburg: Botanical Institute RAS Publ., 1998;107-108. (in Russian)]
- Дубровная О.В. Селекция *in vitro* пшеницы на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам. *Физиология растений и генетика*. 2017;49(4):279-292. [Dubrovna O.V. *In vitro* selection of wheat for resistance to abiotic stress factors. *Fiziologiya Rastenij i Genetika = Plant Physiology and Genetics*. 2017;49(4):279-292. (in Russian)]
- Дымшиц Е.М., Брагин А.Г., Иванов М.К. Молекулярно-генетические аспекты цитоплазматической мужской стерильности. В: Энциклопедия рода *Beta*: Биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Изд-во «Сова», 2010;228-247. [Dymshits E.M., Bragin A.G., Ivanov M.K. Molecular aspects of cytoplasmic male sterility. In: Encyclopedia of the *Beta* Genus. Biology, Genetics, and Breeding of Beet. Novosibirsk: Sova Publ., 2010;228-247. (in Russian)]
- Жужжалова Т.П., Знаменская В.В., Подвигина О.А., Ярмолюк Г.И. Репродуктивная биология сахарной свеклы. Воронеж: ООО «Сотрудничество», 2007. [Zhuzhzhhalova T.P., Znamenskaya V.V., Podvigina O.A., Yarmolyuk G.I. Reproduction Biology of Sugar Beet. Voronezh: Sotrudnichestvo Publ., 2007. (in Russian)]
- Зайковская Н.Э., Жужжалова Т.П. Развитие пыльцевых трубок у самофертильных и самостерильных линий сахарной свеклы при изоляции. *Цитология и генетика*. 1976;10(1):57-61. [Zaykovskaya N.E., Zhuzhzhhalova T.P. Development of pollen tubes in isolated self-fertile and self-sterile sugar beet lines. *Tsitologiya i Genetika = Cytology and Genetics*. 1976;10(1):57-61. (in Russian)]
- Зайковская Н.Э., Перетячко Н.А. Апомиктичное развитие семян у сахарной свеклы. В: Теоретические основы и практические приемы выращивания сахарной свеклы и других культур. Киев: ВНИС, 1977;19-21. [Zaykovskaya N.E., Peretyat'ko N.A. Apomictic development of sugar beet seeds. In: Fundamentals and Practical Methods of the Growing of Sugar Beet and Other Crops. Kiev: All-Ukraine Institute of Breeding, 1977;19-21. (in Russian)]
- Знаменская В.В. Микроклонирование *in vitro* как метод поддержания и размножения линий сахарной свеклы. В: Энциклопедия рода *Beta*: Биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Изд-во «Сова», 2010;420-437. [Znamenskaya V.V. *In vitro* microcloning as a method of maintenance and propagation of sugar beet lines. In: Encyclopedia of the *Beta* Genus: Biology, Genetics, and Breeding of Beet. Novosibirsk: Sova Publ., 2010;420-437. (in Russian)]
- Знаменская В.В., Жужжалова Т.П. Использование микроклонального размножения и сохранения ценных генотипов сахарной свеклы для ускорения селекционного процесса. В: Использование биотехнологических методов в селекции сахарной свеклы. Киев, 1989;52-58. [Znamenskaya V.V., Zhuzhzhhalova T.P. Use of microclonal propagation and maintenance of valuable sugar beet genotypes to accelerate breeding. In: Use of Biotechnological Methods in Sugar Beet Breeding. Kiev, 1989;52-58. (in Russian)]
- Ильенко И.Н. Микроклональное размножение и сохранение селекционного материала сахарной свеклы в культуре *in vitro*. *Физиология и биохимия культурных растений*. 1983;15(4):351-355. [Ilyenko I.I. Microclonal propagation and maintenance of sugar beet breeding material in *in vitro* culture. *Fiziologiya i Biokhimiya Kkulturnykh Rasteniy = Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants*. 1983;15(4):351-355. (in Russian)]
