На правах рукописи



Жилин Степан Владимирович

ПОЛУЧЕНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ТРИТИКАЛЕ И ИХ СЕЛЕКЦИОННАЯ ЦЕННОСТЬ В УСЛОВИЯХ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений

(сельскохозяйственные науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Саратов – 2026

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный аграрный центр Юго-Востока» (ФАНЦ Юго-Востока)

Научный руководитель: **Дьячук Таисия Ивановна,**
доктор биологических наук, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока» (ФАНЦ Юго-Востока) лаборатория клеточной селекции, главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты: **Рубец Валентина Сергеевна,**
доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), отдел селекции и первичного семеноводства, ведущий научный сотрудник;

Старчак Виктория Игоревна,
кандидат сельскохозяйственных наук, ФГБНУ «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы» (ФГБНУ РосНИИСК «Россорго»), лаборатория спидбридинга в селекции сельскохозяйственных культур, ведущий научный сотрудник.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный Ростовский аграрный научный центр» (ФГБНУ «ФРАНЦ»)

Защита диссертации состоится «25» декабря 2026 г. в 10-00 часов на заседании диссертационного совета 24.1.199.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН» по адресу: 298648, Российская Федерация, Республика Крым, м.о. город-курорт Ялта, тер. Никитский ботанический сад, здание 1, строение 1; e-mail: dissovet.nbs@yandex.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН» по адресу: 298648, Российская Федерация, Республика Крым, м.о. город-курорт Ялта, тер. Никитский ботанический сад, здание 1 строение 1, адрес сайта: http://obr.nbgnsc.ru

Автореферат диссертации разослан « 25 » октября 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук Зыкова Вера Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Стабильное производство зерна в засушливых условиях возможно только при использовании биоразнообразия возделываемых культур. Надежным буфером в валовом производстве зерна является тритикале – культура, способная в наибольшей степени противостоять неблагоприятным факторам внешней среды. На современном этапе тритикале – это коммерческая культура многоцелевого назначения, с огромным потенциалом в качестве продукта питания человека и корма для животных (Blum, 2014; Грабовец и Крохмаль, 2019; Mergoum, 2019). Посевные площади под этой новой зерновой культуры в мире достигают 4 млн га, производство зерна – около 14 млн т. Лидерами по посевным площадям являются европейские страны – Польша, Беларусь, Франция, Германия. Почти 90 % продукции тритикале сосредоточено в Европе. Крупнейшим производителем зерна тритикале является Польша, на долю которой приходится около 30 % мирового производства (Mergoum et al., 2019). В РФ наиболее успешная селекция культуры ведется в Краснодарском национальном центре зерна им. П.П. Лукьяненко (Ковтуненко и др., 2022), ФРАНЦ (Северо-Донецкая опытная станция (Грабовец и Крохмаль, 2019), ФИЦ «Немчиновка» (Воронов и др., 2021), Самарском федеральном исследовательском центре РАН (Горянина, 2018) и других научных учреждениях. Происходящие изменения климата, быстрая эволюция патогенов, а также требования современного рынка диктуют необходимость ускоренного создания сортов при одновременном снижении затрат на их получение. Производство удвоенных гаплоидов (DH-линий) позволяет сокращать сроки создания гомозиготных линий в среднем на 5–7 лет (Wedzony, 2015; Weyen, 2021). Для получения гаплоидных растений тритикале в массовом количестве применяется метод андрогенеза *in vitro*, который реализуется в культуре пыльников или изолированных микроспор.

Степень разработанности темы исследований. Андрогенез – наиболее широко применяемый метод индукции гаплоидов у тритикале. Культура пыльников рутинно применяется в различных Европейских компаниях, метод относительно простой, менее трудоемкий и низко затратный в сравнении с культурой изолированных микроспор (Wedzony, 2015). Показано, что на отзывчивость пыльников при культивировании *in vitro* влияют многочисленные эндогенные и экзогенные факторы: условия выращивания донорных растений, генотип, способы и продолжительность предобработок соцветий или пыльников, стадия развития пыльника, состав питательных сред (Germana, 2011; Asif, 2020). Для индукции спорофитного развития необходимы стрессовые воздействия. У тритикале для этой цели широко применяются пониженные положительные температуры (Wedzony et al.2019; Zur et al., 2021). Эффективным является также комплексное воздействие пониженных и повышенных температур (Ержебаева, 2019). Ограничивающими факторами в стрессовой индукции микроспорового эмбриогенеза являются сверхпродукция реактивных форм кислорода. Повышение устойчивости клеток к применяемым стрессам с использованием различных химических веществ является важной частью стратегии индукции андрогенеза (Niazian and Shariatpanahi, 2020). Главной группой применяемых веществ являются регуляторы роста, стрессовые гормоны (абсцизовая кислота), полиамины, клеточные антиоксиданты (Zur, 2014). Несмотря на разработку различных протоколов получения гаплоидных растений тритикале в культуре изолированных пыльников и достигнутый прогресс в регенерации зеленых растений, основными сдерживающими факторами остаются генотипическая зависимость, низкая частота регенерации растений, высокий процент альбиносных растений и наличие анеуплоидов (Wedzony et al., 2015; Kwiatek et al., 2020, Zur, 2021). Названные проблемы сдерживают разработку эффективных протоколов производства гаплоидных растений и удвоенных гаплоидов, сокращающих сроки и затраты на создание сортов по сравнению с традиционной селекцией (Mishra et al., 2021). Число сортов тритикале, созданных на основе гаплоидии, незначительное в сравнении с другими злаками (пшеница, ячмень, рис) (Sharma et al., 2022). В РФ впервые с

использованием метода гаплоидии был создан сорт озимой гексаплоидной тритикале Святозар (Патент №7898 РФ на селекционное достижение сорт озимой тритикале Святозар).

Цель исследований. Оптимизировать метод андрогенеза *in vitro* для получения DH-линий тритикале, адаптированных к засушливым условиям Нижнего Поволжья.

Задачи исследований:

1. Провести сравнительный анализ влияния индукционных питательных сред С-17 и Р-2 на параметры гаплопродукции тритикале в культуре пыльников *in vitro;*
2. Выявить влияние фитогормонов (кинетина и зеатина) и источника углеводов (мальтозы и сахарозы) в составе индукционной питательной среды С-17 на основные этапы гаплопродукции тритикале в культуре изолированных пыльников;
3. Оценить возможности применения параметров устьичных клеток эпидермиса листа (размеров замыкающих клеток и частоты устьиц) для массового скрининга уровня плоидности регенерантов, полученных в культуре пыльников тритикале;
4. Идентифицировать DH-линии по электрофоретическим спектрам запасных белков (глиадинов);
5. Оценить степень выраженности селекционно-ценных признаков DH-линий по сравнению с сортами, допущенными к возделыванию в условиях Нижневолжского региона.

Научная новизна. Оптимизирована методика получения гаплоидных растений тритикале в культуре пыльников *in vitro*. Впервые установлено, что включение зеатина в состав агаризованной индукционной питательной среды С-17 (0,4 мг/л) повышает эффективность индукционной фазы андрогенеза в 1,6 раз, общую регенерацию в 1,5 раза и выход зеленых растений в 2,5 раза относительно кинетина. Выявлено, что положительный эффект зеатина при получении гаплоидных растений тритикале в культуре пыльников обусловлен эффективностью индукционной стадии, т.е. более высокой частотой формирования андрогенетических структур, а не их лучшей дифференцировкой в сравнении с кинетином. Впервые для тритикале показана возможность использования морфометрических показателей замыкающих клеток устьиц (длины клеток и плотности их расположения на 1 мм^2) для массовой оценки уровня плоидности регенерантов, полученных в культуре пыльников. Проведена идентификация DH-линий тритикале по электрофоретическим спектрам запасных белков (глиадинов). Расширен генофонд тритикале на основе DH-линий, адаптированных к условиям Нижнего Поволжья, с комплексом хозяйственно-ценных признаков.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследований. Результаты, полученные в настоящей работе, демонстрируют эффективность оптимизированного протокола для получения гаплоидных растений тритикале в культуре пыльников *in vitro*. Впервые установлена эффективность зеатина в сравнении с кинетином в составе агаризованной индукционной питательной среды по отдельным параметрам гаплопродукции тритикале. Модифицированная агаризованная индукционная питательная среда С-17 на основе включения зеатина (0,4 мг/л) в качестве регулятора роста и мальтозы (90 г/л) в качестве источника углеводов может применяться для массового получения гаплоидных растений тритикале в культуре пыльников *in vitro.* Впервые показана возможность применения морфометрических характеристик устьичных клеток (длина и плотность расположения) для массовой оценки уровня плоидности регенерантов, полученных в культуре пыльников.

Создана рабочая коллекция исходного материала (DH-линий) для решения приоритетных задач селекции озимой тритикале в условиях Нижнего Поволжья с наиболее значимыми селекционными признаками: зерновой продуктивности от 4,4 до 5,7 т/га – 11 образцов (№№ 1, 2, 3, 7, 12, 18, 26, 27, 30, 33, 53), 7 источников сниженной высоты растений от 83 до 118 см с высокой зерновой продуктивностью (№№ 18, 26, 29, 31, 34, 40, 53), массы 1000 зерен – 19 образцов (№№ 1, 2, 9, 10, 12, 13, 17, 20, 25, 28, 31, 32, 39, 44, 52, 56, 59, 64, 65), вес зерна с колоса от 3,4 до 3,9 г – 11 (№№ 9, 12, 17, 18, 24, 26, 27, 28, 32, 39, 59), озернённость главного колоса от 67 до 78 шт. – 6 (№№ 9, 20, 24, 26, 27, 34), густоты

продуктивного стеблестоя от 488 до 690 шт. – 15 (№№ 2, 3, 7, 9, 12, 22, 23, 29, 30, 33, 40, 44, 53, 59, 66), 12 – скороспелости (№№ 2, 4, 9, 10, 12, 19, 25, 26, 28, 31, 32, 33) и 6 источников устойчивости к предуборочному прорастанию зерна с ИП от 0 до 0,2 (№№ 6, 24, 25, 26, 34, 40).

