

Сәкен Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университетінің Ғылым жаршысы: пәнаралық = Вестник науки Казахского агротехнического исследовательского университета имени Сакена Сейфуллина: междисциплинарный. – Астана: С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, 2025. -№ 2 (125). - P.134-144 . - ISSN 2710-3757, ISSN 2079-939X

doi.org/ 10.51452/kazatu.2025.2(125).1891

УДК 631.527:633.11(574):575.224.34

Исследовательская статья

Отзывчивость казахстанских сортов озимой пшеницы на андрогенез в культуре пыльников *in vitro*

Абекова А.М. , Ержебаева Р.С. , Базылова Т.А. , Айнебекова Б.А. 

ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства»,
Алматы, Казахстан

Автор-корреспондент: Абекова А.М.: aabekova@mail.ru

Соавторы: (1: РЕ) raushan_2008@mail.ru;

(2: ТБ) t.bazylova@mail.ru; (3: БА) bakyt.alpisbay@gmail.com

Получено: 04-04-2025 **Принято:** 24-06-2025 **Опубликовано:** 30-06-2025

Аннотация

Предпосылки и цель. В селекционных программах пшеницы основным вопросом стоит создание новых сортов, характеризующихся высокой урожайностью, устойчивостью к абиотическим и биотическим факторам. Для создания нового сорта пшеницы селекционерам необходимо 10-14 лет. Многие селекционеры пытаются достичь данной цели, сочетая традиционные и биотехнологические методы, тем самым экономя усилия и время. Применение культуры пыльников (гаплоидная технология), является одним из наиболее эффективных биотехнологических методов ускорения селекции. Однако, учёные отмечают низкую воспроизводимость разработанных и опубликованных протоколов по гаплоидной технологии. В Казахстане гаплоидные технологии не внедрены в селекционный процесс пшеницы. Препятствием являются высокая зависимость от генотипа, низкая воспроизводимость опубликованных протоколов, низкая частота формирования эмбриоподобных структур из микроспор, регенерация зеленых растений. Целью наших исследований является подбор модельных генотипов озимой пшеницы, отзывчивых на андрогенез для усовершенствования протокола андрогенеза.

Материалы и методы. Исследования проведены на полевом стационаре отдела зерновых культур и в лаборатории биотехнологии ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства» (КазНИИЗиР), расположенном на юго-востоке Республики Казахстан. В качестве материала исследований были использованы 35 сортов озимой пшеницы мировой и казахстанской селекции. Оценка отзывчивости на андрогенез была проведена с использованием технологии культуры пыльников *in vitro*.

Результаты. Исследование 35 сортов озимой пшеницы на трех питательных средах методом культуры пыльников, позволило установить очень низкую отзывчивость на андрогенез изучаемых генотипов. 14 генотипов показали отзывчивость на уровне 0,8-12 АС/чашка Петри, 18 генотипов не реагировали на индукцию андрогенеза (0 АС/чашка Петри). Выделены 3 сорта озимой пшеницы: Мереке 70, Арап улучшенный, Фараби, у которых уровень образования андрогенных структур (АС) на питательной среде С17 составил 14-17 АС/чашка Петри.

Заключение. Выделенные отзывчивые генотипы: Мереке 70, Арап улучшенный, Фараби будут использованы как модельные для оптимизации и усовершенствования протокола андрогенеза казахстанского пула озимой пшеницы.

Ключевые слова: озимая пшеница; гаплоидная технология; культура пыльников *in vitro*; эмбриогенез.

Введение

Пшеница (*Triticum aestivum* L.) – относится к семейству злаковых, является важной, ведущей, зерновой сельскохозяйственной культурой в мире [1]. В Казахстане пшеница является основной стратегически значимой культурой. Площадь ее возделывания в Казахстане в 2024 году составила 12 881,3 тыс. га. [2]. Увеличение производства зерна пшеницы является одним из важных направлений для обеспечения продовольственной безопасности. Зерно озимой пшеницы используется в нескольких направлениях в зависимости от его качества и потребностей рынка: продовольственное использование – переработка в муку для производства хлеба; кормовое зерно – используется в животноводстве, особенно если оно не соответствует продовольственным стандартам; посевной материал – часть урожая сохраняется для будущего сева; экспорт – многие страны экспортируют излишки зерна на международные рынки; переработка в спирт и биотопливо – некоторые сорта могут использоваться в промышленности [3].

Для увеличения производства зерна пшеницы ключевую роль играет селекция. Основными параметрами регистрации новых сортов являются три критерия: отличимость, однородность и стабильность.

С целью достижения такого важного критерия как однородность сортов во многих селекционных программах мира создание дигаплоидных линий является одной из приоритетных задач [4, 5]. Создание нового сорта озимой пшеницы традиционным методом может занять от 10 до 14 лет, в зависимости от различных факторов, включая методику селекции, цели и условия работы. Использование гаплоидной технологии в зерновых культурах позволяет добиться достижения генетической гомозиготности и чистых линий из гетерозисного селекционного материала в одном поколении [6]. С использованием этого метода можно значительно сократить время на отбор и тестирование, а также повысить точность создания сортов с нужными признаками.