- Каракотов С.Д., Апасов И.В., Налбандян А.А., Васильченко Е.Н., Федулова Т.П. Современные аспекты селекции гибридов сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(4):394-400. DOI 10.18699/VJ2.043. [Karakotov S.D., Apasov I.V., Nalbandyan A.A., Vasilchenko E.N., Fedulova T.P. Modern issues of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) hybrid breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(4):394-400. DOI 10.18699/VJ2.043. (in Russian)]
- Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. [Katayeva N.V., Butenko R.G. Clonal Micropropagation of Plants. Moscow: Nauka Publ., 1983. (in Russian)]
- Ковалева Л.В. Межклеточные взаимодействия в системе пыльца-пестик в прогамной фазе оплодотворения. *Усп. соврем. биологии*. 1991;111(5):782-796. [Kovaleva L.V. Intercellular interactions of the pollen-pistil system in the progamic phase of fertilization. *Uspekhi Sovremennoj Biologii = Advances in Current Biology*. 1991;111(5):782-796. (in Russian)]
- Ковалева Л.В., Захарова Е.В., Воронков А.С., Тимофеева Г.В., Минкина Ю.В. Фитогормоны и полярный рост пыльцевой трубки. В: Эмбриология, генетика и биотехнология. Материалы V Международной школы для молодых ученых (Санкт-Петербург, 9-14 октября 2016 г.). СПб.: Левша, 2016;106. [Kovaleva L.V., Zakharova E.V., Voronkov A.S., Timofeyeva G.V., Minkina Yu.V. Plant hormones and polar growth of pollen tubes. In: Embryology, Genetics, and Biotechnology. Proceedings of the 5th International School for Young Scientists (St. Petersburg, October 9-14, 2016). St. Petersburg: Levsha Publ., 2016;107.]
- Колесникова Е.О., Жужжалова Т.П. Микроклонирование и сохранение линейного материала в селекционном процессе сахарной свеклы. В: Материалы IV (XII) Международной ботанической конференции молодых ученых в Санкт-Петербурге 22-28 апреля 2018 г. СПб.: БИН РАН, 2018;267-268. [Kolesnikova E.O., Zhuzhzhhalova T.P. Microcloning and maintenance of lines material in sugar beet breeding process. In: Proc. of IV (XII) Int. Botanical Conf. of Young Scientists in St. Petersburg, April 22-28, 2018. St. Petersburg: Komarov Botanical Institute of the RAS, 2018;267-268.]
- Корниенко А.В., Знаменская В.В. Новые методы создания исходного материала сахарной свеклы. Рамонь, 2001. [Kornienko A.V., Znamenskaya V.V. New Methods for Obtaining Sugar Beet Parent Material. Ramon', 2001. (in Russian)]
- Корниенко А.В., Подвигина О.А., Жужжалова Т.П., Федулова Т.П., Богомолов М.А., Ошевнев В.П., Буторина А.К. Приоритетные направления по генетике и селекции сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) в XXI веке. *Генетика*. 2014;50(11):1286-1298. DOI 10.7868/S001667581411006X. [Kornienko A.V., Podvigina O.A., Zhuzhzhhalova T.P., Fedulova T.P., Bogomolov M.A., Oshevnev V.P., Butorina A.K. High-priority research directions in genetics and the breeding of the sugar beet (*Beta vulgaris* L.) in the 21st century. *Russ. J. Genet.* 2014;50(11):1137-1148. DOI 10.1134/S1022795414110064.]

- Лейке Г., Лабес Р., Эртель К., Петерсдорф М. Использование культуры тканей и органов в селекции растений и производстве посадочного материала. М.: Колос, 1980.
[Leyke G., Labes R., Ertel K., Peteresdorf M. Using of Tissue and Organ Cultures in Plant Breeding and Planting Material Production. Moscow: Kolos Publ., 1980. (in Russian)]
- Лутова Л.А., Ежова Т.А., Додуева И.Е., Осипова М.А. Генетика развития растений. СПб.: Изд-во «Н-Л», 2010.
[Lutova L.A., Ezhova T.A., Dodueva I.E., Osipova M.A. Genetics of Plant Development. St. Petersburg: N-L Publ., 2010. (in Russian)]
- Мазлумов А.Л. Селекция сахарной свеклы. М.: Колос, 1970.
