
ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ, СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

**Технология протопластов и соматическая гибридизация
в семействе *Apiaceae***

Насим Алжарамани, Сократ Григорьевич Монахос[✉]

Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

[✉] **Автор, ответственный за переписку:** s.monakhos@rgau-msha.ru

Аннотация

Семейство Зонтичные (*Apiaceae*) занимает значительную часть рынка, на котором в настоящее время преобладают перекрестноопыляемые сорта. Это приводит к отсутствию выровненности и неоптимальному качеству, что побуждает к созданию F1-гибридов. Проблемы селекции, связанные с ручной кастрацией цветков, заставили селекционеров использовать биотехнологические подходы включая соматическую гибридизацию, которые используют признаки самонесовместимости и мужской стерильности. Технология протопластов и соматическая гибридизация стали ключевыми инструментами в генетическом улучшении и селекции культур семейства *Apiaceae* – таких, как морковь и сельдерей, которые имеют большое экономическое значение, но традиционно зависят от сортов открытого опыления. В статье рассматривается применение технологии слияния протопластов для получения соматических гибридов и цибридов, а также отбора *in vitro* по таким коммерчески ценным признакам, как ЦМС (цитоплазматическая мужская стерильность) и ГМС (генетическая мужская стерильность), которые имеют решающее значение для производства гибридных семян и интрогрессии признаков. Приводятся сведения о растительных материалах и тканях для выделения протопластов. Обычно в качестве источников используются молодые листья, гипокотиль или суспензионные культуры клеток благодаря их высокой жизнеспособности и регенеративному потенциалу, а также различные ферментные смеси, используемые для переваривания клеточных стенок и выделения жизнеспособных протопластов. Этот всеобъемлющий обзор служит ценным источником информации для исследователей и селекционеров, стремящихся использовать технологию слияния протопластов для генетического улучшения культур семейства *Apiaceae*, что в конечном итоге будет способствовать повышению продуктивности сельского хозяйства и качества урожая.

Ключевые слова

Биотехнология, селекция, морковь, сельдерей, цибриды, мужская стерильность, выделение и слияние протопластов

Благодарности

Работа выполнена за счет средств Программы развития университета в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

Для цитирования

Алжарамани Н., Монахос С.Г. Технология протопластов и соматическая гибридизация в семействе *Apiaceae* // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2025. № 6. С. 68–78.

Protoplast technology and somatic hybridization in the Apiaceae family

Naseem Aljaramany, Sokrat G. Monakhos✉

Russian State Agrarian University –
Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

✉Corresponding author: s.monakhos@rgau-msha.ru

Abstract

The Apiaceae family holds a significant market share, currently dominated by open-pollinated varieties. This results in a lack of uniformity and suboptimal quality, necessitating the development of F1 hybrids. Breeding challenges associated with manual flower emasculation have compelled breeders to employ biotechnological approaches, including somatic hybridization, which leverage traits of self-incompatibility and male sterility. Protoplast technology and somatic hybridization have emerged as crucial instruments in the genetic improvement and breeding of *Apiaceae* crops, such as carrot and celery, which are of significant economic importance but traditionally rely on open-pollinated varieties. This article discusses the application of protoplast fusion technology for generating somatic hybrids and cybrids, as well as *in vitro* selection targeting commercially important traits such as cytoplasmic male sterility (CMS) and genetic male sterility (GMS), which are critical for hybrid seed production and trait introgression. Information is provided on plant materials and tissues suitable for protoplast isolation. Typically, young leaves, hypocotyls, or cell suspension cultures are utilized as sources owing to their high viability and regenerative potential, alongside various enzyme mixtures employed for cell wall digestion and the release of viable protoplasts. This comprehensive review serves as a valuable resource for researchers and breeders aiming to utilize protoplast fusion technology for the genetic improvement of *Apiaceae* crops, thereby ultimately contributing to enhanced agricultural productivity and crop quality.

Keywords

Biotechnology, breeding, carrot, celery, cybrids, male sterility, protoplast isolation and fusion

Acknowledgements

This research was funded by the University Development Program within the framework of the Strategic Academic Leadership Program “Priority 2030”.