Согласно литературным данным, за последние десятилетия ученые (*Castillo A., 2021, Kanbar O. et al., 2020a*) усовершенствовали протоколы получения дигаплоидов в культуре пыльников [7, 8]. При этом, многие ученые отмечают генотипическую зависимость, т. е. одни генотипы озимой пшеницы отзывчивые и дают повышенный результат андрогенных структур в культуре пыльников, другие генотипы с низкой степенью ответа на андрогенез. Воспроизводимость и передача опубликованных протоколов до сих пор не успешна в практической селекции (*Wang H., 2019, Kanbar O., 2020*) [9, 10]. Важными факторами для успешного получения и внедрения культуры пыльников озимой пшеницы являются: генетический фон растений-доноров, высококвалифицированные специалисты [11], сокращение выхода альбиносных растений [12, 13]; сроки сбора побегов, отражающие стадию развития микроспор [14]; физиологические условия роста растений [15]; разнообразные абиотические стрессы предварительной обработки [16]; физические факторы в культуре тканей, такие как свет и температура, состав среды культивирования пыльников и микроспор [17, 18].

В Казахстане технология культуры пыльников не внедрена в селекционный процесс пшеницы. Препятствием являются высокая зависимость от генотипа, низкая воспроизводимость опубликованных протоколов, низкая частота формирования эмбриоподобных структур из микроспор, регенерация зеленых растений, отсутствие в теплицах достаточной искусственной досветки, позволяющей выращивать хорошо развитые донорные растения в течение всех сезонов. В КазНИИЗиР донорные растения пшеницы выращиваются только в полевых условиях в весенне-летний период. Таким образом, данная тема актуальна для Казахстанской селекции и решение проблемы низкой эффективности протоколов при работе в практической селекции с разнообразным материалом до настоящего времени остается открытой. Целью нашего исследования – является подбор и выделение модельных генотипов озимой пшеницы, отзывчивых на андрогенез для усовершенствования протокола андрогенеза казахстанских генотипов.

Материалы и методы

Материалом для исследований являлись 35 перспективных озимых сортов пшеницы казахстанской и мировой коллекции, изученных в культуре пыльников и микроспор: Момышулы, Несіпхан, Бахытжан, Алихан, Кызыл Бидай, Адия, Карой 90, Сәтті, Мереке 70, Хан Тенгри, Алия,

Стекловидная 24, Вавилов, Аманат, Димаш, Алмалы, Егемен 20, Тәлімі 80, Сапалы, Тасай, Раминая, Матай, Майра, Пиротрикс 50, Chinese Spring, Дулати, Бесагаш, Богарная 56, Жетысу, Арап улучшенный, Казахстанская 10, Павон, Безостая 100, ЯТХ 13, Фараби, полученные от отдела зерновых культур КазНИИЗиР. Донорные растения пшеницы были выращены при озимом посеве на научно-полевом стационаре зерновых культур ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства». Посев донорных растений был проведен 26 октября 2023 г., площадь делянки каждого образца 10 м². Все агротехнические работы были проведены согласно стандартному протоколу для озимых пшениц юга и юго-востока Казахстана (внесение удобрений азота, фосфора и калия (1:1:1) были добавлены осенью, а в середине апреля 2024 года была внесена аммиачная селитра).

Сбор колосьев донорных растений озимой пшеницы был проведен с 15.05.24 г. по 22.05.24 г. по 45 колосьев каждого генотипа, когда растения находились в фазе средне-поздней одноядерной микроспоры. Стадия пыльников была определена с помощью микроскопа (Meiji Techno 4300L, Япония) при увеличении $\times 400$. Предварительная холодовая обработка была проведена в течение 14 дней при температуре +4 °C [19, 20]. Растения были помещены в колбы с водой и закрыты полиэтиленовыми пакетами для предотвращения высыхания. После холодной обработки осуществлена стерилизация колосьев с использованием 0,1% раствора дихлорида ртути в течение 6 мин на шейкере и трижды промыта стерильной дистиллированной водой в ламинарном боксе, по 5 мин [21].

Изолированные пыльники в асептических условиях вводились на три жидкие питательные модифицированные питательные среды: W14 (*Lantos, Ch. et al.* (2016); *Jia, X., et al.* (1994) [5, 22], C17 (*Weigt D. et al.*, 2020) [23], MC (*Rubtsova M. et al.* 2013 [24], *Weigt D. et al.*, 2019 [25],). Состав питательных сред представлен в таблице 1. Пыльники были посажены в стерильные чашки Петри диаметром 60 мм, объем питательной среды – 7 мл. Плотность посадки 100 пыльников на одну чашку Петри. На каждую питательную среду было посажено по 5 чашек Петри каждого сорта пшеницы.