[Mazlumov A.L. Sugar Beet Breeding. Moscow: Kolos Publ., 1970. (in Russian)]
- Малецкая Е.И., Малецкий С.И. Гаплоиды в апозиготических потомствах сахарной свеклы. В: Энциклопедия рода *Beta*: Биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Изд-во «Сова», 2010;466-472.
[Maletskaya E.I., Maletskiy S.I. Haploidy in apozygotic progeny of sugar beet. In: Encyclopedia of the *Beta* Genus: Biology, Genetics, and Breeding of Beet. Novosibirsk: Sova Publ., 2010;466-472. (in Russian)]
- Малецкий С.И. Эволюционная биология. Словарь терминов. Новосибирск: ИЦИГ СО РАН, 2005.
[Maletskiy S.I. Evolution Biology. Dictionary of Terms. Novosibirsk: ICG SB RAS Publ., 2005. (in Russian)]
- Малецкий С.И., Малецкая Е.И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.). *Генетика*. 1996;32(12):1643-1650.
[Maletskii S.I., Maletskaya E.I. Self-fertility and agamospermy in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Russ. J. Genet.* 1996;32(12):1431-1437.]
- Малецкий С.И., Малецкая Е.И., Юданова С.С. Новая технология воспроизводства семян у сахарной свеклы (партеногенетический способ). *Труды Кубан. гос. агр. ун-та*. 2015;54:204-213.
[Maletskiy S.I., Maletskaya E.I., Yudanov S.S. New technology of seeds reproduction in sugar beets (parthenogenetic mode). *Trudy Kubanskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta = Works of the Kuban State Agrarian University*. 2015;3(54):204-213. (in Russian)]
- Налбандян А.А., Федулова Т.П., Хуссейн А.С. Молекулярный отбор селекционного материала сахарной свеклы с генами устойчивости к биотическим стрессам. *Рос. с.-х. наука*. 2019;1:16-20. DOI 10.31857/S2500-26272019116-20.
[Nalbandyan A.A., Fedulova T.P., Khussein A.S. Molecular selection of sugar beet breeding material with genes of resistance to biotic stresses. *Rossiyskaya Sel'skokhozyaystvennaya Nauka = Russian Agricultural Science*. 2019;1:16-20. DOI 10.31857/S2500-26272019116-20. (in Russian)]
- Налбандян А.А., Федулова Т.П., Черепухина И.В., Крюкова Т.И., Ошевнев В.П., Грибанова Н.П. ДНК-маркеры в селекции сахарной свеклы. *Сахарная свекла*. 2021;2:10-14. DOI 10.25802/SB.2021.57.87.001.
[Nalbandyan A.A., Fedulova T.P., Cherepukhina I.V., Kryukova T.I., Oshevnev V.P., Gribanova N.P. DNA markers in sugar beet breeding. *Sackarnaya Svekla = Sugar Beet*. 2021;2:10-14. DOI 10.25802/SB.2021.57.87.001. (in Russian)]
- Налбандян А.А., Хуссейн А.С., Федулова Т.П., Черепухина И.В., Крюкова Т.И., Руденко Т.С., Михеева Н.Р., Моисеенко А.В. Дифференциация сортообразцов сахарной свеклы по SSR-маркерам для создания перспективных гибридов. *Рос. с.-х. наука*. 2020;4:18-21. DOI 10.31857/S2500262720040043.
[Nalbandyan A.A., Khussein A.S., Fedulova T.P., Cherepukhina I.V., Kryukova T.I., Rudenko T.S., Mikheeva N.R., Moiseenko A.V. Differentiation of sugar beet cultivars by SSR markers to create promising hybrids. *Rossiyskaya Sel'skokhozyaystvennaya Nauka = Russian Agricultural Science*. 2020;4:18-21. DOI 10.31857/S2500262720040043. (in Russian)]
- Ошевнев В.П., Грибанова Н.П. Селекция самосовместимых опылителей О-типа у сахарной свеклы. В: Энциклопедия рода *Beta*: Биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Изд-во «Сова», 2010;542-554.