For citation

Aljaramany N., Monakhos S.G. Protoplast technology and somatic hybridization in the Apiaceae family. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2025. No. 6. P. 68–78.

Введение

Introduction

Маловероятно, что традиционные методы селекции растений смогут адекватно удовлетворить растущие потребности в продовольствии и решить различные экологические проблемы [1]. В результате этого в атмосферу выбрасываются вредные вещества, образующиеся в процессе производства, и повышается уровень загрязнения окружающей среды [2].

Ограниченный набор генов, доступных при половой гибридизации скрещиваемых видов растений, препятствует внедрению интересных генов или признаков.

В связи с этим многие культуры требуют длительного времени для выбора предпочтительного признака или гена в новом генотипе. Достижения в области клеточных манипуляций *in vitro* и технологий генной инженерии обеспечивают альтернативный подход к традиционным методам селекции растений и обеспечивают новые подходы к объединению генов, которые до сих пор не были доступны в естественных условиях [3].

Культуры, выращиваемые во всем мире и имеющие питательную ценность для человека, распространены в различных географических регионах и характеризуются разным уровнем продуктивности. Среди них доминирующее положение на коммерческих рынках занимают свободноперекрестноопыляющиеся сорта, принадлежащие семейству Зонтичные (*Apiaceae*), примером которых являются морковь (*Daucus carota*), корневой и черешковый сельдерей (*Apium graveolens* var. *dulce* и *Apium graveolens* var. *rapaceum*, соответственно). Такие сорта, несмотря на свою продуктивность, часто не отличаются однородностью и стабильностью урожая в различных климатических условиях [4, 5].

Данные проблемы могут быть решены с помощью создания и выращивания F1-гибридов, для чего наличие высококачественных мужских стерильных линий имеет первостепенное значение. В настоящее время получение вышеупомянутых линий представляет собой сложную задачу в гибридной селекции культур семейства *Apiaceae* [6].

Существует необходимость преодоления ограничений традиционной селекции и использования биотехнологий (соматическая гибридизация, технологии *in vitro*) для получения эффективных гибридных линий с улучшенными агрономическими характеристиками, что способствует ускорению селекционного процесса и улучшению сельскохозяйственных показателей культур *Apiaceae*. Необходимы разработка и совершенствование технологии выделения и слияния протопластов для создания соматических гибридов и цибридов в семействе *Apiaceae*, направленных на расширение генетического разнообразия и интрогрессию коммерчески значимых признаков – таких, как цитоплазматическая мужская стерильность, с целью повышения продуктивности, стабильности урожая и качества гибридных семян культур семейства *Apiaceae*.

Цель исследований: аналитический обзор существующей ситуации в области разработки технологий выделения и слияния протопластов для создания соматических гибридов и цибридов в семействе *Apiaceae*, направленных на расширение генетического разнообразия и интрогрессию коммерчески значимых признаков.

Методика исследований

Research method

В обзоре проанализированы зарубежные и отечественные научные источники, в которых рассматриваются ЦМС- и ЯМС-формы мужской стерильности, гены-кандидаты, вовлеченные в этот процесс, и получение мужских стерильных генотипов с помощью методов соматической гибридизации. Кроме того, обсуждаются исследования, рассматривающие предварительную обработку растений-доноров, различные источники тканей, используемые для выделения родительских протопластов в семействе *Apiaceae*, и методы получения соматических гибридов и цибридов с их последующим культивированием.

Результаты и их обсуждение

Results and discussion

Значение мужской стерильности в области селекции растений. Мужская стерильность у *Apiaceae*, включая морковь, сельдерей и кориандр, контролируется либо генетическими, когда только гены ядерного генома определяют ЯМС,

либо цитоплазматическими механизмами, когда митохондриальные гены, прямо или косвенно влияющие на функции ядерных генов, отвечают за ЦМС. Эта мужская стерильность используется в селекции для облегчения производства гибридных семян без ручной кастрации, которая затруднена ввиду небольшого размера цветков и склонности к самоопылению. Гены только ядерного генома определяют ЯМС [7].

