

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОМАТИЧЕСКОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ДЛЯ РАСШИРЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ГРИБОВ

Л. Ф. КАБАШНИКОВА¹⁾, Л. В. ПАШКЕВИЧ¹⁾, И. Н. ДОМАНСКАЯ¹⁾, В. И. ЛУКША¹⁾,
С. Н. ШПИЛЕВСКИЙ¹⁾, Я. Н. АРТЕМЧУК¹⁾, С. С. ГОРДИЕНКО¹⁾, М. А. ДАРКОВИЧ¹⁾

¹⁾Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Рассматриваются фундаментальные и прикладные аспекты научных исследований в области клеточных технологий, которые позволяют создавать новые формы растений с заданными свойствами, что способствует ускорению селекционного процесса в 2–4 раза. Эффективное использование генетического разнообразия, присущего сельскохозяйственным растениям и их дикорастущим сородичам, а также формирование устойчивости к болезням с помощью соматической гибридизации и/или молекулярно-биологических методов приводит к получению культур с улучшенными свойствами и вносит значительный вклад в продовольственную и экологическую безопасность. В связи с этим возрастает актуальность включения клеточных технологий и, в частности, метода соматической гибридизации в селекционные программы для ускоренного создания исходного материала и новых сортов или гибридов путем сочетания традиционных методов селекции и клеточных технологий. Несмотря на достигнутые успехи в данной области исследований, существует ряд проблем. Отсутствие стандартизированных, эффективных и воспроизводимых протоколов клеточной гибридизации *in vitro* часто препятствует их практическому использованию. Важным современным направлением биотехнологии является также повышение биологического потенциала энтомопатогенных грибов, которые применяются для биологической защиты растений от насекомых-вредителей, а также грибов-антагонистов для защиты растений от фитопатогенов. На основе совершенствования метода соматической гибридизации, основанной на слиянии протопластов, появилась возможность получения новых штаммов грибов, обладающих уникальными свойствами, что позволяет расширить спектр действия биопрепаратов, повысить биологическую эффективность полезных штаммов грибов, а также их устойчивость к факторам окружающей среды. В мировой научной литературе уже отмечены определенные успехи в этом направлении и созданы научные основы получения ценных межвидовых гибридов растений и грибов, что является отправной точкой для развития аналогичных исследований в Республике Беларусь.

Ключевые слова: соматическая гибридизация; протопласты; генетическая модификация; растения; биоконтроль; энтомопатогенные грибы; грибы-антагонисты.

Образец цитирования:

Кабашникова ЛФ, Пашкевич ЛВ, Доманская ИН, Лукша ВИ, Шпилевский СН, Артемчук ЯН, Гордиенко СС, Даркович МА. Перспективы использования соматической гибридизации для расширения генетического разнообразия культурных растений и грибов. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2026;2:31–42.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2026-2-31-42>

For citation:

Kabashnikova LF, Pashkevich LV, Domanskaya IN, Luksha VI, Shpilevsky SN, Artemchuk YaN, Gordienko SS, Darkovich MA. Prospects of using somatic hybridization to expand the genetic diversity of cultivated plants and fungi. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2026;2:31–42. Russian.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2026-2-31-42>

Авторы:

Людмила Федоровна Кабашникова – член-корреспондент НАН Беларуси; доктор биологических наук, профессор; заведующий лабораторией.

Любовь Валерьевна Пашкевич – кандидат биологических наук; доцент; старший научный сотрудник.

Ирина Николаевна Доманская – кандидат биологических наук, доцент; старший научный сотрудник.

Виктория Ивановна Лукша – кандидат биологических наук, доцент; старший научный сотрудник.

Святослав Николаевич Шпилевский – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник.

Яна Николаевна Артемчук – младший научный сотрудник.

Софья Сергеевна Гордиенко – младший научный сотрудник.

Марина Андреевна Даркович – младший научный сотрудник.

Authors:

Luidmila F. Kabashnikova, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus; doctor of science (biology), full professor; head of the laboratory.

kabashnikova@mail.ru

Liubov V. Pashkevich, PhD (biology), docent; senior researcher.
ljubi.k87@gmail.com

Irina N. Domanskaya, PhD (biology), docent; senior researcher.
domanin07@mail.ru

Victoria I. Luksha, PhD (biology), docent; senior researcher.
saphyjana2@gmail.com

Svyatoslav N. Shpilevsky, PhD (biology); senior researcher.
metanova@mail.ru

Yana N. Artemchuk, junior researcher.
yanaart222@gmail.com

Sofya S. Gordienko, junior researcher.
gordienko.sonya@inbox.ru

Marina A. Darkovich, junior researcher.
marina.krupkevitch@mail.ru

PROSPECTS OF USING SOMATIC HYBRIDIZATION TO EXPAND THE GENETIC DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND FUNGI

L. F. KABASHNIKOVA^a, L. V. PASHKEVICH^a, I. N. DOMANSKAYA^a, V. I. LUKSHA^a, S. N. SHPILEVSKY^a,
Ya. N. ARTEMCHUK^a, S. S. GORDIENKO^a, M. A. DARKOVICH^a