[Oshevnev V.P., Gribanova N.P. Breeding of O-type self-compatible pollinators in sugar beet. In: Encyclopedia of the *Beta* Genus: Biology, Genetics, and Breeding of Beet. Novosibirsk: Sova Publ., 2010;542-554. (in Russian)]
- Ошевнев В.П., Грибанова Н.П., Жужжалова Т.П., Черепухин Э.И. Образование пистиллодий у сахарной свеклы. *Генетика*. 1986a;22(4):889-891.
[Oshevnev V.P., Gribanova N.P., Zhuzhzhhalova T.P., Cherepukhin E.I. Formation of pistillodes in sugar beet. *Genetika = Genetics*. 1986a;22(4):889-891. (in Russian)]
- Ошевнев В.П., Черепухин Э.И., Балков И.Я. Использование признака самосовместимости в селекции сахарной свеклы на основе ЦМС. *С.-х. биология*. 1986b;21(8):90-92.
[Oshevnev V.P., Cherepukhin E.I., Balkov I.Ya. Use of the self-incompatibility trait in sugar beet breeding on the CMS base. *Sel'skokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 1986b;21(8):90-92. (in Russian)]
- Подвигина О.А. Индуцирование гаплоидии из неоплодотворенных семязпочек сахарной свеклы в условиях *in vitro*. В: Энциклопедия рода *Beta*: Биология, генетика и селекция свеклы. Новосибирск: Изд-во «Сова», 2010;455-465.
[Podvigina O.A. *In vitro* induction of haploidy from unfertilized sugar beet ovules. In: Encyclopedia of the *Beta* Genus: Biology, Genetics, and Breeding of Beet. Novosibirsk: Sova Publ., 2010;455-465. (in Russian)]
- Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский научный центр, 2007.
[Titov A.F., Talanova V.V., Kaznina N.M., Laydinen G.F. Heavy metal tolerance in plants. Petrozavodsk: Karelian Scientific Centre Publ., 2007. (in Russian)]
- Федулова Т.П., Налбандян А.А., Дуванова Т.Н. Скрининг исходных материалов сахарной свеклы на наличие минисателлитных локусов TRs, связанных с ЦМС. *Сахар*. 2022;3:38-41. DOI 10.24412/2413-5518-2022-3-38-41.
[Fedulova T.P., Nalbandyan A.A., Duvanov T.N. Screening of sugar beet parental materials for the presence of TRs minisatellite loci associated with CMS. *Sakhar = Sugar*. 2022;3:38-41. DOI 10.24412/2413-5518-2022-3-38-41. (in Russian)]
- Фоменко Н.Р., Жужжалова Т.П., Федулова Т.П., Богомолов М.А. Цитозмриологическая и морфологическая характеристика растений апомиктичных гамма-линий сахарной свеклы. В: Факторы экспериментальной эволюции организмов. Киев: Аграрная наука, 2003;212-217.
[Fomenko N.P., Zhuzhzhhalova T.P., Fedulova T.P., Bogomolov M.A. Cytoembryological and morphological characterization of plants in apomictic gamma lines of sugar beet. In: Factors of the Experimental Evolution of Organisms. Kiev: Agrarnaya Nauka Publ., 2003; 212-217. (in Russian)]
- Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(4/2):1044-1054.
[Khlestkina E.K. Molecular markers in genetic studies and breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):1044-1054. (in Russian)]
- Хуссейн А.С., Михеева Н.Р., Налбандян А.А., Черкасова Н.Н. Скрининг растений-регенерантов сахарной свеклы на наличие гена устойчивости к тяжелым металлам МТР4. *Биотехнология*. 2021;37(4):14-19. DOI 10.21519/0234-2758-2021-37-4-14-19.