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС). ЦМС, наследуемая по материнской линии, является более предпочтительным типом МС, поскольку позволяет лучше контролировать производство гибридных семян [8]. Эта технология находит все более широкое применение в различных сельскохозяйственных культурах, включая основные зерновые, овощные, бобовые, масличные, а также технические и декоративные культуры, с особым акцентом на различных представителях семейства *Ariaseae*, рассматриваемых в данных исследованиях.

Иранский образец P12295260 семейства *Ariaseae* является первой мужской стерильной линией сельдерея, о которой сообщили Quiros et al. в 1986 г. [9]. В двух последующих публикациях за 2006 г. Gao et al. впервые приписали ЦМС одиночному рецессивному гену ms-1 [10]. Однако в 2009 г. они пришли к выводу о том, что на самом деле два рецессивных ядерных гена в сочетании с фактором стерильности в цитоплазме контролируют мужскую стерильность [11]. В недавних исследованиях сравнительный анализ митохондриального генома китайского сельдерея «tanzhixiangqin» между линией ЦМС и ее закрепителем стерильности позволил выявить 21 уникальный регион с 15 ORF в линии ЦМС. В ORF768a был обнаружен только один химерный ген, который имел последовательность гена *cox1* длиной 1497 п.н. и неизвестную последовательность длиной 810 п.н. Вероятно, ORF768a кодирует 11 трансмембранных доменов белка, что заставило группу исследователей Cheng et al. в 2021 г. указать, что ORF768a может быть хорошим геном-кандидатом, предопределяющим цитоплазматическую мужскую стерильность у сельдерея [12].

К сожалению, количество стабильных мужских стерильных линий у видов семейства *Ariaseae* остается ограниченным, и ни одна из них в настоящее время не используется для коммерческого массового производства семян. Однако потребность в единообразии роста подтверждается растущим числом F1-гибридов, доступных на рынке, несмотря на отсутствие эффективной системы ЦМС.

Технология протопластов в семействе Ariaseae. По сравнению с половым размножением соматическая гибридизация имеет множество преимуществ для передачи или создания ЦМС *de novo*, в частности, потому, что она позволяет избежать нежелательных/неконтролируемых признаков, возникающих в результате одновременной передачи генов, отличных от тех, которые отвечают за ЦМС. Однако для успешного использования соматической гибридизации в данном случае существует ряд условий. К ним относят эффективное и надежное выделение большого количества высокожизнеспособных протопластов обоих компонентов, а также создание воспроизводимых стратегий для повышения частоты регенерации растений из культивируемых протопластов, где задействован по меньшей мере один из предполагаемых компонентов слияния.

Изоляция протопластов из различных тканей у видов Ariaseae. К настоящему времени в семействе *Ariaseae* были получены данные о выделении протопластов у *Daucus carota* (морковь), *Apium graveolens* (сельдерей), *Coriandrum sativum* (кориандр), *Foeniculum vulgare* (фенхель) и *Petroselinum hortense* (петрушка) [13]. Выделение протопластов было успешно проведено из различных тканей растений семейства *Ariaseae* – таких, как сельдерей и морковь, которые являются обычными модельными видами в этом семействе. Например, была создана эффективная система для выделения и трансформации протопластов сельдерея из листьев. Протопласты моркови также были выделены из суспензионных культур клеток для исследований субклеточной локализации белков [14].

До сих пор использовали различные смеси ферментов, а также комбинации концентраций для получения лучшего выхода протопластов (табл.). В случае моркови протопласты, полученные из листьев, дают примерно в три раза больший урожай, чем протопласты, полученные из гипокотилей [15]. В этом отношении большинство авторов предпочитали использовать в качестве источника протопластов суспензии клеток, а не дифференцированные ткани, как в случае с листьями или гипокотильями сельдерея [16]. Интересен тот факт, что у моркови эффективность деления протопластов гипокотилей при измерении количества колоний, происходящих из отдельных клеток, была в два раза выше, чем у протопластов листьев, в то время как обычно используемые протопласты, полученные из суспензионных культур, демонстрировали эффективность деления ниже, чем у этих двух источников дифференцированных тканей [15].