Методология и методы исследования. Гаплоидные растения получали в культуре изолированных пыльников *in vitro*. Уровень плоидности регенерантов определяли косвенными методами по морфометрическим показателям устьичных клеток эпидермиса листа с их подтверждением прямыми цитогенетическими методами. Электрофорез запасных белков проводили для подтверждения однородности DH-линий. Для изучения селекционной ценности применены известные методы полевых и лабораторных исследований: анализ урожая и элементов его структуры, изучение вегетационного периода, качества зерна и устойчивости к основным грибным болезням. Показатели качества зерна (содержание белка и клейковины, ИДК, объем SDS-осадка, хлебопекарная оценка и реологические свойства теста) были определены в лаборатории качества зерна «ФАНЦ Юго-Востока». Данные исследований подвергались статистической обработке.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Модификация агаризованной индукционной питательной среды С-17, основанная на включении зеатина в концентрации 0,4 мг/л и мальтозы в концентрации 9 %.
2. Косвенный метод оценки уровня плоидности регенерантов тритикале, полученных в культуре пыльников *in vitro*, по морфометрическим показателям замыкающих клеток устьиц.
3. Идентификация DH-линий тритикале по электрофоретическим спектрам запасных белков (глиадинов).
4. Рабочая коллекция исходного материала на основе DH-линий с комплексом хозяйственно-ценных признаков как исходный материал для селекции озимой тритикале в засушливых условиях Нижнего Поволжья.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность результатов исследований, научных положений, выводов и заключений обоснованы объёмом полевых и лабораторных экспериментов, проведённых в соответствии с общепринятыми методиками, применением современных методов исследований, анализом полученных данных методами статистической обработки.

Результаты исследований были представлены на следующих конференциях: Международная научная конференция «Генетика, биотехнология, селекция, семеноводство технологии выращивания и переработки тритикале, посвященная 110-летию со дня рождения основателя ВНИИСБ академика Н.В. Турбина» (Москва, 10 ноября 2022 г.); Международная научно-практическая конференция «Вавиловские чтения – 2022», посвященная 135-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова, (Саратов, 22–25 ноября 2022 г.); Международная конференция «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» (ФГБНУ ВНИИСБ, Москва, 14–15 ноября 2023 г.).; IV Национальная научно-практическая конференция, посвященная 150-летию Г.К. Мейстера (Саратов, 20 апреля 2023 г.).; 6-й Международной конференции «Генофонд и селекция растений» (Новосибирск, 23–25 ноября 2022 г.); 7-й Международной конференции «Генофонд и селекция растений», посвященной 95-летию академика РАН П.Л. Гончарова (Новосибирск, 10–12 апреля 2024 г.); Всероссийской научно-практической конференции «Ильинские чтения», посвященной 100-летнему юбилею Ильиных Лидии Герасимовны и Василия Алексеевича в рамках празднования 300-летия Российской Академии наук (Саратов. 03–05 июля 2024 г.); Международной научно-практической конференции, посвященной 137-летию со дня рождения академика Н.И. Вавилова (Саратов, 25–29 ноября 2024 г.).

Личный вклад соискателя. Автор принимал личное участие на всех этапах исследования – обоснования проблемы, постановки задач исследования, планировании экспериментов и обсуждении полученных результатов. Изучена литература для обоснования актуальности изучаемой темы, освоены методики, выполнены полевые и лабораторные

исследования, проведена статистическая обработка данных. Проанализированы полученные результаты, сформулированы выводы и написана диссертационная работа.

Публикации. Материалы исследований представлены в 19 публикациях, из них 6 статей входят в наукометрическую базу ВАК РФ. Получен патент и авторское свидетельство на сорт тритикале озимой КС1. С участием диссертанта принята заявка на патент и допуск к использованию на сорт тритикале озимой Тайча.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 162 страницах компьютерной верстки, состоит из введения, трех глав (обзора литературы, объекта и методов исследований и экспериментальной части), выводов, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 11 рисунками и 29 таблицами. Список литературы включает 228 наименований, в том числе 91 отечественных и 137 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 СЕЛЕКЦИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ ТРИТИКАЛЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Краткая история селекции тритикале. В диссертации приведен анализ работ отечественных и зарубежных авторов по истории создания и современному состоянию селекции тритикале, в т.ч. в научных учреждениях РФ. Отражена роль Саратовских ученых Г.К. Мейстера и Н.С. Орловой в выделении естественных гибридов между пшеницей и рожью и их значения в селекции тритикале в Поволжье.

1.2 Гаплоидия в селекции злаков.

1.2.1 Андрогенез *in vitro* у тритикале. На основании широкого круга источников проведен анализ исторического контекста и современного состояния метода культуры пыльников тритикале. Описаны его преимущества и недостатки, а также основные неразрешенные проблемы для массового получения гаплоидных растений.

1.2.2 Метод селективной элиминации хромосом при отдаленной гибридизации. Рассмотрена сущность метода и описаны причины, по которым у тритикале метод не нашел широкого применения в отличие от других видов злаков (пшеницы и ячменя).

Глава 2. МАТЕРИАЛ, МЕТОДЫ И УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Изучаемый материал. Исследования проведены в лаборатории клеточной селекции ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока» в 2021–2024 гг. Объект исследований – озимая гексаплоидная тритикале (×*Triticosecale* Wittmack). Материалом для изучения селекционной ценности служили 60 DH-линий озимой тритикале, из которых 29 получены в скрещиваниях озимой тритикале с мягкой пшеницей. В качестве стандартов служили три сорта озимой тритикале – Зубр, Валентин 90 (допущенные к использованию в Нижневолжском регионе РФ) и Георг (допущен к использованию по Средневолжскому региону РФ). Для оптимизации состава индукционной питательной среды в качестве донорных использовали растения 9 перспективных линий тритикале селекции ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока».

2.2 Методы исследований.

2.2.1 Получение DH-линий тритикале. Для получения гаплоидных растений тритикале донорные растения выращивали в полевых условиях. Срезанные побеги помещали в бытовой холодильник на 14 суток при t +14 ^{0}C. Для культивирования пыльников в качестве базовой использовали агаризованную питательную среду С-17, содержащую 2 мг/л 2,4-Д, кинетин или зеатин (0,4 мг/л), 9 % сахарозу или мальтозу в качестве источника углеводов. Культивирование пыльников проводили в темноте в течение 5–6 недель в климатостате «КС-200» (Россия) при температуре 25–28 ^{0}C. Эмбриогенные структуры размером более 2 мм переносили на питательную среду MS для регенерации растений, с содержанием ИУК 0,5 мг/л, кинетина 0,2 мг/л и сахарозы 3%.

Регенерация растений проходила при 16-часовом фотопериоде, освещении 10 тыс. лк и температуре 25–28 ^{0}C. Растения-регенеранты яровизировали в условиях *in vitro* при температуре 4 ^{0}C в течение 2-х месяцев. Яровизированные растения высаживали в питательный грунт «ТЕРРАВИТА» в отдельные стаканчики и культивировали в растильном боксе до стадии кущения. Удвоение хромосомного набора проводили обработкой

регенерантов раствором колхицина 0,2 % с добавлением 2 % ДМСО как мембранотропного агента в течение пяти часов. После адаптации растений их выращивание проходило в тепличном боксе при 16 часовом фотопериоде и температуре 22–25 ^{0}С до созревания колосьев.

Эффективность андрогенеза оценивали по следующим показателям: число эмбриогенных пыльников (ЭП/100КП) и число эмбриогенных структур на 100 культивируемых пыльников (ЭС/100КП), общее число регенерантов на 100 культивируемых пыльников и на 100 андрогенетических структур (Р/100КП и Р/100ЭС), число зеленых и альбиносных растений на 100 культивируемых пыльников и на 100 андрогенетических структур (ЗР/100КП и АР/100КП, ЗР/100ЭС и АР/100ЭС).

Уровень плоидности регенерантов определяли косвенными методами по морфометрическим показателям устьичных клеток эпидермиса листа (длине устьичных клеток и плотности их расположения) с их подтверждением прямыми цитогенетическими методами (Паушева, 1980). Для определения уровня плоидности на каждом растении отбирали по 2–3 полностью развитых листа, у которых пинцетом с нижней стороны снимали эпидерму. Высечки из листьев окрашивали в капле раствора йод-йодистого калия (1 г йода и 2 г йодида калия), растворенные в 100 мл дистиллированной воды (Thomas, 2000; Клименко, 2021). Препараты просматривали под микроскопом Nexcope NE 620 (Китай) с использованием объектива 40х. Контрольными вариантами служили параметры устьиц и хлоропластов растений, полученных из семян тритикале с диплоидным числом хромосом. Снимки сделаны камерой «Microscope Digital Camera Buc5IB-700M» (Китай).

2.2.2 Изучение селекционной ценности DH-линий тритикале. Полевые опыты закладывались в селекционном севообороте ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока». Площадь делянок 3 м^2, размещение делянок рандомизированное. Посев проводили сеялкой ССФК-8, уборку – комбайном WINTERSTEIGER, (модель Classic Plus). Для оценки линий тритикале к предуборочному прорастанию зерна проведена искусственная провокация прорастания в чашках Петри в различные периоды развития зерновки, с одновременным определением содержания сухого вещества. Индекс прорастания определяли по формуле: ИП=7n1+6n2+5n3+4n4+3n5+2n6+1n7/количество дней проращивания х количество зерен, где n1...n7 – число проросших зерен на 1, 2-й и последующие дни проращивания. Индекс проращивания ранжируется от 0 до 1. К высокоустойчивым к предуборочному прорастанию зерна принято относить сорта, индекс прорастания которых на 7-е сутки не превышает 0,1–0,2 (Biddulph et al., 2008).

Параметры качества зерна определены в лаборатории качества зерна ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока». Содержание белка определялось на приборе INFRATECH 1241 Grain Analyzer. Качество клейковины – на приборе ИДК-1, реологические характеристики – на фариографе фирмы Brabender. Число падения определяли на приборе Falling Number по Хагбергу-Пертену. Для определения качества зерна применялась одна из методик SDS-седиментации (Бебякин и др., 1987). Анализ хлебопекарных свойств проводился безопарным методом лабораторной выпечки зерна.

Для идентификации и регистрации DH-линий использовали белковые формулы, отражающие состав электрофоретических компонентов запасного белка эндосперма – глиадина. Электрофорез проводили в кислом буфере (рН 3,1) по методике ВИР (Конарев, 2006; Пенева, 2019, 2020).

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программ «Статистический и биометрико-генетический анализ в растениеводстве, генетике и селекции» методом двухфакторного дисперсионного анализа со сравнением частных средних по тесту Дункана (AGROS версия 2.10).

2.2.3 Условия проведения исследований. Гидротермический коэффициент характеризует температурный режим и степень увлажнения региона и является одним из главных критериев для определения уровня засушливости. Его значения в 2021 г. составили 0,5; в 2022 г. – 0,7; в 2023 г. – 0,7 и в 2024 г. – 0,3. Наиболее засушливым в годы

исследований был 2024 год. Разнообразные метеорологические условия способствовали всесторонней оценке селекционного материала.