Таблица 1 – Состав питательных сред, используемых в культуре пыльников *in vitro*

Название компонентов питательной среды	Питательные среды			
	Для индукции, (мг/л)			Для регенерации (мг/л)
	C17	W14	mMS	MS
Макросоли				
KNO ₃	1,400	2,000	1,900	1,900
KCL		-	-	-
K ₂ SO ₄		700	-	-
(NH ₄) ₂ SO ₄		-	-	-
NH ₄ NO ₃	300	-	1,65	1,650
KH ₂ PO ₄	400	-	170	170
NH ₄ H ₂ PO ₄	-	380	-	-
CaCl ₂ · 2H ₂ O	150	140	440,0	332,2
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	-	-	-	-
MgSO ₄ · 7H ₂ O	150	200	370,0	180,7
Iron source				
Na ₂ EDTA	37,8	37,3	37,2	37,2
FeSO ₄ · 7H ₂ O	37,8	27,8	27,8	27,8
Микросоли				
MnSO ₄ · 4H ₂ O	11,2	8	-	16,9
MnSO ₄ · H ₂ O	-	-	22,3	-

Продолжение таблицы 1

ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8,6	3	8,6	8,9
H ₃ BO ₃	6,2	3	6,2	6,2
KI	0,86	0,5	0,83	0,8
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,025	0,025	-	0,025
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	-	0,005	-	0,25
Витамины				
Myo-Inositol	100	500	100	100
Тиамин HCl (B1)	1	2	0,4	0,1
Пиридоксин HCl (B6)	0,5	0,5	0,5	0,5
Фолиевая кислота	0,5	-	-	-
Никотиновая кислота (PP)	0,5	0,5	0,5	0,5
Другие компоненты				
Глицин	2	2	-	2
L-цистеин	-	50	-	-
Биотин	1	-	-	-
Сахароза	-	-	-	30,000
Мальтоза	90,000	90,000	90,000	-
2,4-Д	1,5	5	0,5	2,5
ИУК	-	-	1,0	-
Кинетин	0,5	-	0,3	-
ПФА	20	-	-	-
БАП	-	0,5	-	-
Этефон	-	20	-	-
НУК	-	-	-	-
Фиколл 400	-	100,000	-	-
Агар	-	-	-	8,000
Агароза	6,000	6,000	-	-
Гельрат	-	-	-	-
Фитогель	-	-	200	-
pH	5,8	5,8	5,8	5,8

Обработка изолированных пыльников тепловым шоком была проведена при 32 °С в течение 36 часов в темноте в термостате Binder, для улучшения андрогенеза у озимой пшеницы [13, 16].

Культивирование пыльников было осуществлено по протоколу описанный С. Lantos с соавт. 2013 [13, 17]. Для предотвращения контаминации в питательную среду был добавлен антибиотик цефотаксим в концентрации 200 мг/л.

Для регенерации была использована питательная среда Мурасиге и Скуга (MS) с модификациями. Состав питательной среды для регенерации представлен так же в таблице 1. Материал, пересаженный на питательную среду для регенерации растений, инкубировался при 16 часовом фотопериоде, освещении 10-15 тыс. люкс и температуре 20-22 °С в фитотроне ЛиА-1 (Россия).

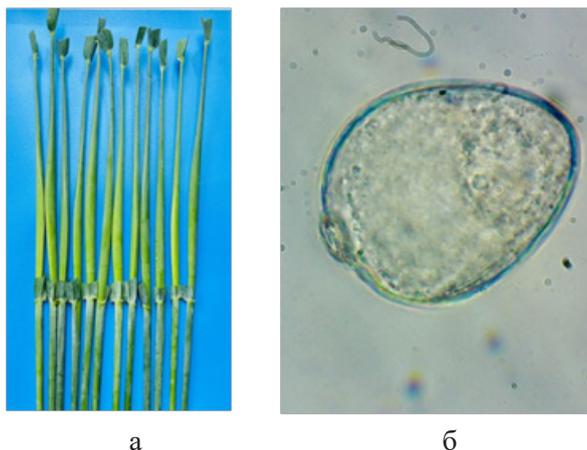
Адаптация растений – регенерантов к почве (перлит) была проведена в фитотроне ЛИА-1 (Россия), где поддерживался температурный режим 23-24 °С, освещение 8-10 тыс. люкс и 80% влажности. В течение первых двух недель (период адаптации) растения-регенеранты опрыскивали раствором фитогормонов (0,5 мг/л кинетин, 2 мг/л гиббереллиновая кислота, 3 мг/л

никотинамид) и поливали раствором воды, содержащим: макро- и микро- соли, хелат железа по прописи Мурасиге и Скуга.

Результаты и обсуждение

Данная работа была направлена на решение важной проблемы в селекции озимой пшеницы в Казахстане, а именно на улучшение и оптимизацию протоколов андрогенеза, повышающих эффективность получения гомозиготных удвоенных гаплоидов.

Оценка стадии микроспор озимой пшеницы, собранных в полевых условиях юго-востока РК показала, что в фазу флагового листа 47-48, согласно десятичному коду Zadoks 60-70% микроспор оцененных колосьев находились на средней и поздней одноядерной стадии развития (рисунок 1).