[Khussein A.S., Mikheeva N.R., Nalbandyan A.A., Cherkasova N.N. Screening of sugar beet regenerants for the heavy metal resistance MTP4 gene. *Biotechnologiya = Biotechnology*. 2021;37(4):14-19. DOI 10.21519/0234-2758-2021-37-4-14-19. (in Russian)]

- Хуссейн А.С., Налбандян А.А., Богачева Н.Н., Васильченко В.Н., Федулова Т.П. Микросателлитный анализ трансгенных форм сахарной свеклы. *Докл. Рос. академии с.-х. наук*. 2013;2:17-20. [Khussein A.S., Nalbandyan A.A., Bogacheva N.N., Vasilchenko E.N., Fedulova T.P. Microsatellite analysis of transgenic forms of sugar beet. *Doklady Rossiyskoy Akademii Sel'skokhozyaystvennykh Nauk = Proceedings of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. 2013;2:17-20. (in Russian)]
- Черкасова Н.Н., Жужжалова Т.П., Колесникова Е.О. Разработка технологии селективного отбора *in vitro* регенерантов сахарной свёклы с устойчивостью к кислотности и засухе. *Сахар*. 2018;10:43-45. [Cherkasova N.N., Zhuzhhalova T.P., Kolesnikova E.O. Development of a technology to select sugar beet *in vitro* regenerants for tolerance of acidity and drought. *Sakhar = Sugar*. 2018;10:43-45. (in Russian)]
- Черкасова Н.Н., Жужжалова Т.П., Колесникова Е.О. Влияние ионной токсичности на морфологическое развитие регенерантов сахарной свёклы. *Сахарная свекла*. 2020;5:33-35. DOI 10.25802/SB.2020.94.56.003. [Cherkasova N.N., Zhuzhhalova T.P., Kolesnikova E.O. Influence of ionic toxicity on morphological development of sugar beet regenerants. *Sackarnaya Svekla = Sugar Beet*. 2020;5:33-35. DOI 10.25802/SB.2020.94.56.003. (in Russian)]
- Черкасова Н.Н., Жужжалова Т.П., Ткаченко О.В. Повышение устойчивости растений сахарной свеклы к засухе в условиях *in vitro*. *Сахарная свекла*. 2021;8:12-14. DOI 10.25802/SB.2021.52.25.002. [Cherkasova N.N., Zhuzhhalova T.P., Tkachenko O.V. Increasing the resistance of sugar beet plants to drought *in vitro* conditions. *Sackarnaya Svekla = Sugar Beet*. 2021;8:12-14. DOI 10.25802/SB.2021.52.25.002. (in Russian)]
- Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. М.: Наука, 1992. [Shevelukha V.S. Plant Growth and its Regulation in Ontogenesis. Moscow: Nauka Publ., 1992. (in Russian)]
- Ярмолук Г.И., Ширяева Э.И., Кулик А.Г. Эндоспермальная эмбриония – новая форма апомиксиса у сахарной свеклы. *Докл. ВАСХНИЛ*. 1990;3:4-8-11. [Yarmolyuk G.I., Shiryayeva E.I., Kulik A.G. Endospermal embryony, a new form of apomixis in sugar beet. *Doklady VASKHNIL = Reports of the Academy of Agricultural Sciences*. 1990;3:4-8-11. (in Russian)]
- Banzal K.C., Lenka S.K., Mondal T.K. Genomic resources for breeding crops with enhanced abiotic stress tolerance. *Plant Breed*. 2014; 133(1):1-11. DOI 10.1111/pbr.12117.
- Bednarska E. The effect of intracellular calcium level regulators on the synthesis of pollen tube callose in *Oenothera biennis* L. *Acta Soc. Bot. Pol.* 1989;58(2):199-210. DOI 10.5586/asbp.1989.016.
- Dzhavakhia V., Filippov A., Skryabin K., Voinova T., Kouznetsova M., Shulga O., Shumilina D., Kromina K., Pridanniko M., Battchikova N., Korpela T. Proteins inducing multiple resistance of plants to phytopathogens and pests. US patent No. WO 2005061533. Intern. Filing Date 17.12.2004. Publ. Date 07.07.2005.
- Hohmann U., Jacobs G., Jung C. An EMC mutagenesis protocol for sugar beet and isolation non-bolting mutants. *Plant Breed*. 2005; 124(4):317-321. DOI 10.1111/j.1439-0523.2005.01126.x.