Таблица

Ключевые различия в технологиях выделения протопластов растений семейства *Apiaceae*

Table

Key differences in protoplast isolation technologies for plants of the *Apiaceae* family

Вид растения	Источник ткани	Ферментная смесь и условия	Выход и жизнеспособность	Ссылки
Морковь (<i>Daucus carota</i>)	Листья и гипокотиль	1% целлюлазы Onozuka R10, 0,1% пектолиазы Y-23, 0,6 М маннитола, 5 мМ CaCl ₂ , 20 мМ MES, 14–18 ч, 30 rpm, 26 °C	листья: $3,21 \times 10^6$ g/fw, 74% жизнеспособность; гипокотиль: $0,96 \times 10^6$ g/fw	[15]
	Листья	1% целлюлазы Onozuka R10, 0,1% пектолиазы Y-23, 0,6 М маннитола, 5 мМ CaCl ₂ , 10 мМ MES, 14–16 ч, темнота, 30 rpm, 26 °C	Не указано	[17]
	Листья	1% целлюлазы Onozuka R10, 0,1% пектолиазы Y-23, 0,6 М маннитола, 5 мМ CaCl ₂ , 20 мМ MES, 12–16 ч, темнота, 30 rpm, 26 °C	$2,8 \times 10^6$ g/fw, 72–93% жизнеспособность	[18]
	Листья	2% целлюлазы Onozuka R10, 0,1% пектолиазы Y-23 и 1% мацерозима R-10, 0,6 М маннитола, 10 мМ CaCl ₂ , 10 мМ MES, 0,8% бычьего сывороточного альбумина, 15 ч, темнота, 30 rpm, 26 °C	Не указано	[19]
Кориандр (<i>Coriandrum sativum</i> vars.)	Суспензия эмбриогенных клеток	2% целлюлазы Onozuka R10, 1% пектиназы и 0,2% мацерозима R-10, 0,6 М маннитола, 5 мМ CaCl ₂ , 14–18 ч, темнота, 50 rpm	$4,81 \times 10^6$ g/fw, 90–93, 8% жизнеспособность	[20]

*Соматическая гибридизация в семействе *Ariaseae*.* Как правило, желаемое слияние протопластов может быть осуществлено либо химическим, либо электрическим способами. Химические фузогены обычно используются для вызывания слияния протопластов, поскольку спонтанное слияние происходит редко ввиду заряженной поверхности протопластов. Для семейства *Ariaseae* типичные химические фузогены включают в себя: Полиэтиленгликоль (ПЭГ) с различной молекулярной массой (например, ПЭГ 1540, 4000, 6000) в концентрации от 5 до 56%; декстран в концентрации около 15%; диметилсульфоксид (ДМСО) в концентрации около 10%; глицин и осмотические стабилизаторы – такие, как маннит или сорбит. Эти агенты способствуют слиянию путем уменьшения отрицательного заряда на поверхности протопластов или путем содействия адгезии через электростатические силы, что приводит к плотной агглютинации и последующему слиянию протопластов [21–23].

Среди других доступных стратегий экспериментального индуцирования ЦМС применяется слияние протопластов двух соматических родителей. У таких гибридов наследование хлоропластной ДНК, как правило, унипарентальное, то есть после деления клеток передается только хлоропластный геном одного из родителей [24]. Одна из ключевых особенностей, которая делает цибриды привлекательными для программ селекции, – сохранение целостности сорта, поскольку весь ядерный геном происходит от одного родителя. Это означает, что ядерный генетический материал остается неизменным, в то время как цитоплазматический (митохондриальный) геном происходит из другого источника – как правило, от донора яйцеклетки. Это позволяет селекционерам сочетать желаемые цитоплазматические признаки (например, устойчивость к болезням или другие характеристики, кодируемые органеллами) без изменения ядерного генома, определяющего сорт. Селекционеры крайне заинтересованы в эффективном, экономичном и быстром получении генетически однородных растений [25]. Примечательно, что цибриды часто бывают мужски-стерильными и позволяют идентифицировать и отбирать интересующие соматические гибридные линии [15]. В целом симметричное слияние максимизирует ядерное генетическое разнообразие, объединяя полные ядерные геномы, в то время как асимметричное слияние в первую очередь повышает цитоплазматическое генетическое разнообразие, смешивая органеллярные геномы с одним ядерным геномом. Оба подхода способствуют созданию новых генетических комбинаций, которые могут быть использованы для улучшения сельскохозяйственных культур, особенно для преодоления половой несовместимости и введения желательных цитоплазматических признаков [26].