а – колосья в фазу флагового листа;
б – микроспора на стадии поздней одноядерной микроспоры

Рисунок 1 – Сбор колосьев озимой пшеницы для культуры пыльников

Изучение эмбриогенеза 35 сортов озимой пшеницы проведено на 3 жидких питательных средах: С17, W14 и mMS. Выбранные питательные среды широко используются в гаплоидных экспериментах среди исследователей. Наблюдения по технологии культуры пыльников озимой пшеницы велись по 525 чашках Петри. Результаты оценки выхода андрогенных структур показали, что их уровень образования был низкий и колебался в пределах 1,2-17 АС/чашка Петри. Наибольшее количество андрогенных структур (АС) формировалось на питательной среде С17 – в среднем (2,6 АС/чашка Петри). На данной питательной среде наибольшее количество АС зафиксировано у сортов: Мереке 70 (16±1,1), Арап улучшенный (17±1,1) и Фараби (14±1,2). На второй питательной среде W14 уровень андрогенеза был 1,9 АС/чашка Петри, с вариацией от 0 до 12. Наименьшее образование АС отмечено на среде mMS (0,8 АС/чашка Петри), с диапазоном от 0 до 6±2,2.

Индукция андрогенеза не происходила у 18 генотипов: Алихан, Қызыл бидай, Адия, Қарой 90, Сәтті 14, Хантенгри, Алия, Стекловидная 24, Вавилов, Аманат, Димаш, Алмалы, Егемен 20, Тәлімі 80, Дулати, Бесагаш, Жетысу и Chris – во всех трех питательных средах образование АС отсутствовало (0 АС/чашка Петри). В таблице 2 представлены сорта, по которым зафиксировано образование андрогенных структур.

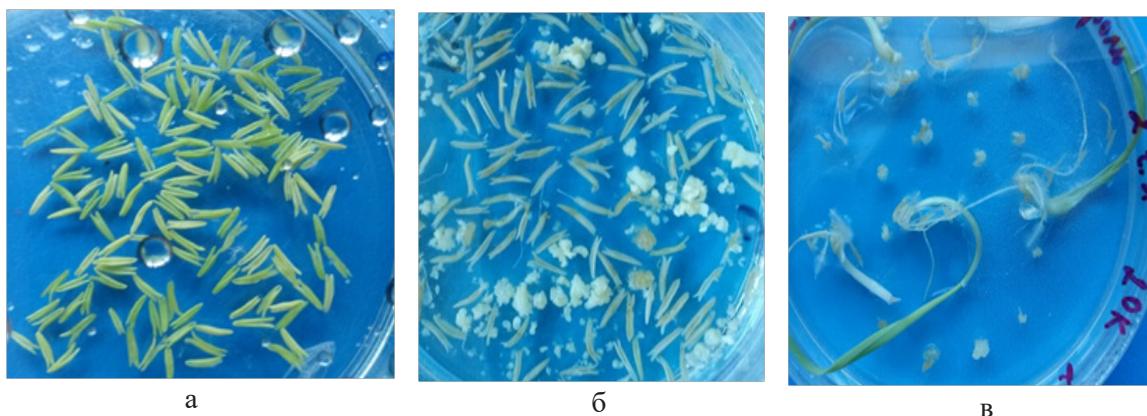
Таблица 2 – Результаты индукции андрогенеза в культуре *in vitro* сортов озимой пшеницы

№	Наименование сорта	Питательные среды		
		W14	С17	mMS
1	Момышулы	5±2,1	0	0
2	Несіпхан	4±1,2	3±1,2	0
3	Бахытжан	3±1,1	4±1,2	5±1,2

Продолжение таблицы 2

4	Мереке 70	12±1,1	16±1,1	0
5	Сапалы	4±1,3	2±1,2	4±1,2
6	Тассей	2±1,0	6±1,4	6±2,2
7	Раминая	0	5±1,4	4±2,2
8	Матай	1,5±1,1	4±1,1	0
9	Майра	0	4±1,4	1,2±1,1
10	Пиротрикс 50	0	0	1,2±1,1
11	Богарная 56	4±1,3	2±1,2	0
12	Арап улучшенный	12±2,7	17±1,1	0
13	Безостая 100	3±1,1	4±1,2	3±1,2
14	Фараби	9±1,1	14±1,2	4±1,3
15	Казахстанская 10	2,5±1,1	5±1,1	0
16	Pavon	1,5±1,1	4±1,1	0
17	Chinas Spring	2,5±1,2	0	0
Среднее значение		1,9	2,6	0,8

По итогам опыта выделены 3 генотипа озимой пшеницы, у которых зафиксирована наиболее высокая частота формирования эмбриоструктур в культуре пыльников: Арап улучшенный (17 АС/чашка Петри), Мереке 70 (16 АС/чашка Петри), Фараби (14 АС/чашка Петри). На рисунке 2 представлены андрогенные структуры и зеленые растения, полученные по сорту Арап улучшенный на питательной среде С17.