^a*Institute of Biophysics and Cellular Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus*

Corresponding author: L. F. Kabashnikova (kabashnikova@mail.ru)

This review examines the fundamental and applied aspects of research in the field of cell technologies, which enable the creation of new plant forms with desired properties, thereby accelerating the breeding process by 2–4 times. Effective use of the genetic diversity inherent in agricultural plants and their wild relatives, as well as the development of disease resistance through somatic hybridization and/or molecular biology methods, leads to the production of crops with improved properties and makes a significant contribution to food and environmental security. Therefore, the importance of incorporating cell technologies, and in particular somatic hybridization, into breeding programs is growing. This allows for the accelerated development of source material and new varieties or hybrids by combining traditional breeding methods with cell technologies. Despite the progress made, this area of research remains challenging. The lack of standardized, efficient, and reproducible *in vitro* cell hybridization protocols often hinders their practical use. Another important modern trend in biotechnology is enhancing the biological potential of entomopathogenic fungi, which are used for biological plant protection against insect pests, as well as antagonist fungi for plant protection against phytopathogens. Improvements in somatic hybridization, based on protoplast fusion, have made it possible to develop new fungal strains with unique properties, expanding the spectrum of action of biopreparations, increasing the biological efficacy of beneficial fungal strains, and enhancing their resistance to environmental factors. The global scientific literature has already noted certain successes in this area, and the scientific foundations for obtaining valuable interspecific hybrids of plants and fungi have been created, which is a starting point for the development of similar research in the Republic of Belarus.

Keywords: somatic hybridization; protoplasts; genetic modification; plants; biocontrol; entomopathogenic fungi; antagonist fungi.

Введение

В современных условиях генетические ресурсы и селекция растений являются главными механизмами прогресса в сельском хозяйстве. В мире между селекционными фирмами идет жесткая конкуренция за поиск генов, обеспечивающих высокую потенциальную урожайность с абиотической и биотической устойчивостью для новых сортов культурных растений. Другой, не менее важной задачей, является разработка биотехнологий для оздоровления среды обитания человека, в том числе за счет сокращения использования химических пестицидов и замены их средствами биоконтроля на основе высокоэффективных микроорганизмов.

Научные достижения в области культивирования клеток, тканей и органов в системе *in vitro* привели к разработке принципиально новых технологий, направленных на создание улучшенных генотипов сельскохозяйственных растений, обладающих высоким потенциалом адаптации к стрессовым факторам внешней среды при сохранении или повышении их продуктивности [1]. Фундаментальные и прикладные научные исследования в области клеточных технологий способствуют успешному развитию селекции сельскохозяйственных культур, позволяя создавать новые формы растений в 2–4 раза быстрее по сравнению с традиционными методами селекции.

Современные достижения соматической гибридизации в создании новых форм культурных растений. К настоящему времени уже достигнут значительный прогресс в области селекции растений с использованием клеточных технологий [2]. В селекции растений используют следующие клеточные технологии: оплодотворение *in vitro* (преодоление прогамной несовместимости); эмбриокультура (преодоление постгамной несовместимости); получение гаплоидных растений путем андрогенеза и гиногенеза; индукция соматических вариантов; клеточная и тканевая селекция на устойчивость к стрессам; культура протопластов и соматическая гибридизация [3–5].

Традиционные методы селекции, такие как половая гибридизация, не позволяют передать некоторые элитные селекционные признаки (качественные характеристики, устойчивость к болезням, быстрый рост, засухоустойчивость, устойчивость к гербицидам, тепло- и холодостойкость, азотфиксация, солеустойчивость) из-за возникающих половых репродуктивных барьеров (цитоплазматическая мужская стерильность, половая несовместимость, ядерный эмбриогенез, полиэмбриония, различные фазы цветения) [6]. Такие барьеры могут быть преодолены с помощью соматической гибридизации путем слияния протопластов двух разных видов с образованием нового гибридного растения, обладающего характеристиками обоих родителей [7].

Соматическая гибридизация – это метод культуры клеток и тканей, который позволяет изменять клеточные геномы и комбинировать не только ядерные гены, но и гены органелл, создавая новые формы растений. Это относительно новый универсальный метод индукции или стимулирования генетической рекомбинации в различных прокариотических и эукариотических клетках [8]. Слияние протопластов обеспечивает эффективный способ переноса генов с желаемым признаком от одного вида к другому и оказывает все большее влияние на улучшение качества сельскохозяйственных культур [9; 10].

Процесс создания соматического гибрида включает несколько этапов [11]: поиск подходящего экспланта, выделение протопластов, их слияние, регенерация растений, последующий отбор и идентификация соматических гибридных растений (рис. 1).

Методика соматической гибридизации позволяет ускорить традиционную селекцию на основе создания новых линий, которые можно использовать в качестве элитного селекционного материала.