Глава 3 ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ СЕЛЕКЦИОННОЙ ЦЕННОСТИ DH-ЛИНИЙ ТРИТИКАЛЕ (ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ)

3.1 Андрогенез in vitro в культуре пыльников тритикале

3.1.1 Эффективность индукционных питательных сред С-17 и Р-2. Для культивирования пыльников тритикале применяются различные варианты индукционных питательных сред: N6 (Chu, 1978), Potato-2 (Chuang et al., 1978), C-17 (Wang and Chen, 1983), W14 (Lantos, 2018), различающихся по составу минеральных компонентов, источникам углеводов и регуляторов роста. В качестве растительных гормонов применяются, как правило, 2,4-Д (0,5–2 мг/л) и кинетин (0,5–1 мг/л).

Нами была изучена сравнительная эффективность двух индукционных питательных сред С-17 и Р-2 на различные показатели андрогенеза у 6 генотипов озимого тритикале. Основные этапы получения гаплоидных растений, включающие отбор донорных растений, культивирование пыльников, регенерацию растений и удвоение числа хромосом для получения удвоенных гаплоидов (DH-линий) представлены на рисунке 1.

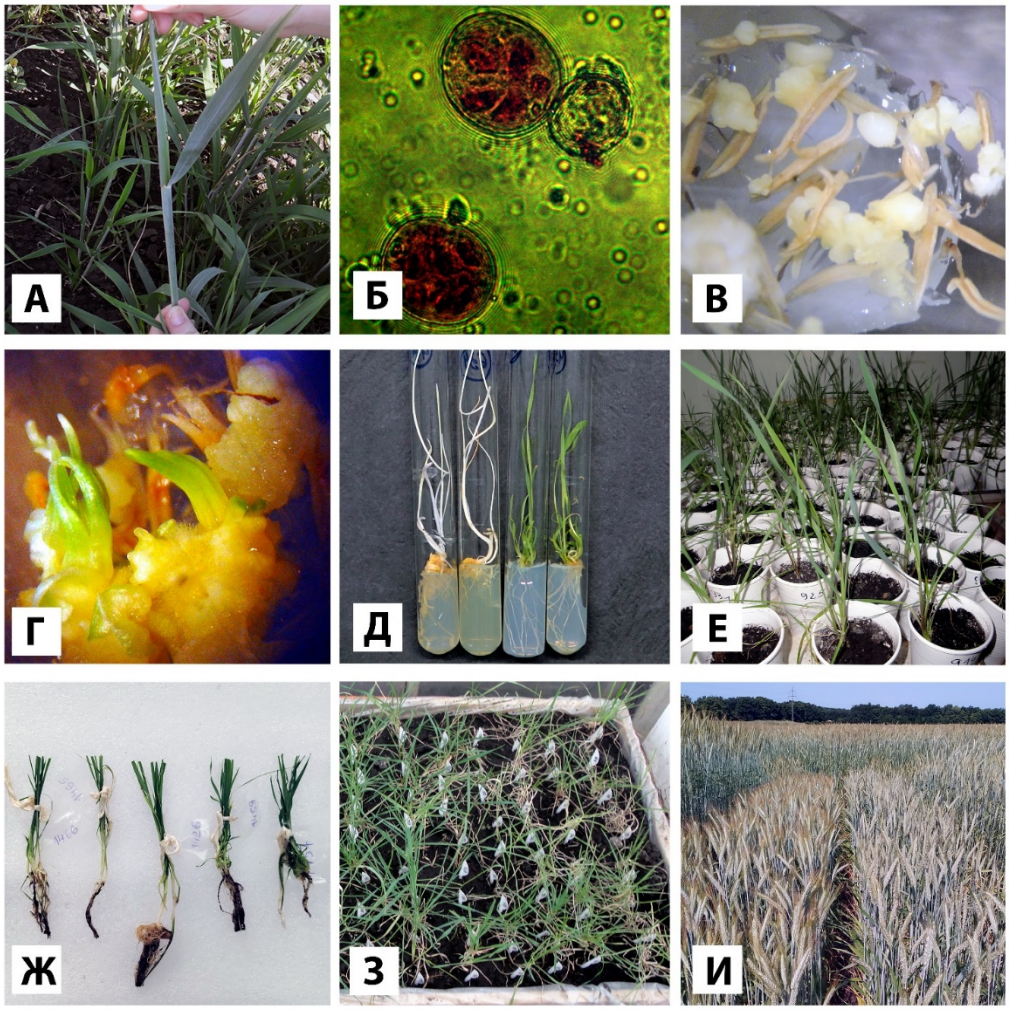


Рисунок 1 - Основные этапы получения гаплоидных растений тритикале
А – морфологический критерий стадии вакуолизированной микроспоры; Б – многоклеточная структура внутри оболочки микроспоры; В – эмбриогенные пыльники; Г– начальные стадии регенерации растений, Д и Е – растения-регенеранты (в т.ч. альбиносы) на питательной среде и в грунте для доращивания; Ж – растения-регенеранты подготовленные к колхицинированию, З – регенеранты в растильном боксе; И – растения в поле.

Сравнительный анализ отдельных показателей андрогенеза свидетельствует о неодинаковой реакции разных генотипов, что согласуется с данными других исследователей (Lantos, 2014; Niazian and Shariatpanahi, 2020). Среда Р-2 оказала достоверное положительное влияние на выход эмбриогенных пыльников и число эмбриогенных структур у четырех генотипов из шести изученных – в зависимости от генотипа значение показателя ЭС/100КП увеличилось в 1–3 раза. В среднем по генотипам значение этого показателя составило 19,1 % для среды С-17 и 27,4 % для Р-2. Питательная среда Р-2 оказала статистически достоверное положительное влияние на общую регенерацию растений (Р/100ЭС) у двух генотипов (№ 95 и № 97), не повлияла у № 100 и достоверно снизила показатель у №№ 96, 98 и 99 (таблица 1). Наиболее важным показателем метода является выход зеленых растений на 100 эмбриогенных структур (ЗР/100ЭС). Варьирование значений показателя составило 0,4–12,1 и 0,5–6,3 для сред С-17 и Р-2 соответственно. У двух генотипов (№ 97 и № 100) выход зеленых растений в зависимости от состава среды не различался, у четырех достоверно снизился на среде Р-2. В среднем на среде С-17 показатель ЗР/100ЭС составил 4,9 %, на Р-2 – 3,0 %.

Ранжир генотипов по отдельным показателям гаплопродукции не совпадал, что согласуется с литературными данными об их независимом генетическом контроле (Abd El-Fatah et al., 2020). В общей сложности в опыте из 7538 ЭС получено 949 растений, из которых 326 зеленых и 623 альбиносных с соотношением 1:2.

Таблица 1 – Результаты оценки эффективности культивирования пыльников тритикале на питательных средах С-17 и Р-2

Генотип	Индукционная стадия				Регенерация растений			
	Питательная среда							
	ЭП/100КП		ЭС/100КП		Р/100ЭС		ЗР/100ЭС	
	С-17	Р-2	С-17	Р-2	С-17	Р-2	С-17	Р-2
95	5,2cd	2,6a	14,4b	7,0a	3,3a	5,6b	2,6cd	0,6a
96	18,8i	25,5j	45,8h	75,1i	14,7hi	12,6g	5,5gh	3,4e
97	2,3a	2,1a	7,6a	6,4a	6,6c	11,1e	0,4a	0,5a
98	9,4gh	10,0h	17,3c	24,7f	22,1k	12,2fg	12,1j	6,3i
99	4,6bc	8,6fg	7,1a	21,9ef	8,0d	6,3c	5,6h	4,6f
100	7,2ef	6,7de	22,3de	27,3g	15,2j	15,0j	2,8d	2,3bcd
НСР для фактора А (генотип)		1,0	2,1		1,2		0,3	
НСР для фактора В (питательная среда)		0,6	1,2		0,7		0,2	
НСР для взаимодействия АхВ		1,5	3,0		1,6		0,5	
Средняя для С-17		8,2a	19,1a		11,6b		4,9b	
Средняя для Р-2		9,1b	27,4b		10,7a		3,0a	

Примечание: различия между значениями, отмеченные разными буквами (критерий Дункана) – статистически значимы при $p \leq 0,05$; ЭП – эмбриогенных пыльников на 100 культивируемых, ЭС/100КП – эмбриогенных структур на 100 культивируемых пыльников, Р/100ЭС – растений на 100 эмбриогенных структур, ЗР/100ЭС – зеленых растений на 100 эмбриогенных структур.

3.1.2 Эффективность кинетина и зеатина в составе индукционных питательных сред. При культивировании пыльников на индукционной питательной среде, различающейся по содержанию источника цитокининов, все генотипы формировали андрогенетические структуры, однако способность к индукции андрогенеза между ними различалась. Селекционный образец № 13 проявил повышенную способность к индукции андрогенеза как на среде с кинетином, так и зеатином (таблица 2). Установлено статистически достоверное

($p \leq 0,05$) увеличение значения показателя ЭП/100КП для всех селекционных образцов при добавлении в индукционную питательную среду зеатина.

Успех формирования эмбриогенных пыльников для разных генотипов составил 1,7–11,4/100КП для индукционной среды с кинетином и 2,2–13,9 – с зеатином. Средние значения показателя составили 4,7/100КП и 7,0/100КП для кинетина и зеатина соответственно. Включение зеатина в индукционную питательную среду привело к увеличению выхода эмбриогенных пыльников в 1,5 раза по сравнению с кинетином. Выход эмбриогенных структур на 100 культивируемых пыльников (ЭС/100КП) увеличился у всех генотипов и составил в среднем 9,9 % на инициальной среде с кинетином (варьирование 3,0–23,2) и 15,2 % (варьирование 4,8–31,0) на среде с зеатином.

Таблица 2 – Влияние источника цитокининов на этапы индукции и регенерации растений

Генотип	Цито кинин	ЭП/100КП	ЭС/100КП	Р/100КП	Р/100ЭС	ЗР/100КП	ЗР/100ЭС
13	кинетин	11,4h	23,2h	6,7g	28,8h	1,9e	8,3g
	зеатин	13,9i	31,0i	8,3h	26,8g	2,6f	8,4g
98	кинетин	3,5cd	5,4a	1,2c	22,9f	0,7c	13,0i
	зеатин	9,2g	16,0cd	3,3f	20,5d	1,1d	7,0f
99	кинетин	2,4b	3,3a	0,7a	20,8e	0,4b	11,1h
	зеатин	4,1e	7,0b	0,5a	6,8a	0,3b	4,7e
121	кинетин	3,7de	14,1bcd	1,1bc	7,8a	0	0
	зеатин	5,0f	17,0d	1,9e	10,9b	0,3b	1,5b
122	кинетин	1,7a	3,0a	0,5a	17,6c	0,1ab	2,9d
	зеатин	2,2b	4,8a	1,6d	33,3i	0,1ab	2,0c
НСР для фактора А		0,3	0,2	0,2	1,9	0,1	0,7
НСР для фактора В		0,2	0,1	0,1	NS	0,1	NS
НСР для взаимодействия АВ		0,4	0,3	0,2	1,9	0,1	NS
Средняя по кинетину		4,7a	9,9a	2,2a	19,5a	0,6a	7,0b
Средняя по зеатину		7,0b	15,2b	3,2b	19,6a	0,9b	4,7a

Примечание: Примечание: различия между значениями, отмеченные разными буквами, статистически значимы при $p \leq 0,05$; ЭП – эмбриогенных пыльников на 100 культивируемых, ЭС/100КП – эмбриогенных структур на 100 культивируемых пыльников, Р/100ЭС – растений на 100 эмбриогенных структур, ЗР/100ЭС – зеленых растений на 100 эмбриогенных структур.