Таким образом, цибрид – это тип асимметричного соматического гибрида, в котором ядерный геном происходит от одного родителя, а цитоплазматические геномы наследуются от обоих родителей.

Выводы

Conclusions

Рост численности населения остается вызовом современности ввиду повышения спроса на продукты питания, что приводит к одновременной необходимости роста объемов производства и урожайности в сочетании с высоким качеством продукции [27, 28]. Семейство *Ariaseae* вносит значительный вклад в рацион питания человека, что в свою очередь сигнализирует о потребности общества в увеличении производства продукции, принадлежащей данному семейству. Использование протопластов для соматической гибридизации получает все большее

распространение благодаря коммерчески важным признакам, которые регулируются митохондриями и пластидами. Линии ЦМС способны обеспечить однородность, качество и урожайность при производстве гибридных семян. Кроме того, соматические гибриды представителей семейства *Apiaceae* обладают такими агрономически и экономически значимыми характеристиками, как высокая питательная ценность и устойчивость к болезням, в связи с чем расширяются возможности их применения.

Для слияния протопластов необходимы хорошо отлаженные процедуры выделения, предварительной обработки и регенерации из различных источников тканей. Однако на данный момент слияние протопластов часто остается сложным методом для получения гибридов по причине малой доступности установок для ядерного облучения включая гамма-лучи и рентгеновское излучение. В качестве альтернативы используется более доступное ультрафиолетовое излучение. Кроме того, данный метод требует повышения эффективности химического и электрического способов слияния протопластов. На сегодняшний день в ряде исследований сообщается о соматической гибридизации в семействе *Apiaceae*, однако передача признака и его коммерциализация до сих пор остаются сложной задачей.

Список источников

1. Gao C. The future of CRISPR technologies in agriculture. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2018;19:275-276. <https://doi.org/10.1038/nrm.2018.2>
2. Монахос С.Г., Воронина А.В., Байдина А.В., Зубко О.Н. Селекция растений на устойчивость – основа защиты от болезней в органическом земледелии // *Картофель и овощи*. 2019. № 6. С. 38–40. <https://doi.org/10.25630/PAV.2019.92.83.009>
3. Gantai S., Mukherjee E., Jogam P., Babu K.H. et al. Improving crops through transgenic breeding – technological advances and prospects. *Advances in Plant Tissue Culture. Current Developments and Future Trends*. 2022;1:295-324. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90795-8.00011-4>
4. Godwin A., Pieralli S., Sofkova-Bobcheva S., McGill C. Natural genetic adaptation allows flexible reproductive behaviour: the case of wild carrot (*Daucus carota* L. subsp. *carota*) vs cultivated carrot (*Daucus carota* L. subsp. *sativus*). *Crop & Pasture Science*. 2025;76: CP24320. <https://doi.org/10.1071/CP24320>
5. Loarca J., Liou M., Dawson J.C., Simon P.W. Advancing utilization of diverse global carrot (*Daucus carota* L.) germplasm with flowering habit trait ontology. *Frontiers in Plant Science*. 2024;15:1342513. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1342513>
6. Anisimova I.N., Gavrilenko T.A. Cytoplasmic male sterility and its use in hybrid breeding of crops. *Genetics*. 2020;56(11):1239-1249. <https://doi.org/10.18619/2658-4832-2020-1-10-22>
7. Wang X., Luo Q., Li T., Meng P. et al. Origin, evolution, breeding, and omics of *Apiaceae*: a family of vegetables and medicinal plants. *Horticulture Research*. 2022;9: uhac076. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac076>
8. Алижанова Р.Р., Монахос С.Г., Монахос Г.Ф. Молекулярные маркеры в селекции лука репчатого // *Картофель и овощи*. 2019. № 2. С. 32–35. <https://doi.org/10.25630/PAV.2019.28.2.007>
9. Quiros C.F., Rugama A., Dong Y.Y., Orton T.J. Cytological and genetical studies of a male sterile celery. *Euphytica*. 1986;3:867-875. <https://doi.org/10.1007/BF00028594>
10. Gu Z.-H. Discovery and botanical characters of celery male sterile material. *Tianjin Agricultural Sciences*. 2006;12:9-11