- Kikindonov G., Kikindonov Tz., Erchev S. Economical qualities of crosses between doubled haploid sugar beet lines. *Agric. Sci. Technol.* 2016;8(2):107-110. DOI 10.15547/ast 2016.02.018.
- Kourelis J., van der Hoorn R.A.L. Defended to the nines: 25 years of resistance gene cloning identifies nine mechanisms for R protein function. *Plant Cell*. 2018;30(2):285-299. DOI 10.1105/tpc.17.00579.
- Lamaoui M., Jemo M., Datla R., Bekkaoui F. Heat and drought stresses in crops and approaches for their mitigation. *Front. Chem*. 2018; 6:26. DOI 10.3389/fchem.2018.00026.
- Larsen K. Self-incompatibility in *Beta vulgaris* L. Four gametophytic, complementary S-loci in sugar beet. *Hereditas*. 1977;85(2):227-248. DOI 10.1111/j.1601-5223.1977.tb00971.x.
- Mahmoud K., Najar A., Jedid E., Jemai N., Jemmali A. Tissue culture techniques for clonal propagation, viral sanitation and germplasm improvement in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). *J. New Sci*. 2017;47(2):2564-2576.
- McCallum C.M., Comai L., Greene E.A., Henikoff S. Targeting induced local lesions in genomes (TILLING) for plant functional genomics. *Plant Physiol*. 2000;123(2):439-442. DOI 10.1104/pp.123.2.439.
- Murashige T. Plant propagation through tissue cultures. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 1974;25:135-166. DOI 10.1146/annurev.pp.25.060174.001031.
- Nishizawa S., Kubo T., Mikami T. Variable number of tandem repeat loci in the mitochondrial genomes of beets. *Curr. Genet*. 2000; 37(1):34-38. DOI 10.1007/s002940050005.
- Owen F.V. Mendelian male sterility in sugar beets. *Am. Soc. Sugar Beet Technol.* 1952;7:371-376.
- Paesold S., Borchardt D., Schmidt T., Dechyeva D. A sugar beet (*Beta vulgaris* L.) reference FISH karyotype for chromosome and chromosome-arm identification, integration of genetic linkage groups and analysis of major repeat family distribution. *Plant J*. 2012;72(4): 600-611. DOI 10.1111/j.1365-313X.2012.05102.x.
- Pazuki A., Aflaki F., Gürel E., Ergül A., Gürel S. Gynogenesis induction in sugar beet (*Beta vulgaris*) improved by 6-benzylaminopurine (BAP) and synergized with cold pretreatment. *Sugar Tech*. 2018;20: 69-77. DOI 10.1007/s12355-017-0522-x.
- Rusea I., Popescu A., Valentina I., Hoza D. Micropropagation of strawberry cv. Magic. *Ann. Univ. Craiova*. 2020;XXIV(LX):218-223.
- Seman I., Farago J. Research biotechnological methods in sugar beet breeding in the research and breeding institute at Bucany. *Potsdam. Forsh. B*. 1988;57:51-56.
- Simko I., Eujayl I., van Hintum T.J. Empirical evaluation of DArT, SNP, and SSR marker-systems for genotyping, clustering, and assigning sugar beet hybrid varieties into populations. *Plant Sci*. 2012;184: 54-62. DOI 10.1016/j.plantsci.2011.12.009.
- Stevanato P., Trebbi D., Panella L., Richardson K., Droccanelo C., Pakish L., Fenwick A., Saccomani M. Identification and validation of a SNP marker linked to the gene *HsBvm-1* for nematode resistance in sugar beet. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2015;33:474-479. DOI 10.1007/s11105-014-0763-8.
- Tomaszevska-Sowa M., Figas A.S., Gatz A. Histological analysis of organogenesis and somatic embryogenesis during shoot formation in sugar beet (*B. vulgaris* L.) via gynogenesis. *Polish J. Nat. Sci*. 2017;32(4):705-717.

ORCID ID

A.A. Nalbandyan orcid.org/0000-0001-5959-047X

Благодарности. Работы выполнены в рамках госзадания Министерства науки и высшего образования РФ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 02.01.2022. После доработки 02.02.2023. Принята к публикации 02.02.2023.