В общей сложности в опыте из 21216 культивируемых пыльников (10420 на среде с кинетином и 10796 на среде с зеатином) сформировалось 2972 эмбриогенные структуры, из которых 1118 – на среде с кинетином и 1854 – с зеатином. Таким образом, этап индукции андрогенеза в среднем проходил в 1,6 раз эффективнее при включении в питательную среду зеатина по сравнению с кинетином.

Эффективность второго этапа получения гаплоидов – регенерация растений – зависит от морфогенетического потенциала андрогенетических структур, сформированных на индукционной питательной среде. Анализ полученных данных по показателям общей регенерации свидетельствует о том, что зеатин оказал положительное влияние у двух генотипов (№№ 121 и 122) и отрицательное – у трех (№№ 13, 98 и 99). Средние значения показателя Р/100ЭС в зависимости от источника цитокинина достоверно не различались и составили 19,5 % и 19,6 %. Выход зеленых растений на 100 эмбриогенных структур был одинаковым для кинетина и зеатина у образца № 13 и снизился у трех образцов (№№ 98, 99, 122). Средние значения показателя ЗР/100ЭС составили 7,0 для кинетина и 4,7 для зеатина. Выход зеленых растений по отношения к культивируемым пыльникам был достоверно выше на среде с зеатином (0,6 и 0,9 % соответственно) В целом по опыту получено 673 растения, из которых 213 были зелеными и 460 альбиносами.

Таким образом, улучшение эффективности культивирования пыльников при включении в питательную среду зеатина по параметрам индукции андрогенеза не сопровождалось увеличением параметров, характеризующих регенерацию растений. По этой причине оценка показателей общей регенерации растений, выхода зеленых и альбиносных растений должна проводиться не только с учетом общего числа культивируемых пыльников (ЭС/100КП, Р/100КП, ЗР/100КП, АР/100КП), но и полученных эмбриоподобных структур (Р/100ЭС, ЗР/100ЭС и АР/100ЭС). Эффективность гаплопродукции при включении в агаризованную индукционную питательную среду зеатина обусловлена увеличением числа эмбриогенных структур. Степень их дифференциации, определяющая регенерацию растений, остается одинаковой (19,5 и 19,6 %) для кинетина и зеатина соответственно. В то же время, в исследованиях Ержебаевой и др, (2019) включение зеатина в жидкую индукционную питательную среду для культивирования пыльников тритикале приводило к более высокой частоте формирования эмбриоидов, имеющих биполярную структуру, то есть, зеатин улучшал дифференцировку делящихся клеток. В литературе отмечается и различная реакция отдельных генотипов тритикале на жидкие и агаризованные питательные среды (Ponitka and Slusarkiewicz, 2007).

3.1.3 Влияние сахарозы и мальтозы на эффективность культивирования пыльников тритикале. В результате культивирования пыльников тритикале все селекционные образцы сформировали эмбриогенные пыльники и андрогенетические структуры, однако способность к индукции андрогенеза между ними различалась. У 4-х генотипов установлено достоверное увеличение значений показателей ЭП/100КП и ЭС/100ЭП при замене в индукционной питательной среде сахарозы на мальтозу (таблица 3). У двух генотипов с наименьшей отзывчивостью на среде с сахарозой (№ 99 и № 122) выход эмбриогенных структур (ЭС/100КП) увеличился в 8,5–13 раз.

Таблица 3 – Влияние источника углеводов на этапы индукции и регенерации растений (С – сахароза, М – мальтоза)

Генотип	Индукционная стадия				Регенерация растений			
	Питательная среда							
	ЭП/100КП		ЭС/100КП		Р/100ЭС		ЗР/100ЭС	
	С	М	С	М	С	М	С	М
13	11,4h	13,7i	23,2f	31,0h	28,8fg	28,2efg	8,3cde	8,9de
98	3,5cd	8,4g	5,4bc	18,3e	23,0def	30,1g	13,0f	19,8g
99	2,4b	6,6e	3,3a	28,0g	20,8d	7,6a	11,1ef	4,4b
121	3,7d	2,5b	14,1d	5,8c	7,4a	23,2def	0	1,4ab
122	1,7a	7,7f	3,0a	39,6i	17,6cd	14,6bc	2,9ab	3,4b
НСР для фактора А (генотип)		0,3		0,2		2,5		3,2
НСР для фактора В (питательная среда)		0,2		0,1		NS		NS
НСР для взаимодействия АхВ		0,4		0,3		5,6		3,2
Средняя для сахарозы		4,5a		9,8a		19,5a		7,1a
Средняя для мальтозы		7,8b		15,1b		20,7a		7,6a

Примечание: различия между значениями, отмеченные разными буквами, статистически значимы при $p \leq 0,05$; ЭП – эмбриогенных пыльников на 100 культивируемых, ЭС/100КП – эмбриогенных структур на 100 культивируемых пыльников, Р/100ЭС – растений на 100 эмбриогенных структур, ЗР/100ЭС – зеленых растений на 100 эмбриогенных структур.

Положительный эффект мальтозы на индукцию андрогенеза может быть связан с эффектом, вызванным замедленным гидролизом мальтозы в сравнении с сахарозой и относительно высоким и константным осмосом питательной среды (Redha and Talaat, 2008).

В общей сложности из 21273 культивируемых пыльников сформировалось 3818 андрогенных структур, из них 1118 на среде с сахарозой и 2700 – на среде с мальтозой. Значения средних показателей как общей регенерации растений, так и выхода зеленых растений в зависимости от источника углевода не различались. В целом по опыту получено 822 растения, из которых 553 – на среде с мальтозой и 269 – с сахарозой. Среди общего числа растений 322 были зелеными. В общей сложности по трем опытам получено 2444 регенеранта, из которых 961 были зелеными и 1483 альбиносами. Соотношение альбиносных растений к зеленым составило 1,5:1.

3.1.4 Определение уровня плоидности регенерантов, полученных в культуре пыльников тритикале. Идентификация уровня плоидности является составной частью технологии получения удвоенных гаплоидов. Наиболее точными методами определения уровня плоидности являются проточная цитометрия и подсчет числа хромосом в делящихся клетках зоны роста корня молодых растений (Паушева, 1980; Ochatt and Segui-Simarro, 2021). Ограничениями в применении являются высокая стоимость прибора и себестоимость одного анализа в цитометрии и трудоемкость второго метода. Косвенные методы основаны на различных характеристиках клеток, тканей, а также растения в целом, тесно коррелирующие с плоидностью растительного организма. Определение уровня плоидности по косвенным морфологическим признакам эпидермиса листа в три раза быстрее и в 20 раз дешевле, чем проточная цитометрия, при этом не требуется больших инвестиций или специальной подготовки кадров (Kustar, 2009; Choe, 2012).

Строение замыкающих клеток устьиц у тритикале типично для однодольных растений – клетки вытянуты в длину, сужены в середине и имеют гантелевидную форму (рисунок 2). У злаков, в том числе у тритикале, ввиду особого строения устьичных клеток, хлоропласты плотно «упакованы» в гантелях. Лишь в единичных случаях нам удавалось наблюдать клетки с числом хлоропластов от 14 до 17 (предполагаемые гаплоиды) и 29–31 (предполагаемые спонтанные диплоиды) (рисунок 2, c, d). Однако для статистики такое число клеток было недостаточным. В связи с этим были использованы другие морфометрические показатели – длина устьиц и плотность их расположения на 1 мм^2.

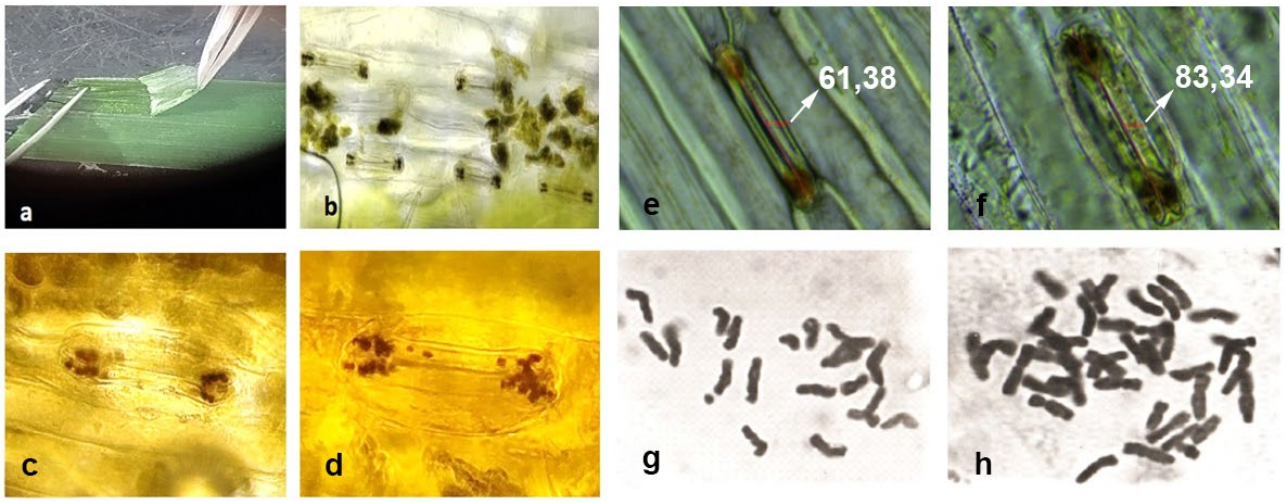


Рисунок 2 – Устьичный аппарат растений тритикале, полученных в культуре пыльников *in vitro* (a – снятие эпидермы, b – общий вид устьичных клеток тритикале; замыкающая клетка с хлоропластами гаплоидного (c) и диплоидного (d) растений, e, f – длина замыкающих клеток; g, h – хромосомы в кончиках корней гаплоидов и спонтанных диплоидов

Длина замыкающих клеток устьиц у гаплоидных растений тритикале составила в среднем 61,6 мкм (варьирование 48,0–69,4 мкм), у спонтанных диплоидов – 86,6 мкм (варьирование 76,7–89,5 мкм) (таблица 4). Плотность расположения устьиц составила

31,2±0,3 шт./мм^2 для гаплоидов и 20,2±0,4 шт./мм^2 для диплоидов. Выявленные различия статистически достоверны. При определении числа хромосом подсчетом в кончиках корней подтвердилось соответствие выявленных различий морфометрических характеристик замыкающих клеток устьиц с уровнем плоидности регенерантов. Семь растений из 40 изученных оказались спонтанными диплоидами с частотой спонтанного удвоения хромосом в 17,5 %. Морфометрические показатели для спонтанных диплоидов не проявили значимых различий с показателями контрольных растений тритикале, полученных из семян.