11. Gao G., Jin L., Lu F., Lu Z. et al. Genetic characters of 01-3A male sterile celery. *Journal of Changjiang Vegetables*. 2009;14:21-23.
12. Cheng Q., Wang P., Li T., Liu J. et al. Complete mitochondrial genome sequence and identification of a candidate gene responsible for cytoplasmic male sterility in celery (*Apium graveolens* L.). *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(16):8584. <https://doi.org/10.3390/ijms22168584>
13. Bruznican S., Eeckhaut T., Huylenbroeck J., Keyser A.D. et al. An asymmetric protoplast fusion and screening method for generating celeriac cybrids. *Scientific Reports*. 2021;11:4543. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83970-y>
14. Simpson K., Stange C. Carrot protoplasts as a suitable method for protein subcellular localization. In: *Methods in Enzymology*. Wurtzel E.T. (Ed). 2022;671:273-283. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2022.03.006>
15. Ranaware A.S., Kunchge N.S., Lele S.S., Ochatt S.J. Protoplast technology and somatic hybridisation in the family *Apiaceae*. *Plants*. 2023;12(5):1060. <https://doi.org/10.3390/plants12051060>
16. Bruznican S., Eeckhaut T., Huylenbroeck J., Clercq D.H. et al. Regeneration of cell suspension derived *Apium graveolens* L. protoplasts. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2017;1:163-174. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1273-9>
17. Grzebelus E., Skop L. Effect of beta-lactam antibiotics on plant regeneration in carrot protoplast cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 2014;5:568-575. <https://doi.org/10.1007/s11627-014-9626-0>
18. Maćkowska K., Jarosz A., Grzebelus E. Plant regeneration from leaf-derived protoplasts within the *Daucus* genus: effect of different conditions in alginate embedding and phytosulfokine application. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2014;2:241-252. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0436-1>
19. Meyer C.M., Goldman I.L., Grzebelus E., Krysan P.J. Efficient production of transgene-free, gene-edited carrot plants via protoplast transformation. *Plant Cell Reports*. 2022;4:947-960. <https://doi.org/10.1007/s00299-022-02830-9>
20. Ali M., Mujib A., Zafar N., Tonk D. Protoplast isolation and plant regeneration in two cultivated coriander varieties, Co-1 and RS. *Biotechnologia*. 2018;4:345-355. <https://doi.org/10.5114/bta.2018.79965>
21. Tan F., Shen H., Wang S., Jink Z. et al. Preliminary study of asymmetric protoplast fusion between celery (*Apium graveolens* L.) and CMS carrot (*Daucus carota* L.). *Acta Horticulturae*. 2009;8:1169-1176
22. Han L., Zhou C., Shi J., Zhi D. et al. Ginsenoside Rb1 in asymmetric somatic hybrid calli of *Daucus carota* with *Panax quinquefolius*. *Plant Cell Reports*. 2009;4:627-638. <https://doi.org/10.1007/s00299-009-0674-6>
23. Gieniec M., Siwek J., Oleszkiewicz T., Maćkowska K. et al. Real-time detection of somatic hybrid cells during electrofusion of carrot protoplasts with stably labelled mitochondria. *Scientific Reports*. 2020;10:18811. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75983-w>
24. Joo S., Kariyawasam T., Kim M., Jin E. et al. Sex-linked deubiquitinase establishes uniparental transmission of chloroplast DNA. *Nature Communications*. 2022;13:1133. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28807-6>
25. Flores-Tornero M., Sapeta H., Becker J.D. Improving the haploidization toolbox: maternal factors take the stage. *Molecular Plant*. 2023;16(4):651-653. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2023.02.008>
26. Begna T. Intergeneric somatic hybridization and its application to crop genetic improvement. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences*. 2020;6:25-37. <https://doi.org/10.20431/2454-6224.0606004>