а – изолированные пыльники 1-й день, б – образование эмбриоструктур на 30-й день, в – регенерация зеленых растений

Рисунок 2 – Культура пыльников, выделенного отзывчивого сорта озимой пшеницы Арап, улучшенный на питательной среде С17

Дальнейшим этапом технологии является регенерация зеленых растений из образовавшихся андрогенных структур. Наиболее часто используемой питательной средой для регенерации в культуре пыльников является MS (*D. Weigt et al., 2019 [20]; M. Rubtsova, et al., 2013 [24]*), поэтому мы для изучения регенерации андрогенные структуры, достигшие 2-2,5 мм, пересаживали на агаризованную питательную среду для регенерации (MS). Всего было пересажено 286 шт андрогенных структур. Изучение регенерации растений *in vitro* образцов озимой пшеницы из андрогенных структур показало, что 53% имели биполярную структуру и сразу регенерировали в растения, имеющие побег и корни, а 47% были каллусы, из которых регенерировали либо

побеги, либо корни. Из андрогенных структур культуры пыльников было получено 39 зелёных полноценных растений. В итоге регенерация зелёных растений генотипов озимой пшеницы составила 23,4%.

Таким образом, полученные нами данные о генотипической зависимости андрогенезной технологии согласуются с результатами известных зарубежных учёных, таких как Чаба Лантос и Янош Паук — венгерских специалистов, более трёх десятилетий работающих в области гаплоидных технологий в селекции озимой пшеницы [5, 13]. В своих исследованиях они подробно анализируют факторы, влияющие на эффективность данной методики, включая генотипические особенности, условия выращивания донорных растений и состав питательных сред. Учёные подчёркивают необходимость постоянного усовершенствования технологии и активно проводят эксперименты, направленные на повышение её эффективности [19].

Заключение

Установлено, что на питательной среде С17 по изученным сортам озимой пшеницы формировалось наибольшее количество эмбриоподобных структур.

Выделены три сорта озимой пшеницы, наиболее отзывчивые на технологию культуры пыльников: Мереке 70 (16 эмбриоподобных структур на чашку Петри), Арап улучшенный (17 АС/чашка Петри) и Фараби (14 АС/чашка Петри).

Использование этих модельных генотипов позволит оптимизировать отдельные компоненты питательной среды, условия предобработки и этапы технологии *in vitro*, способствуя усовершенствованию протокола культуры пыльников для казахстанских сортов озимой пшеницы.

Вклад авторов

Все авторы внесли равноценный вклад в подготовку материалов и публикацию статьи.

Информация о финансировании

Работа выполнена при финансовой поддержке МОН РК на 2024-2026 годы, по бюджетной программе 217 «Развитие науки», подпрограмме 102 «Грантовое финансирование научных исследований», ИРН АР23483859 «Повышение эффективности протокола культуры изолированных микроспор и пыльников *in vitro* озимой пшеницы для ускорения селекции новых сортов», данные исследования послужат основой для дальнейших работ по гаплоидной технологии.

Список литературы

- 1 Акинин, А., Забайкин, Ю., Машкин, Д. (2023). Инновационные методы биотехнологий повышения урожайности растений. *Innovative methods of biotechnology to increase plant productivity 562 Economics: Yesterday, Today and Tomorrow*, 3(13), 559-568.
- 2 *Ұлттық статистика бюросы*. (2025). <https://stat.gov.kz>.
- 3 *Зерно*. (2025). <https://chatgpt.com/c/67ed24ce-f61c-8012-94a3-01e63b7f30f0>.
- 4 Li, H., Singh, R., Braun, H., Pfeiffer, W., Wang, J. (2013). Doubled Haploids versus Conventional Breeding in CIMMYT Wheat Breeding Programs. *Crop science*, 53(1), 74-83. DOI: 10.2135/cropsci2012.02.0116.
- 5 Lantos, Ch., Pauk, J. (2016). Anther culture as an effective tool in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding. *Russian Journal of Genetics*, 52, 794-801. DOI: 10.1134/S102279541608007X.
- 6 Yan, G., Liu, H., Wang, H., Lu, Z., Wang, Y., Mullan, D., Hamblin, J., Liu, C. (2017). Accelerated generation of selfed pure line plants for gene identification and crop breeding. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1786.
- 7 Castillo, A., Valero-Rubira, I., Allué S., Costar, M., Vallés, M. (2021). Bread Wheat Doubled Haploid Production by Anther Culture. *Methods in Molecular Biology*, 2287. DOI: 10.1007/978-1-0716-1315-3_11.

8 Kanbar, O., Lantos, C., Kiss, E., Pauk, J. (2020). Androgenic responses of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) combinations in in vitro anther culture. *Genetika*, 52(1), 337-350. DOI: 10.2298/GENSR2001335K.

9 Wang, H., Enns, J., Nelson, K., et al. (2019). Improving the efficiency of wheat microspore culture methodology: evaluation of pretreatments, gradients, and epigenetic chemicals. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 139, 589-599. DOI: 10.1007/s11240-019-01704-5.

10 Kanbar, O., Lantos, C., Chege, P., Kiss, E., Pauk, J. (2020). Generation of doubled haploid lines from winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding material using in vitro anther culture. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 56(4), 150-158. DOI: 10.17221/113/2019-CJGPB.

11 Kondic-Spika, A., Vukosavljev, M., Kobiljski, B., Hristov, N. (2011). Relationships among androgenetic components in wheat and their responses to the environment. *Journal of Biological Research*, 16, 217-223.