Таблица 4 – Морфометрические показатели устьичных клеток у регенерантов тритикале, полученных в культуре пыльников

Генотип	Гаплоид			Диплоид		
	число растений, шт.	длина устьичных клеток, мкм	плотность устьиц, шт./мм^2	число растений, шт.	длина устьичных клеток, мкм	плотность устьиц, шт./мм^2
Контроль 2n				5	84±1,2	20,8±0,9
96	7	62,6±1,1	31,8±0,6	3	87,3±0,7	21,6±0,6
98	9	58,9±0,8	31,3±0,4	1	74,4±0,2	19,4±0,8
99	8	60,0±1,3	31,2±0,8	2	80,8±1,7	19,8±0,4
100	9	59,3±1,4	30,8±0,4	1	83,2±1,1	18,8±0,8
Σ	33			7		
среднее		61,6±0,8	31,2±0,3		86,6±0,4	20,2±0,4

3.1.5 Характеристика DH-линий по спектру запасных белков (глиадинов). Анализ спектров запасных белков тритикале (глиадинов) показал, что спектр индивидуальной DH-линии однородный (рисунок 3).

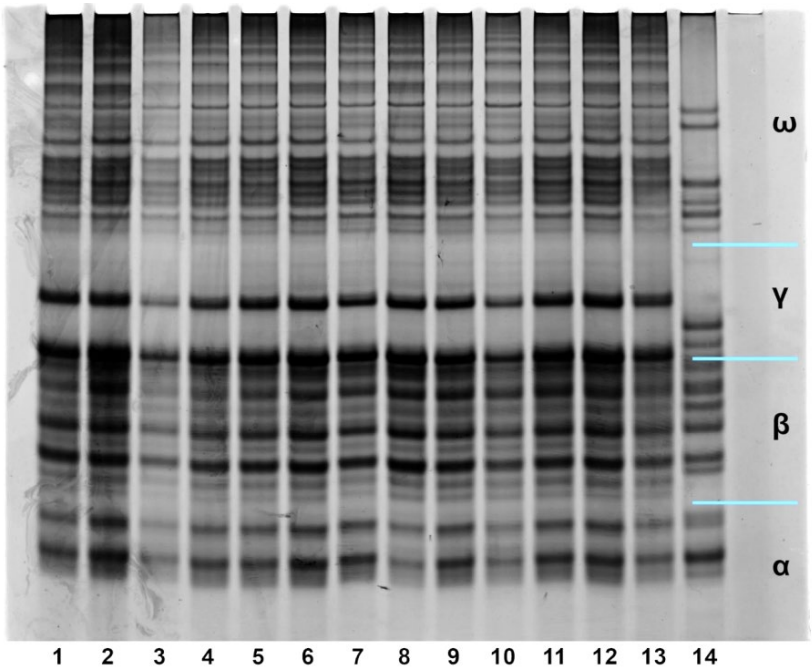


Рисунок 3 – спектр глиадинов ДН-линии № 44 (дорожки с 1по13), а так же сорта мягкой пшеницы Кавказ (14 дорожка).

Глиадиновая формула ДН-линии №44 по зонам:

α -$\overline{5}6_1 7_1$;

β - $12_1 3 4 5_1 5_2$;

γ - $1 4 \overline{5}$;

ω - $1 2 3 4 6_1 6_2 7 8_1 8_2 9_1 9_2 10 11$;

Глиадиновая формула сорта Кавказ:

α - $\overline{5}6 7_1 7_2$;

β – $2 3_2 3\ 4 5_1 5_2$;

γ - $2_2 3 5$;

ω - $1 2 \overline{3_1} 4 \overline{6_1 8_2 9_2}$;

Все изученные линии различаются между собой по компонентному составу спектров глиадина, что подтверждает наличие генотипических различий между ними. Проведена паспортизация DH-линий в виде «белковых формул». Полученные данные важны для сохранения оригинальности линий, а также их возможной правовой защиты. Внутрилинейная стабильность DH-линий за годы исследований была подтверждена анализом морфологических признаков в самоопылённых поколениях, а также компонентным составом запасных белков (глиадинов) и их однородностью. Для изучения сохранения стабильности линий в более поздних поколениях необходимы дальнейшие исследования.

3.2 Селекционная ценность DH-линий тритикале

3.2.1 Урожай зерна и элементы его структуры. Приоритетным показателем при возделывании сорта является урожайность зерна, которая определяется множеством взаимосвязанных морфологических, генетических, физиологических и биологических факторов, а также условий окружающей среды. Наибольшая зерновая продуктивность была выявлена в 2022 г., (варьирование 3,7–8,0 т/га), наименьшая в 2024 г. (варьирование 1,1–4,1 т/га). Урожайность сортов Зубр и Валентин 90 в среднем за 2022–2024 гг. не различалась (4,0 т/га), наибольшей урожайностью среди стандартов характеризовался сорт Георг (4,6 т/га) (таблица 5).

Таблица 5 – Урожай зерна и элементы его структуры у сортов и некоторых ДН-линий тритикале (2022–2024 гг.)

Сорт/линия	Урожай зерна, т/га				Масса 1000 зерен, г	Высота растений, см	Кол-во зерен в колосе, шт.	Кол-во зерен в колоске, шт.	Масса зерна с колоса, г
	2022 г.	2023 г.	2024 г.	Ср.2022-2024 гг.					
Зубр, St	4,9	3,5	3,8	4,1	47,2	138	67	2,4	3,4
Валентин 90, St	4,9	3,6	3,6	4,0	44,0	103	66	2,4	3,3
Георг, St	5,2	4,8	3,7	4,6	40,7	100	59	2,1	2,9
DH 1	7,0	4,0	2,5	4,5	51,7	134	57	2,0	3,0
DH 2	6,3	3.9	4,1	4,8	52,7	132	56	1,9	2,9
DH 3	6,7	4,8	1,7	4,4	49,7	136	61	2,2	3,1
DH 7	6,3	4,9	4,1	5,1	43,7	133	63	2,3	2,7
DH 12	6,0	5,4	2,0	4,5	49,0	134	53	1,9	3,4
DH 18	6,0	5,3	2,2	4,4	42,7	113	58	1,8	3,4
DH 25	7,0	3,6	2,0	4,4	42,7	113	58	1,8	3,4
DH 26	8,0	4,3	4,1	5,5	48,0	118	75	2,4	3,7
DH 27	7,9	4,2	5,0	5,7	47,6	133	70	2,3	3,7
DH 28	6,7	3,4	2,8	4,3	50,0	133	60	2,0	3,1
DH 30	8,3	3,7	2,3	4,8	48,3	132	55	1,9	2,9
DH 31	6,3	3,8	2,0	4,0	49,3	91	58	1,8	2,9
DH 33	7,3	3,8	2.4	4,5	49,7	140	61	2,4	2,8
$НСР_{0,5}$	1,6	0,2	0,5	NS	8,7	22,7	14,2	NS	NS

В благоприятных погодно-климатических условиях 2022 г. преимущества по зерновой продуктивности проявились у DH-линий №№ 1, 2, 3, 7, 25, 26, 27, 28, 30, 33, из которых 4 линии (№№ 3, 25, 27 и 28) являются межродовыми гибридами с мягкой пшеницей. В условиях острой засухи 2024 года наиболее урожайными в сравнении со стандартами были 6 DH-линий (№№ 2, 7, 26, 27, 53, 66), из которых линии №№ 2, 7, 26 и 27 проявили свои преимущества и в условиях благоприятного по климатическим условиям 2022 г. В то же время ряд линий (№№ 1, 3, 25, 28, 30) в неблагоприятных по температурному режиму и влагообеспеченности условиях 2024 г. (ГТК=0,3) снизили урожай зерна в 2–3 раза.

В среднем за три года различия в урожае зерна были несущественными из-за больших различий показателей как между линиями, так и каждой линии. Можно лишь отметить, что лучшими по показателям средних значений были DH-линии №№ 2, 7, 18, 26, 27, 30 и 33. Создание низкостебельных сортов тритикале с высокой зерновой продуктивностью является актуальной проблемой селекции сортов зернового направления. Однако снижение высоты растений в большинстве случаев связано с ухудшением признаков продуктивности. Поэтому поиск и создание доноров улучшения продуктивности у низкорослых форм имеет большое значение (Куркиев К.У., Куркиев У.К., 2010).

Высота растений у изученных линий варьировала от 83 до 148 см. Максимальные значения показателя, (более 135 см по средним значениям) обнаружены у сорта Зубр и DH-линий №№ 3, 9, 10, 13, 17, 19, 20, 23, 24, 33, 39, 44. Сниженная высота растений (83–118 см) выявлена у DH-линий №№ 6, 18, 26, 29, 31, 34, 40, 53, 56, 60, 66, 76, 78, 79, 82. Как правило, высокорослые линии характеризовались большей зерновой продуктивностью. Среди низкорослых линий в качестве исходного материала с сочетанием пониженной высоты растений и зерновой продуктивности (более 4,0 т/га) могут служить линии №№ 2, 18, 26, 29, 31 и 53.

Основными компонентами, составляющими урожайность зерна, являются число зерен в колосе и масса 1000 зерен. Крупность зерна является интегральным показателем, который влияет на потенциальную продуктивность, жизнеспособность и технологические показатели качества семян. Вариабельность массы 1000 зерен зависит от погодных условий. Варьирование показателя среди линий составило в среднем 30,0–56,0 г. Наибольшее значение выявлено у DH-59. Крупным зерном отличаются DH-линии №№ 1, 2, 9, 13, 20, 25, 28, 31, 32, 39, 41.