27. Zubareva I.A., Vinogradova S.V., Gribova T.N., Monakhos S.G. et al. Genetic diversity of turnip mosaic virus and the mechanism of its transmission by brassica seeds. *Biochemistry and Biophysics*. 2013;1:119-122. <https://doi.org/10.1134/S1607672913030034>
28. Lu L., Lim Y.P., Monakhos S.G., Yi S.Y. Early defense mechanisms of Brassica oleracea in response to attack by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Plants*. 2021;10(12):2705. <https://doi.org/10.3390/plants10122705>

References

1. Gao C. The future of CRISPR technologies in agriculture. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2018;19:275-276. <https://doi.org/10.1038/nrm.2018.2>
2. Monakhos S.G., Voronina A.V., Baidina A.V., Zubko O.N. Plant breeding for disease resistance is a base of plant protection in organic farming. *Potato and Vegetables*. 2019;(6):38-40. (In Russ.) <https://doi.org/10.25630/PAV.2019.92.83.009>
3. Gantai S., Mukherjee E., Jogam P., Babu K.H. et al. Improving crops through transgenic breeding – technological advances and prospects. *Advances in Plant Tissue Culture. Current Developments and Future Trends*. 2022;1:295-324. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90795-8.00011-4>
4. Godwin A., Pieralli S., Sofkova-Bobcheva S., McGill C. Natural genetic adaptation allows flexible reproductive behaviour: the case of wild carrot (*Daucus carota* L. subsp. *carota*) vs cultivated carrot (*Daucus carota* L. subsp. *sativus*). *Crop & Pasture Science*. 2025;76: CP24320. <https://doi.org/10.1071/CP24320>
5. Loarca J., Liou M., Dawson J.C., Simon P.W. Advancing utilization of diverse global carrot (*Daucus carota* L.) germplasm with flowering habit trait ontology. *Frontiers in Plant Science*. 2024;15:1342513. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1342513>
6. Anisimova I.N., Gavrilenko T.A. Cytoplasmic male sterility and its use in hybrid breeding of crops. *Genetics*. 2020;56(11):1239-1249. <https://doi.org/10.18619/2658-4832-2020-1-10-22>
7. Wang X., Luo Q., Li T., Meng P. et al. Origin, evolution, breeding, and omics of *Apiaceae*: a family of vegetables and medicinal plants. *Horticulture Research*. 2022;9: uhac076. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac076>
8. Alizhanova R.R., Monakhos S.G., Monakhos G.F. Molecular markers in onion breeding. *Potato and Vegetables*. 2019;(2):32-35. (In Russ.) <https://doi.org/10.25630/PAV.2019.28.2.007>
9. Quiros C.F., Rugama A., Dong Y.Y., Orton T.J. Cytological and genetical studies of a male sterile celery. *Euphytica*. 1986;3:867-875. <https://doi.org/10.1007/BF00028594>
10. Gu Z.-H. Discovery and botanical characters of celery male sterile material. *Tianjin Agricultural Sciences*. 2006;12:9-11.
11. Gao G., Jin L., Lu F., Lu Z. et al. Genetic characters of 01-3A male sterile celery. *Journal of Changjiang Vegetables*. 2009;14:21-23.
12. Cheng Q., Wang P., Li T., Liu J. et al. Complete mitochondrial genome sequence and identification of a candidate gene responsible for cytoplasmic male sterility in celery (*Apium graveolens* L.). *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(16):8584. <https://doi.org/10.3390/ijms22168584>
13. Bruznican S., Eeckhaut T., Huylenbroeck J., Keyser A.D. et al. An asymmetric protoplast fusion and screening method for generating celeriac cybrids. *Scientific Reports*. 2021;1:4543. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83970-y>
14. Simpson K., Stange C. Carrot protoplasts as a suitable method for protein subcellular localization. In: *Methods in Enzymology*. Wurtzel E.T. (Ed). 2022;671:273-283. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2022.03.006>