12 Broughton, S. (2011). The application of n-butanol improves embryo and green plant production in anther culture of Australian wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Crop and Pasture Science*, 62(10), 813-822. DOI:10.1071/CP11204.

13 Lantos, C., Weyen, J., Orsini, J., Gnad, H., Schlieter, B., Lein, V., Kontoeski, S., Jacobi, A., Mihaly, R., Broughton, S., Pauk, J. (2013). Efficient application of in vitro anther culture for different European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programmes. *Plant Breeding*, 132(2), 149-154. DOI:10.1111/pbr.12032.

14 He, D., Ouyang, J. (1984). Callus and plantlet formation from cultured wheat anthers at different developmental stages. *Plant Science Letters*, 33(1), 71-79. DOI:10.1016/0304-4211(84)90070-1.

15 El-Hennawy, M., Abdalla, A., Shafey, S., Al-Ashkar, I. (2011). Production of doubled haploid wheat lines (*Triticum aestivum* L.) using anther culture technique. *Annals of Agricultural Sciences*, 56, 63-72. DOI: 10.1016/j.aos.2011.05.008.

16 Islam, S., Tuteja, N. (2012). Enhancement of androgenesis by abiotic stress and other pretreatments in major crop species. *Plant Science*, 182, 134-144. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.10.001.

17 Broughton, S. (2008). Ovary co-culture improves embryo and green plant production in anther culture of Australian spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95, 185-195. DOI:10.1007/s11240-008-9432-7.

18 Żur, I., Dubas, E., Krzewska, M., Janowiak, F. (2015). Current insights into hormonal regulation of microspore embryogenesis. *Frontiers in Plant Science*, 6, 424. DOI:10.3389/fpls.2015.00424.

19 Lantos, Ch., Pauk, J. (2016). Anther culture as an effective tool in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding. *Russ J Genetika*, 52, 794-801. DOI:10.1134/S102279541608007X.

20 Weigt, D., Kiel, A., Siatkowski, I., Zyprych-Walczak, J., Tomkowiak, A., Kwiatek M. (2019). Comparison of the Androgenic Response of Spring and Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants*, 9(1), 49. DOI:10.3390/plants9010049.

21 Yezhebayeva, R., Abdurakhmanova, M., Bastaubayeva, Sh., Tadjibayev, D. (2019). Effect of zeatin on in vitro embryogenesis and plant regeneration from anther culture of hexaploid triticale (\times *Triticosecale Wittmack*). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 54(5), 934-945. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.5.934eng.

22 Jia, X., Zhuang, J., Hu, S., Ye, C., Nie, D. (1994). Establishment and application of the medium of anther culture of intergeneric hybrids of *Triticum aestivum* \times *Triticum-Agropyron*. *Sci. Agri. Sinica*, 27, 83-87.

23 Rubtsova, M., Gnad, H., Melzer, M., Weyen, J., Gils, M. (2013). The auxins centrophenoxine and 2, 4-D differ in their effects on non-directly induced chromosome doubling in anther culture of wheat (*T. aestivum* L.). *Plant Biotechnology Reports*, 7(3), 247-255. DOI: 10.1007/s11816-012-0256-x.

24 Weigt, D., Niemann, J., Siatkowski, I., Zyprych-Walczak, J., Olejnik, P., Kurasiak-Popowska, D. (2019). Effect of Zearalenone and Hormone Regulators on Microspore Embryogenesis in Anther Culture of Wheat. *Plants*, 8(11), 487. DOI: 10.3390/plants8110487.

25 Murashige, T., Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiology*, 15, 473-497, DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