Значение показателя «число зерен в колосе» варьировало от 48 до 78 шт. Наибольшей озерненностью колоса (более 60 шт.) отличались DH №№ 9, 13, 20, 24, 26, 27, 28, 33, 34, 44, 52, 64, 67, 82, 83. По числу зерен в колоске на уровне значений показателя стандартов находились три линии №№ 26, 33 и 66. Очевидно, большая, чем у стандартов, фертильность колоска в условиях Нижнего Поволжья, нежелательна, т.к. снижается масса 1000 зерен.

Вес зерна с главного колоса – важный признак продуктивности растения, который сильно зависит от погодных условий. Масса зерна с колоса складывается из числа зерен в колосе и массы 1000 зерен. Среди стандартов наибольшее значение имел сорт Зубр (варьирование 3,2–3,6 г), наименьшее – сорт Георг (2,6–3,0 г), как в отдельные годы, так и в среднем за 2022–2024 гг. Наибольшая дифференциация линий по этому показателю проявилась в 2023 г. Превышение показателя в сравнении с лучшим стандартом выявлено у DH-линий №№ 10, 12, 17, 23, 24, 26, 28 и 29. Среди всего изученного материала к скороспелым относятся DH-линии с датой колошения 19–22 мая (на уровне сорта Зубр): №№ 2, 4, 9, 10, 12, 19, 25, 26, 28, 31, 32, 33, 34. Скороспелые линии №№ 2, 4, 9, 10, 12, 19, 26, 31 являются межродовыми гибридами с озимой мягкой пшеницей, а №№ 31–34 получены с участием сорта Корнет селекции Северо-Донецкой СХОС. Среднеспелыми (дата колошения на уровне сортов Валентин 90 и Георг с датой колошения на 3–4 дня позднее скороспелых) являются большинство DH-линий.

3.2.2 Устойчивость DH-линий к предуборочному прорастанию зерна. Предуборочное прорастание зерна в колосе (ППЗ) – одна из главных причин снижения

урожайности зерна, его посевных и технологических свойств. Селекция на устойчивость к предуборочному прорастанию зерна является одним из приоритетных направлений во многих селекционных центрах. Для оценки образцов к предуборочному прорастанию зерна используют методы искусственной провокации, т.к. метод перестоя растений на корню пригоден только при наличии осадков в послеуборочный период (Рубец, 2010, 2016). Преимуществами метода провокации прорастания свежеубранного зерна в чашках Петри являются простота исполнения, одинаковая влажность и одинаковая возможность поглощения воды зерном. По мнению некоторых авторов, эта оценка является наиболее надежной для дифференциации сортов по их устойчивости к ППЗ (Крупнов и др., 2010).

Индекс прорастания у DH-линий тритикале варьировал от 0 до 0,9 в 2022 г. от 0 до 0,68 в 2023 г. К устойчивым отнесены DH-линии с индексом прорастания от 0 до 0,2: №№ 6, 24, 25, 26, 34 и 40. Показатель «число падения» часто используют для оценки сортов и линий тритикале к предуборочному прорастанию зерна (Рубец и др., 2010). Этот показатель используется для оценки активности фермента альфа-амилазы и отражает состояние углеводно-амилазного комплекса: чем выше активность альфа-амилазы, тем быстрее будет гидролизоваться крахмал и тем ниже будет число падения. Активность этого фермента зависит от погодных условий года, о чем свидетельствует большая вариация по годам признака «число падения». Значение показателя «число падения» в 2022 г. варьировало у разных линий в пределах 62–321 с, в 2023 г. – 62–205 с. Необходимо отметить низкое значение показателя у сорта Валентин 90 – 72 с и 81 с., ИП сорта составил 0,54 и 0,37 в 2022–2023 гг. соответственно. У сорта Георг в 2022 г. значения ЧП составили 177 с, в 2023 – 154 с., ИП при более высоких значения ЧП в сравнении с сортом Валентин 90 составил 0,61. Сорт Зубр можно характеризовать как неустойчивый и по ЧП, и по индексу прорастания.

Среди DH-линий в 2022 г. наибольшие значения ЧП отмечены у линий №№ 4, 6, 12, 26 и 34. У DH № 4 ЧП составило 321 с, ИП – 0,13, т.е. линия была отмечена как устойчивая. В 2023 г. в целом значения числа падения были ниже, чем в 2022 г. Значения ЧП у DH №4 снизилось до 114 с, а ИП вырос до 0,4, т.е. линия характеризовалась как среднеустойчивая. Высокие значения ЧП в 2022 г. имела DH-лини № 6 – 237 с. В 2023 г. этот показатель снизился до 69 с, однако ИП был равен 0,13. Указанная линия при разных значениях ЧП в 2022 и 2023 гг. оказалась устойчивой. Значения ЧП, выше 150 с, выявлены у сорта Георг и линий №№ 6, 25, 26, 34, 40 (таблица 6).

Таблица 6 – Значения числа падения и индекса прорастания у сортов и некоторых DH-линий тритикале

Сорт, DH-линия	2022 г.		2023 г.	
	Число падения, с	Индекс прорастания	Число падения, с	Индекс прорастания
Зубр	62	0,52	70	0,40
Валентин 90	72	0,54	81	0,37
Георг	177	0,61	154	0,61
DH-4	321	0,13	114	0,40
DH-6	237	0,20	69	0,13
DH-9	62	0,80	62	0,50
DH-24	147	0,10	72	0,20
DH-25	145	0,10	70	0,10
DH-26	231	0,10	160	0,00
DH-32	73	0,90	101	0,70
DH-34	223	0,00	89	0,00
DH-40	144	0,21	88	0,00
НСР	7,6	-	7,3	-

Таким образом, показатель «число падения» не всегда отражает отзывчивость линий на провоцирование прорастания зерна, нельзя проводить оценку одного признака по значениям другого. Для более надежной оценки устойчивости к ППЗ показатель «число падения» необходимо использовать в комплексе с другими методами.

В результате изучения DH-линий тритикале на устойчивость к предуборочному прорастанию зерна выделены образцы для селекции тритикале на устойчивость к ППЗ в условиях Нижнего Поволжья. К устойчивым отнесены DH-линии с индексом прорастания от 0 до 0,2: №№ 6, 24, 25, 26, 34 и 40, из них линия № 34 не проявила признаков прорастания за годы исследований. Для нее характерен глубокий покой семян. Остальные линии характеризовались разной степенью устойчивости: в 2022 г. значения индекса прорастания варьировали от 0,2 до 0,9; в 2023 г. от 0,2 до 0,7.

3.2.3 Устойчивость DH-линий тритикале к болезням. За годы проведения исследований в полевых условиях наблюдали единичные случаи поражения растений бурой и стеблевой ржавчинами и вирусами. Наиболее благоприятными для развития мучнистой росы и пятнистостей были условия 2022 г. Основная болезнь, в той или иной степени проявившаяся на всех DH-линиях тритикале – пятнистости (пиренофороз). Комплексную устойчивость к мучнистой росе и пиреноспорозу проявили две DH-линии (№№ 27 и 29).

3.2.4 Качество зерна DH-линий тритикале. Содержание белка у линий в 2022 г. варьировало от 8,1 до 11,6 %, в 2023 г – от 8,2 до 13,2 %. У большинства DH-линий и сортов-стандартов в 2023 г. выявлено пониженное содержание белка в сравнении с 2022 г. Сорт Валентин 90 в условиях Краснодара формировал более 13% белка (Ковтуненко и др., 2017). В наших опытах этот показатель у сорта составил 8,8 и 7,5 % в 2022 и 2023 гг. соответственно, что указывает на нереализованный потенциал качества зерна тритикале в условиях проведения экспериментов. Второй стандарт в наших опытах – сорт Георг при выращивании на другом поле севооборота формировал 14,5 % белка (Дьячук и др., 2023), в наших опытах – 9,4 и 8,2 % в 2022 и 2023 гг. Повышенное содержание белка имели линии №№ 4, 52 и 54 (таблица 7). Содержание клейковины было низким, или она не отмывалась. Объем осадка SDS-седиментации в 2022 г. у разных линий составил 19–32 мм, в 2023 г. – 19–35 мм. Значения показателя объем хлеба в 2022 г. варьировали в пределах 525–700 $см^3$.

Таблица 7 – Параметры качества зерна у сортов и некоторых DH-линий тритикале

Сорт, DH-линия	Содержание белка, %		Объем SDS-осадка, $мм^3$		Число падения, с		Валориметр, е.п.		V хлеба, $см^3$ на 100 г муки	
	2022г.	2023г.	2022г.	2023г.	2022г.	2023г.	2022г.	2023г.	2022г.	2023г.
Зубр	10,2	8,5	24	28	62	70	40	39	545	520
Валентин 90	8,8	7,5	32	25	72	81	26	42	695	545
Георг	9,4	8,2	28	24	177	154	34	43	700	560
DH-3	9,6	9,9	26	30	175	90	43	42	600	600
DH-4	9.7	13,0	26	30	321	114	30	32	590	570
DH-10	10,4	10,5	27	26	87	69	26	30	640	560
DH-17	11,6	10,3	27	27	63	62	28	27	575	520
DH-19	11,6	10,7	24	27	135	112	24	27	625	510
DH-30	10,4	10,1	24	27	62	68	24	32	620	500
DH-34	9,6	9,2	29	24	223	89	34	29	670	510
DH-35	11,3	9,7	29	24	120	79	28	33	700	520
DH-44	11,4	9.5	24	24	101	73	28	29	670	510
DH-52	-	13,2	-	33	-	180	-	31	-	520
DH-54	-	12,6	-	33	-	155	-	33	-	495
$НСР_{05}$	0,7	0,7	2,5	3,0	7,6	7,3	2,2	1,5	25,7	14,1

Наиболее высокие показатели объема хлеба выявлены у DH-линий № 34, № 35 и № 44, а также у сортов Валентин 90 и Георг. В 2023 г. показатели объема хлеба снизились в сравнении с предыдущим годом и составили 450–600 см^3.

При изучении взаимосвязей отдельных параметров качества зерна обнаружены статистически значимые отрицательные корреляции величины объема хлеба с временем образования теста (r= –0.35*) и разжижением теста (r= –0.46**). Среди физических показателей теста выявлена средняя достоверная положительная корреляция между водопоглотительной способностью и разжижением теста (r= 0,38*); устойчивостью теста с разжижением (r= –0,46**) и числом валориметра (r= 0,66**); сильная отрицательная зависимость между числом валориметра и разжижением теста (r= –0,84**). Низкое содержание клейковины, пониженная водопоглотительная способность являются негативными факторами в хлебопечении, но не являются препятствием для производства кондитерских изделий. В результате изучения селекционной ценности DH-линий создана рабочая коллекция источников наиболее значимых селекционно-ценных признаков (таблица 8).