15. Ranaware A.S., Kunchge N.S., Lele S.S., Ochatt S.J. Protoplast technology and somatic hybridisation in the family *Apiaceae*. *Plants*. 2023;12(5):1060. <https://doi.org/10.3390/plants12051060>
16. Bruznican S., Eeckhaut T., Huylenbroeck J., Clercq D.H. et al. Regeneration of cell suspension derived *Apium graveolens* L. protoplasts. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2017;1:163-174. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1273-9>
17. Grzebelus E., Skop L. Effect of beta-lactam antibiotics on plant regeneration in carrot protoplast cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2014;5:568-575. <https://doi.org/10.1007/s11627-014-9626-0>
18. Maćkowska K., Jarosz A., Grzebelus E. Plant regeneration from leaf-derived protoplasts within the *Daucus* genus: effect of different conditions in alginate embedding and phytosulfokine application. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2014;2:241-252. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0436-1>
19. Meyer C.M., Goldman I.L., Grzebelus E., Krysan P.J. Efficient production of transgene-free, gene-edited carrot plants via protoplast transformation. *Plant Cell Reports*. 2022;4:947-960. <https://doi.org/10.1007/s00299-022-02830-9>
20. Ali M., Mujib A., Zafar N., Tonk D. Protoplast isolation and plant regeneration in two cultivated coriander varieties, Co-1 and RS. *Biotechnologia*. 2018;4:345-355. <https://doi.org/10.5114/bta.2018.79965>
21. Tan F., Shen H., Wang S., Jink Z. et al. Preliminary study of asymmetric protoplast fusion between celery (*Apium graveolens* L.) and CMS carrot (*Daucus carota* L.). *Acta Horticulturae*. 2009;8:1169-1176.
22. Han L., Zhou C., Shi J., Zhi D. et al. Ginsenoside Rb1 in asymmetric somatic hybrid calli of *Daucus carota* with *Panax quinquefolius*. *Plant Cell Reports*. 2009;4:627-638. <https://doi.org/10.1007/s00299-009-0674-6>
23. Gieniec M., Siwek J., Oleszkiewicz T., Maćkowska K. et al. Real-time detection of somatic hybrid cells during electrofusion of carrot protoplasts with stably labelled mitochondria. *Scientific Reports*. 2020;10:18811. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75983-w>
24. Joo S., Kariyawasam T., Kim M., Jin E. et al. Sex-linked deubiquitinase establishes uniparental transmission of chloroplast DNA. *Nature Communications*. 2022;13:1133. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28807-6>
25. Flores-Tornero M., Sapeta H., Becker J.D. Improving the haploidization toolbox: maternal factors take the stage. *Molecular Plant*. 2023;16(4):651-653. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2023.02.008>
26. Begna T. Intergeneric somatic hybridization and its application to crop genetic improvement. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences*. 2020;6:25-37. <https://doi.org/10.20431/2454-6224.0606004>
27. Zubareva I.A., Vinogradova S.V., Gribova T.N., Monakhos S.G. et al. Genetic diversity of turnip mosaic virus and the mechanism of its transmission by brassica seeds. *Biochemistry and Biophysics*. 2013;1:119-122. <https://doi.org/10.1134/S1607672913030034>
- Lu L., Lim Y.P., Monakhos S.G., Yi S.Y. Early defense mechanisms of Brassica oleracea in response to attack by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Plants*. 2021;10(12):2705. <https://doi.org/10.3390/plants10122705>

Сведения об авторах

Насим Алжарамани, аспирант кафедры молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский

государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: naseemjihadja@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0000-0407-3459>

Сократ Григорьевич Монахос, д-р с.-х. наук, профессор, заведующий кафедрой молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9404-8862>

Information about the authors

Naseem Aljaramany, post-graduate student of the Department of Molecular Breeding, Cell Technologies and Seed Production, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation; e-mail: naseenjihadja@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0000-0407-3459>

Sokrat G. Monakhos, DSc (Ag), Professor, Head of the Department of Molecular Breeding, Cell Technologies and Seed Production, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127434, Russian Federation; e-mail: s.monakhos@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9404-8862>