References

- 1 Akinin, A., Zabajkin, Y., Mashkin, D. (2023). Innovacionnye metody biotekhnologij povysheniya urozhajnosti rastenij. *Innovative methods of biotechnology to increase plant productivity. Economics: Yesterday, Today and Tomorrow*, 3(13), 559-568.
- 2 *Ultyq statistika bürosy*. (2025). <https://stat.gov.kz>
- 3 Zerno. (2025). <https://chatgpt.com/c/67ed24ce-f61c-8012-94a3-01e63b7f30f0>
- 4 Li H., Singh R., Braun H., Pfeiffer W., Wang J. (2013). Doubled Haploids versus Conventional Breeding in CIMMYT Wheat Breeding Programs. *Crop science*, 53(1), 74-83. DOI: 10.2135/cropsci2012.02.0116.
- 5 Lantos Ch., Pauk, J. (2016). Anther culture as an effective tool in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding. *Russian Journal of Genetics*, 52, 794-801. DOI:10.1134/S102279541608007X.
- 6 Yan, G., Liu, H., Wang, H., Lu, Z., Wang, Y., Mullan, D., Hamblin, J., Liu, C. (2017). Accelerated generation of selfed pure line plants for gene identification and crop breeding. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1786.
- 7 Castillo, A., Valero-Rubira, I., Allué S., Costar, M., Vallés, M. (2021). Bread Wheat Doubled Haploid Production by Anther Culture. *Methods in Molecular Biology*, 2287. DOI:10.1007/978-1-0716-1315-3_11.
- 8 Kanbar, O., Lantos, Ch., Kiss, E., Pauk, J. (2020). Androgenic responses of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) combinations in in vitro anther culture. *Genetika*, 52(1), 337-350. DOI:10.2298/GENSR2001335K.
- 9 Wang, H., Enns, J., Nelson, K., et al. (2019). Improving the efficiency of wheat microspore culture methodology: evaluation of pretreatments, gradients, and epigenetic chemicals. *Plant Cell Tiss Organ Cult.*, 139, 589-599. DOI:10.1007/s11240-019-01704-5.
- 10 Kanbar, O., Lantos, C., Chege, P., Kiss, E., Pauk, J. (2020). Generation of doubled haploid lines from winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding material using in vitro anther culture. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 56(4), 150-158. DOI: 10.17221/113/2019-CJGPB.
- 11 Kondic-Spika, A., Vukosavljev, M., Kobiljski, B., Hristov, N. (2011). Relationships among androgenetic components in wheat and their responses to the environment. *Journal of Biological Research*, 16, 217-223.
- 12 Broughton, S. (2011). The application of n-butanol improves embryo and green plant production in anther culture of Australian wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Crop and Pasture Science*, 62(10), 813822. DOI:10.1071/CP11204.
- 13 Lantos, C., Weyen, J., Orsini, J., Gnad, H., Schlieter, B., Lein, V., Kontoeski, S., Jacobi, A., Mihaly, R., Broughton, S., Pauk, J. (2013). Efficient application of in vitro anther culture for different European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding programmes. *Plant Breeding*, 132(2), 149-154. DOI:10.1111/pbr.12032.
- 14 He, D., Ouyang, J. (1984). Callus and plantlet formation from cultured wheat anthers at different developmental stages. *Plant Science Letters*, 33(1), 71-79. DOI:10.1016/0304-4211(84)90070-1.
- 15 El-Hennawy, M., Abdalla, A., Shafey, S., Al-Ashkar, I. (2011). Production of doubled haploid wheat lines (*Triticum aestivum* L.) using anther culture technique. *Annals of Agricultural Sciences*, 56, 63-72. DOI: 10.1016/j.aos.2011.05.008.
- 16 Islam, S., Tuteja, N. (2012). Enhancement of androgenesis by abiotic stress and other pretreatments in major crop species. *Plant Science*, 182, 134-144. DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.10.001.
- 17 Broughton, S. (2008). Ovary co-culture improves embryo and green plant production in anther culture of Australian spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95, 185-195. DOI:10.1007/s11240-008-9432-7.
- 18 Žur, I., Dubas, E., Krzewska, M., Janowiak, F. (2015). Current insights into hormonal regulation of microspore embryogenesis. *Frontiers in Plant Science*, 6, 424. DOI:10.3389/fpls.2015.00424.
- 19 Lantos, Ch., Pauk, J. (2016). Anther culture as an effective tool in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding. *Russ J Genet*, 52, 794-801. DOI:10.1134/S102279541608007X.

20 Weigt, D., Kiel, A., Siatkowski, I., Zyprych-Walczak, J., Tomkowiak, A., Kwiatek M. (2019). Comparison of the Androgenic Response of Spring and Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants*, 9(1), 49. DOI:10.3390/plants9010049.

21 Yezhebayeva, R., Abdurakhmanova, M., Bastaubayeva, Sh., Tadjibayev, D. (2019). Effect of zeatin on in vitro embryogenesis and plant regeneration from anther culture of hexaploid triticale (\times *Triticosecale Wittmack*). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 54(5), 934-945. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.5.934eng.

22 Jia, X., Zhuang, J., Hu, S., Ye, C., Nie, D. (1994). Establishment and application of the medium of anther culture of intergeneric hybrids of *Triticum aestivum* \times *Triticum-Agropyron*. *Sci. Agri. Sinica*, 27, 83-87.

23 Rubtsova, M., Gnad, H., Melzer, M., Weyen, J., Gils, M. (2013). The auxins centrophenoxine and 2, 4-D differ in their effects on non-directly induced chromosome doubling in anther culture of wheat (*T. aestivum* L.). *Plant Biotechnology Reports*, 7(3), 247-255. DOI:10.1007/s11816-012-0256-x.

24 Weigt, D., Niemann, J., Siatkowski, I., Zyprych-Walczak, J., Olejnik, P., Kurasiak-Popowska, D. (2019). Effect of Zearalenone and Hormone Regulators on Microspore Embryogenesis in Anther Culture of Wheat. *Plants*, 8(11), article 487. DOI:10.3390/plants8110487.

25 Murashige, T., Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiology*, 15, 473-497. DOI:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

Қазақстанның күздік бидай сұрттарының *in vitro* антер мәдениетіндегі андрогенезге жауапкершілігі

Абекова А.М., Ержебаева Р.С., Базылова Т.А., Айнебекова Б.А.