Таблица 8 – DH-линии тритикале – источники селекционно-ценных признаков

Признак	№ DH-линии
Урожай зерна (от 4,4 до 5,7 т/га)	1, 2, 3, 7, 12, 18, 26, 27, 30, 33
Сниженная высота растений (от 83 до 118 см) в сочетании с зерновой продуктивностью	18, 26, 29, 31, 53
Густота продуктивного стеблестоя (от 488 до 690 шт.)	1, 2, 7, 9, 12, 29, 30, 33, 40, 44, 53, 59
Число зерен в колосе (от 67 до 78 шт).	9, 20, 24, 26, 44, 28
Вес зерна с колоса (от 3,4 до 3,9 г)	9, 12, 17, 18, 24, 26, 27, 32, 39
Масса 1000 зерен	1, 2, 9, 10, 17, 20, 25, 56, 59, 64, 65
Устойчивость к ППЗ (ИП 0–0,2)	6, 24, 25, 26, 34,40

3.2.5 Характеристика нового сорта озимой тритикале Тайча. Сорт озимой тритикале Тайча создан в ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока». Материнская линия – амфидиплоид от скрещивания образца озимой твердой пшеницы селекции Национального Центра Зерна имени П.П. Лукьяненко (г. Краснодар) Леукурум 1701h389 с рожью Саратовская 6 и последующим удвоением числа хромосом обработкой колхицином. В 2009 г. проведено скрещивание амфидиплоида с сортом озимой тритикале Корнет селекции Северо-Донецкой опытной станции.

Индивидуальный отбор проведен в 2011 г. из F_4. Малое станционное сортоиспытание проходило в 2016–2021 гг., конкурсное сортоиспытание в 2022–2024 гг. Из этой же гибридной комбинации были получены DH-линии №№ 23, 25 и 27. Сорт высокоурожайный, засухоустойчивый, устойчивый к полеганию. Урожай зерна в среднем за 2022–2024 гг. составил 45,0 ц/га при урожае стандарта 35,7 ц/га. Сорт отличается комплексной устойчивостью к ржавчинам, не поражается мучнистой росой, пыльной и твердой головней. Характеризуется средним содержанием белка в зерне (11,2–12,9 %). Показатель натуры зерна у нового сорта ниже, чем у стандарта (700 и 722 г/л соответственно). По массе 1000 зерен новый сорт не отличается от стандарта (49,6 г). По значениям числа валориметра и объему SDS-осадка сорт Тайча превышает стандартный сорт. Назначение сорта – зернокормовое для скота и птицы. Предпочтительные зоны семеноводства – 7 и 8-й регионы. Сорт проходит государственное сортоиспытание с 2025 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований был оптимизирован состав индукционной питательной среды С-17, который позволил повысить эффективность получения гаплоидных растений тритикале. Разработан косвенный метод оценки уровня плоидности регенерантов

тритикале, полученных в культуре пыльников. Оценка селекционной ценности DH-линий позволила выделить наиболее перспективные образцы с хозяйственно ценными признаками.

1. Определяющим фактором в эффективности метода культуры пыльников тритикале является генотип. Доля влияния генотипа в общей изменчивости на индукционной стадии составляет 85,6 %, питательной среды 6,8 %, взаимодействия факторов 4,1 %. На этапе регенерации растений влияние генотипа снизилось до 67,4 % и возросло влияние взаимодействия факторов генотип х питательная среда.
2. Сравнение эффективности двух индукционных питательных сред С-17 и Р-2 выявило преимущество варианта картофельной среды на стадии индукции андрогенеза. Частота формирования эмбриогенных структур на среде С-17 без экстракта картофеля составила 19,1 %, на среде Р-2 – 27,1 %. Состав индукционной среды Р-2 не оказал влияния как на общую регенерацию растений, так и выход зеленых растений. Общая регенерация растений из эмбриоидов, сформированных на агаризованной индукционной питательной среде Р-2, снизилась с 11,6 до 10,7 %, а регенерация зеленых растений с 4,9 до 3,0 % в сравнении со средой С-17.
3. Включение зеатина в состав агаризованной питательной среды С-17 (0,4 мг/л) повысило эффективность индукционной фазы андрогенеза в 1,6 раз, общую регенерацию в 1,5 раза (404 растения против 269) и выход зеленых растений в 2,5 раза (213 против 87) относительно кинетина при равном количестве культивируемых пыльников (10420 и 10796 для кинетина и зеатина соответственно).
4. Положительный эффект зеатина при получении гаплоидных растений тритикале в культуре пыльников обусловлен эффективностью индукционной стадии, т.е. более высокой частотой формирования андрогенетических структур, а не их лучшей дифференцировкой в сравнении с кинетином.
5. Включение мальтозы (9 %) в состав индукционной питательной среды в сравнении с сахарозой привело к увеличению параметров, характеризующих индукционную стадию андрогенеза: выход эмбриогенных пыльников в среднем по пяти генотипам составил 8,7 % и 5,4 %, эмбриогенных структур 24,9 % и 10,7 % для мальтозы и сахарозы соответственно. Параметры, характеризующие общую регенерацию растений, статистически значимо не различались (19,5 и 19,6 %). Выход зеленых растений из эмбриоидов, сформированных на среде с мальтозой, составил 7,1 % для сахарозы и 4,9 % для мальтозы.
6. В общей сложности по трем опытам получено 2444 регенерантов, из которых 861 были зелеными и 1583 альбиносами. Соотношение альбиносных растений к зеленым в среднем составило 1:1,8 (варьирование 1:1,4 до 1:2,3). Частота спонтанного удвоения хромосом при культивировании изолированных пыльников тритикале составляет 17,5 %, искусственного удвоения – 63 %.
7. Для определения уровня плоидности регенерантов, полученных в культуре пыльников тритикале, адаптирован косвенный метод, основанный на характеристиках замыкающих клеток устьиц. Длина устьичных клеток у гаплоидных растений составляет 61,6±0,8 мкм, у диплоидных – 86,6±0,4 мкм. Плотность расположения устьичных клеток на 1 мм^2 равна 31,2±0,3 шт. для гаплоидных и 20,2±0,4 шт. для диплоидных растений. Подсчет числа хромосом в кончиках корней изученных растений подтвердил соответствие выявленных различий морфометрических характеристик замыкающих клеток устьиц с уровнем плоидности регенерантов. Метод позволяет надежно оценивать плоидность регенерантов в массовом количестве.
8. Наибольшая зерновая продуктивность DH-линий тритикале была выявлена в 2022 г. (варьирование 3,7–8,3 т/га), наименьшая в 2024 г. (варьирование 1,5–5,0 т/га). В благоприятных погодно-климатических условиях 2022 г. наибольший урожай зерна имели DH-линии №№ 1, 2, 3, 7, 25, 26, 27, 28, 30, 33, из которых 4 линии (№№ 3, 25, 27 и 28) являются межродовыми гибридами с мягкой пшеницей. В условиях острой засухи 2024 года преимущества в урожае зерна в сравнении со стандартами выявлены у 4-х DH-линий (№№ 2, 7, 26, 27), которые проявили свои преимущества и в условиях благоприятного по

климатическим условиям 2022 г. В то же время ряд линий (№№ 1, 3, 25, 28, 30) в неблагоприятных по температурному режиму и влагообеспеченности условиях 2024 г. (ГТК=0,3) снизили урожай зерна в сравнении с 2022 г. более, чем в 2 раза. В среднем за три года различия в урожае зерна были несущественными из-за больших различий показателей как между линиями, так и каждой линии (варьирование 2,0–5,7 т/га). Лучшими по показателям средних значений были DH-линии №№ 2, 7, 12, 26, 27, 30 и 33.

9. Путем провокации прорастания зерна тритикале в чашках Петри выделены DH-линии с разной степенью устойчивости к ППЗ. Устойчивые к ППЗ DH-линии №№ 6, 24, 25, 26, 34 и 40 (индекс устойчивости 0–0,2). Остальные линии имели ИП 0,2–0,77 в 2022 г и 0,2–0,68 в 2023 г. В условиях Нижнего Поволжья показатель «число падения» в полной мере не отражает устойчивость DH-линий тритикале к предуборочному прорастанию зерна. Рекомендуется использовать его в комплексе с другими методами оценки устойчивости.

10. Содержание белка у DH-линий варьировало от 8,1 до 13,2 %. Содержание клейковины было низким, или она вообще не отмывалась. При низком содержании клейковины и даже ее отсутствии, некоторые линии тритикале имели объем хлеба 700 $см^3$ и выше. Число падения выше 150 с имели сорт Георг и DH №№ 12, 26 и 53. Показатели фаринографа, такие как время образования теста, время устойчивости теста и разжижение свидетельствуют о том, они аналогичны тесту из «слабой» пшеничной муки, т.е. тесто образуется быстро, неупругое, расплывающееся, время до начала разжижения теста менее 2,5 мин.

11. Создана рабочая коллекция исходного материала (DH-линий) для решения приоритетных задач селекции озимой тритикале в условиях Нижнего Поволжья с наиболее значимыми селекционными признаками: зерновой продуктивности от 4,4 до 5,7 т/га – 11 образцов (№№ 1, 2, 3, 7, 12, 18, 26, 27, 30, 33, 53), 7 источников сниженной высоты растений от 83 до 118 см с высокой зерновой продуктивностью (№№ 18, 26, 29, 31, 34, 40, 53), скороспелости – 12 образцов (2, 4, 9, 10, 12, 19, 25, 26, 28, 31, 32, 33), масса 1000 зерен – 19 (1, 2, 9, 10, 12, 13, 17, 20, 25, 28, 31, 32, 39, 44, 52, 56, 59, 64, 65), вес зерна с колоса от 3,4 до 3,9 г – 11 (№№ 9, 12, 17, 18, 24, 26, 27, 28, 32, 39, 59), озернённость главного колоса от 67 до 78 шт. – 6 (№№ 9, 20, 24, 26, 27, 34), густоты продуктивного стеблестоя от 488 до 690 шт. – 15 (№№ 2, 3, 7, 9, 12, 22, 23, 29, 30, 33, 40, 44, 53, 59, 66) и 6 источников устойчивости к предуборочному прорастанию зерна с ИП от 0 до 0,2 (№№ 6, 24, 25, 26, 34, 40).

12. Проведена паспортизация DH-линий в виде «белковых формул». Полученные данные важны для сохранения оригинальности линий, а также их возможной правовой защиты. Внутрилинейная стабильность DH-линий за годы исследований была подтверждена анализом морфологических признаков в само опылённых поколениях, а также компонентным составом запасных белков (глиадинов) и их однородностью. Для изучения сохранения стабильности линий в более поздних поколениях необходимы дальнейшие исследования.