Түйін

Алғышарттар мен мақсат. Бидайдың селекциялық бағдарламаларында өнімділігі жоғары және абиотикалық және биотикалық факторларға төзімділігімен сипатталатын жаңа сорттарды жасау басты мәселе болып табылады. Бидай сортын жасау үшін селекционерлерге 10-14 жыл қажет. Көп селекционерлер дәстүрлі және биотехнологиялық әдістерді біріктіру арқылы осы мақсатқа жетуге тырысады, осылайша күш пен уақытты үнемдейді. Тозандық дақылды қолдану (гаплоидты технология) ең тиімді биотехнологиялық әдістердің бірі болып табылады. Дегенмен, ғалымдар гаплоидты технология бойынша әзірленген және жарияланған хаттамаларды қайталау мүмкіндігінің төмен екенін атап өтті. Қазақстанда гаплоидты технологиялар бидайдың селекциялық процесіне енгізілмеген. Кедергілер генотипке жоғары тәуелділік, жарияланған хаттамалардың қайталану мүмкіндігінің төмендігі, микроспоралардан эмбрион тәрізді құрылымдардың пайда болуының төмен жиілігі және жасыл өсімдіктердің регенерациясы болып табылады. Біздің зерттеуіміздің мақсаты – андрогенез хаттамасын жетілдіру үшін андрогенезге жауап беретін күздік бидайдың модельдік генотиптерін таңдау.

Материалдар мен әдістер. Зерттеулер ҚР оңтүстік-шығысында орналасқан «Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми зерттеу институты» ЖШС («ҚазЕӨШҒЗИ» ЖШС), дәнді дақылдар бөлімінің далалық стационарында және өсімдіктер биотехнологиясы зертханасында жүргізілді. Зерттеу материалы ретінде әлемдік және қазақстандық селекциядағы күздік бидайдың 35 түрі пайдаланылды. Андрогенезге жауап беруді бағалау *in vitro* тозаң культурасы технологиясын қолдану арқылы жүргізілді.

Нәтижелер. Күздік бидайдың 35 сортын тозаң культурасы әдісімен үш түрлі қоректік ортада зерттеу генотиптердің андрогенезге жауап беру мүмкіндігінің өте төмен екенін анықтауға мүмкіндік берді. 14 генотип 0,8 - 12 АҚ/Петри табақшасы деңгейінде жауап берді, 18 генотип андрогенез индукцияларына жауап бермеді (0 АҚ/Петри табақшасы). Күздік бидайдың 3 сорты бөлініп алынды: Мереке 70, жақсартылған Арап және С17 қоректік ортасында андрогендік құрылымдардың (АҚ) түзілу деңгейі 14-17 АҚ/Петри табақшасын құраған Фараби.

Қорытынды. Бөлініп алынған генотиптер қазақстандық күздік бидай пулының андрогенез хаттамасын оңтайландыру және жетілдіру үшін үлгі ретінде пайдаланылатын болады.

Кілт сөздер: күздік бидай; гаплоидты технология; *in vitro* тозаң культурасы, эмбриогенез.

Responsiveness of Kazakhstan winter wheat varieties to androgenesis in *in vitro* anther culture

Alfiya M. Abekova, Raushan S. Yerzhebayeva, Tamara A. Bazylova, Bakyt A. Ainebekova

Abstract

Background and Aim. In wheat breeding programs, one of the main challenges is the creation of new varieties characterized by high productivity and resistance to abiotic and biotic stress factors. To create a wheat variety, breeders need 10-14 years. To accelerate this process, breeders increasingly combine traditional and biotechnological approaches, saving both time and effort. The use of anther culture (haploid technology) is one of the most effective biotechnological methods. However, scientists note the low reproducibility of existing and published protocols for haploid technology. In Kazakhstan, haploid technologies have not yet been introduced into the wheat breeding process. The obstacles include strong genotype dependence, low reproducibility of published protocols, and a low frequency of embryo-like structure formation and green plant regeneration from microspores. The aim of our research is to identify model genotypes of winter wheat that are responsive to androgenesis in order to improve the androgenesis protocol.

Materials and Methods. The studies were conducted at the Kazakh Scientific Research Institute of Agriculture and Plant Growing LLP (“KSRIAPG”), located in the southeast of the Republic of Kazakhstan, at the field station of the grain crops department and in the plant biotechnology laboratory. A total of 35 winter wheat varieties of both international and Kazakhstani origin were used as research material. The responsiveness to androgenesis was assessed using *in vitro* anther culture technology.

Results. The study of 35 winter wheat varieties on three nutrient media using the anther culture method revealed generally low responsiveness to androgenesis among the studied genotypes. 14 genotypes showed responsiveness ranging from 0.8 to 12 androgenic structures (AS) per Petri dish, while 18 genotypes did not respond to androgenesis induction (0 AS/Petri dish). Three winter wheat varieties: *Mereke 70*, *Arap Improved*, and *Farabi*- were identified as the most responsive, with 14-17 AS/Petri dish on the C17 nutrient medium.

Conclusion. The selected responsive genotypes will be used as models for optimization and improvement of the androgenesis protocol for the Kazakhstan winter wheat breeding pool.

Keywords: winter wheat; haploid technology; *in vitro* anther culture; embryogenesis.