13. Получен патент и авторское свидетельство на сорт тритикале озимой КС1. С участием диссертанта принята заявка на патент и допуск к использованию на сорт тритикале озимой Тайча.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ И СЕЛЕКЦИОННОЙ ПРАКТИКИ

1. Для интенсификации биотехнолого-селекционного процесса на основе технологии удвоенных гаплоидов в культуре пыльников тритикале *in vitro* применять оптимизированную индукционную агаризованную питательную среду С-17, содержащую в качестве регуляторов роста цитокинин зеатин в концентрации 0,4 мг/л и мальтозу в качестве источника углеводов 90 г/л.

2. Применять косвенный метод массовой оценки уровня плоидности регенерантов тритикале, полученных в культуре пыльников *in vitro*, по морфометрическим показателям устьичного аппарата листьев – длине замыкающих клеток устьиц и плотности их расположения.

3. Использовать в качестве исходного материала для селекции тритикале в условиях Нижнего Поволжья рабочую коллекцию DH-линий тритикале, обладающих селекционно-ценными признаками.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Возделывание новых культур, в т.ч. тритикале, является залогом повышения биоразнообразия и стабилизации производства зерна. Для создания новых сортов тритикале, приспособленных к условиям Нижнего Поволжья, целесообразно развивать программы по оптимизации селекционного процесса и интегрировать в него DH-технологии. В связи с этим важное значение имеют протоколы, которые позволяют увеличить частоту регенерации растений и избежать генотипической зависимости и альбинизма. Применение эффективных DH-технологий в комплексе с MAS-селекцией (маркер-ориентированной селекцией) позволит сократить материальные и трудовые затраты на создание сортов и существенно сократить продолжительность селекционного процесса.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРАТЦИИ

– публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

1. Акинина, В.Н. Метод культуры ткани *in vitro* для создания исходного материала для селекции тритикале в Поволжье / В.Н. Акинина, Т.И. Дьячук, **С.В. Жилин**, Э.В. Калашникова // Зерновое хозяйство России. – 2020. – №1 (67). – С. 64–68.

2. Дьячук, Т.И. Новый сорт озимой тритикале Зубр / Т.И. Дьячук, В.Н. Акинина, **С.В. Жилин**, О.В. Хомякова, Е.К. Барнашова, Э.В. Калашникова, В.П. Куликова // Аграрный научный журнал. – 2022. – №6. – С.19–22.

3. Дьячук, Т.И. Гаплоидия тритикале *in vitro* (обзор литературы) / Т.И. Дьячук, В.Н. Акинина, **С.В. Жилин**, О.В. Хомякова, Е.К. Барнашова, Э.В. Калашникова, В.П. Окладникова // Зерновое хозяйство России. – 2022. – №1 (79). – С.39–45.

4. Дьячук, Т.И. Хозяйственная и биологическая характеристика нового сорта озимой тритикале Георг / Т.И. Дьячук, В.Н. Акинина, О.В. Хомякова, **С.В. Жилин**, Е.К. Барнашова, Э.В. Калашникова, В.П. Куликова // Аграрный научный журнал. – 2023. – №12. – С.23–27.

5. Акинина, В.Н. Комплексная оценка сортов и DH-линий озимого тритикале к предуборочному прорастанию зерна / В.Н. Акинина, Т.И. Дьячук, **С.В. Жилин**, О.В. Хомякова, О.А. Генералова, Э.В. Калашникова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ). [Электронный ресурс]. – 2025. – №07(211). – DOI:10.21515/1990-4665-211-04.

6. **Жилин, С.В.**, Идентификация уровня плоидности растений-регенерантов, полученных в культуре пыльников тритикале (× *Triticosecale* Wittmack) / **С.В. Жилин**, Т.И Дьячук, О.В. Хомякова, В.Н. Акинина, Э.В. Калашникова, О.А. Генералова, В.П. Куликова // Масличные культуры. – 2025. – Вып. 3 (203). – С. 29–34.

– в журналах, индексируемых в международных базах данных – 1:

7. Дьячук, Т.И. Влияние кинетина и зеатина на показатели андрогенеза в культуре пыльников тритикале in vitro (× Triticosecale Wittmack) / Т.И. Дьячук, О.В. Хомякова, В.Н. Акинина, **С.В. Жилин**, Э.В. Калашникова Е.А. Сайфетдинов // Сельскохозяйственная биология. – 2024. – Т.59. – №5. – С. 983–994.

– патенты и свидетельства – 2:

8. Патент на селекционное достижение №13994 Тритикале озимая Triticosecale Wittmack & Camus. / В.Н. Акинина, Е.К. Барнашова, Т.И. Дьячук, С.В. Жилин, Э.В. Калашникова, В.П. Куликова, О.В. Хомякова; Заявитель ФГБНУ ФАНЦ «Юго-Востока». – № 7853157; заявл. 29.10.2021; опубл. 30.06.2025.

9. Авторское свидетельство № 84752 Тритикале озимая КС1 / В.Н. Акинина, Е.К. Барнашова, Т.И. Дьячук, С.В. Жилин, Э.В. Калашникова, В.П. Куликова, О.В. Хомякова; Заявитель ФГБНУ ФАНЦ «Юго-Востока». – № 7853157; заявл. 29.10.2021; опубл. 30.06.2025.

– в других изданиях – 1:

10. Акинина, В.Н. Оценка эффективности метода культуры пыльников in vitro для получения гаплоидных растений тритикале (× *Triticosecale* Wittmack) / В.Н. Акинина, О.В. Хомякова, Т.И. Дьячук, **С.В. Жилин**, Е.К. Барнашова, Э.В. Калашникова, В.П. Куликова // Зерновое хозяйство России. – 2023. – Т.15. – №2. – С. 50–56.

– в материалах и тезисах конференций – 9:

11. Акинина, В.Н. Характеристика сортов и перспективных линий тритикале в условиях Нижнего Поволжья / В.Н. Акинина, Т.И. Дьячук, О.В. Хомякова, **С.В. Жилин**, Е.К. Барнашова, Э.В. Калашникова, В.П. Куликова // Тритикале: Материалы международной научно-практической конференции, Ростов-на-Дону, 07–08 июня 2022 года. Том Выпуск 10. – Ростов-на-Дону: Общество с ограниченной ответственностью "Издательство "Юг", 2022. – С. 42–52.

12. Жилин, С.В. Индекс прорастания как метод определения устойчивости к предуборочному прорастанию зерна / С.В. Жилин, Т.И. Дьячук, В.Н. Акинина, О.В. Хомякова, Е.К. Барнашова, В.П. Куликова // Вавиловские чтения – 2022: Сборник статей Международной научно-практической конференции, посвященной 135-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова, Саратов, 22–25 ноября 2022 г. – Саратов: Амирит, 2022 – С.95–98.

13. Жилин, С.В. ДГ-линии – исходный материал для селекции тритикале в Нижнем Поволжье / С.В. Жилин, В.Н. Акинина, Т.И. Дьячук, О.В. Хомякова, Э.В. Калашникова, В.П. Куликова // Генофонд и селекция растений: Сборник материалов 6-й Международной конференции, Новосибирск, 23–25 ноября 2022 года. – Новосибирск: Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, 2022. – С. 66-68.

14. Дьячук, Т.И. Селекционная оценка генофонда тритикале (*Triticosecale* Wittmack) в условиях Нижнего Поволжья / Т.И. Дьячук, В.Н. Акинина, О.В. Хомякова, **С.В. Жилин**, Е.К. Барнашова, В.П. Куликова, Э.В. Калашникова // Инновационные технологии создания и возделывания сельскохозяйственных растений : Сборник статей IV Национальной научно-практической конференции, посвященной 150-летию со дня рождения Г.К. Мейстера, Саратов, 20 апреля 2023 года. – Саратов: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», 2023. – С. 92–98.

15. Жилин, С.В., Влияние состава индукционной питательной среды на эффективность гаплопродукции в культуре пыльников тритикале in vitro / С.В. Жилин, О.В. Хомякова, В.Н. Акинина, Т.И. Дьячук, Э.В. Калашникова, В.П. Куликова // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии XXIII : Материалы 23-ей Всероссийской молодежной научной конференции, Москва, 14–16 ноября 2023 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», 2023. – С. 154–156.

16. Жилин, С.В., ДН-линии - исходный материал для селекции тритикале в Нижнем Поволжье / С.В. Жилин, Т.И. Дьячук, Э.В. Хомякова, В.Н. Акинина, Э.В. Калашникова, Е.А. Сайфетдинов, О.А. Генералова // Ильинские чтения 2024 : Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященные юбилею Ильиных Лидии Герасимовны и Василия Алексеевича в рамках празднования 300-летия Российской академии наук, Саратов, 04–05 июля 2024 года. – Саратов: ФГБНУ "ФАНЦ Юго-Востока", 2024. – С. 37–40.

17. Дьячук, Т.И., Влияние источника углеводов на параметры гаплопродукции в культуре пыльников тритикале (*Triticosecale* Wittmack) / Т.И. Дьячук, О.В. Хомякова, В.Н. Акинина, **С.В. Жилин**, Э.В. Калашникова, Е.А. Сайфетдинов // Генофонд и селекция растений : Материалы 7-й Международной конференции, посвященной 95-летию академика РАН П.Л. Гончарова, Новосибирск, 10–12 апреля 2024 года. – Новосибирск: Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, 2024. – С. 113–118.

18. Жилин, С.В., Характеристика DH-линий тритикале как исходного материала для селекции в условиях Нижнего Поволжья / С.В. Жилин, Т.И. Дьячук, О.В. Хомякова, В.Н. Акинина, Э.В. Калашникова // Тритикале. Селекция, агротехника и технология использования зерна и кормов: Материалы международной научно-практической конференции. К 85-летию со дня рождения Грабовца Анатолия Ивановича и 120-летию Северо-Донецкой сельскохозяйственной опытной станции, Ростов-на-Дону, 10–11 июня 2024 года. Выпуск 11. – Ростов-на-Дону: ООО "Издательство «Юг", 2024. – С. 73-82.

19. Жилин, С.В., Длина устьичных клеток как индикатор уровня плоидности регенерантов в культуре пыльников тритикале (× Triticosecale Wittmack) / С.В. Жилин, Т.И. Дьячук, Е.А. Сайфетдинов, О.В. Хомякова, В.Н. Акинина, Э.В. Калашникова, О.А. Генералова // Вавиловские чтения – 2024: Сборник статей международной научно-практической конференции, посвященной 137-ой годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова, Саратов, 25–29 ноября 2024 года. – Саратов: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова", 2024. – С. 45–49.