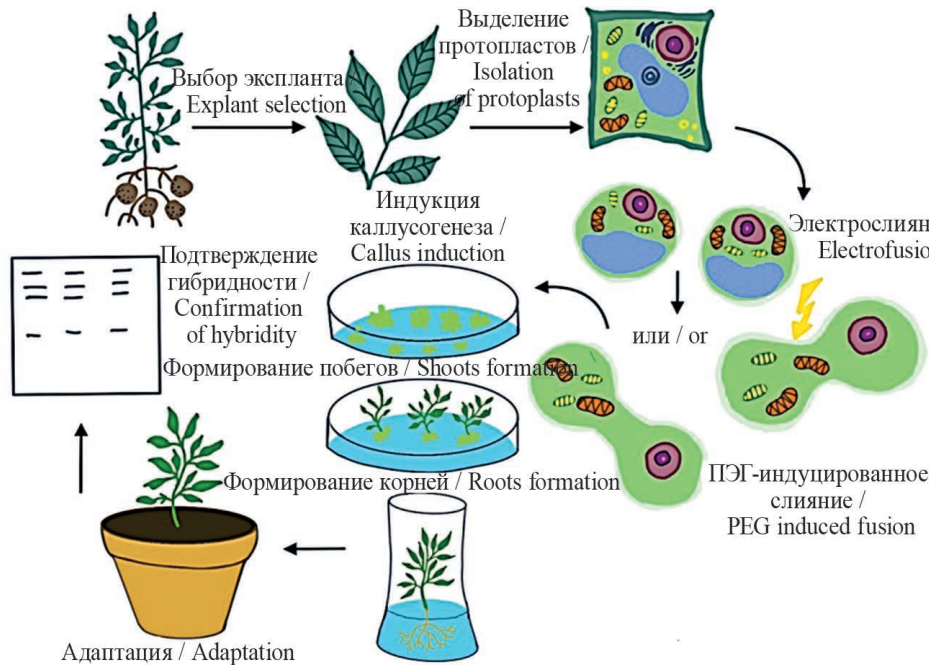


Рис. 1. Этапы соматической гибридизации *S. tuberosum* [11]

Fig. 1. Stages of somatic hybridization of *S. tuberosum* [11]

Отметим, что соматическая гибридизация предполагает интрогрессию целевых признаков в культурные растения без использования генетической трансформации и предварительных знаний об их генетическом контроле. Эта технология успешно использовалась для повышения солеустойчивости, улучшения качества, передачи цитоплазматической мужской стерильности, получения триплоидных культур без косточек и улучшения качества подвоев [12].

В настоящее время изолированные протопласты играют ключевую роль в понимании клеточной биологии, структуры, функции растительных клеток и тканей, а также в исследованиях переноса генов и манипуляций с ними, где, в отличие от трансформации, не нужно идентифицировать и изолировать интересные исследователей гены, чтобы перенести их в геном другого растения. Самое главное, что соматическая гибридизация позволяет осуществлять перенос не только ядерных генов, но и генетического материала митохондрий и пластид от обеих родительских форм [11]. Как правило, соматическая гибридизация дает возможность передавать цитоплазматические органеллы в одном поколении и открывает уникальные перспективы для объединения митохондрий одного вида и хлоропластов другого вида в единый гибрид [8]. Соматическая гибридизация может быть использована также в качестве метода получения автотетраплоидов. Перенос цитоплазмы занимает небольшой временной промежуток, и весь процесс можно пройти за один год, в то время как обратное скрещивание может занять 5–6 лет [8].

На рис. 2 представлены результаты соматической гибридизации протопластов томата и картофеля, что явилось одним из первых доказательств получения межвидовых гибридов, которые не могут быть получены половым путем [13].

Большинство таких агрономически важных признаков, как цитоплазматическая мужская стерильность, устойчивость к антибиотикам и гербицидам, кодируются цитоплазматически, поэтому могут быть легко перенесены на другие растения путем применения метода соматической гибридизации [8].

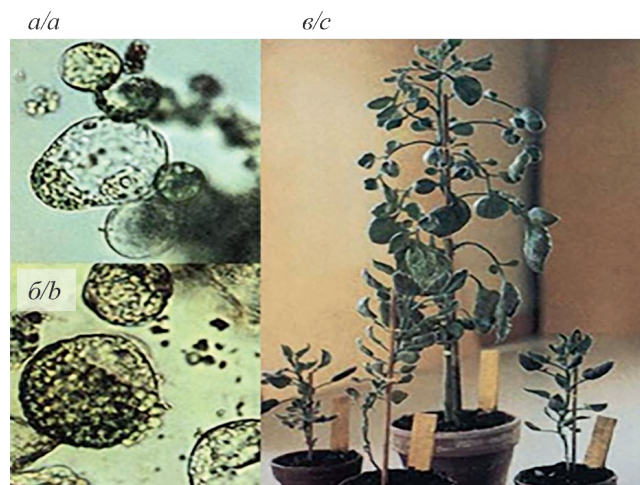


Рис. 2. Получение соматического гибрида картофеля (*Solanum tuberosum*) и томата (*Lycopersicon esculentum*), адаптировано по [13]: а, б – гибридные протопласты, полученные путем слияния протопластов томата и картофеля; а – цитоплазматическая часть томата имеет зеленые хлоропласты; б – цитоплазматическая часть картофеля бесцветна; в – соматические гибридные растения картофеля и томата, регенерированные из слитых протопластов

Fig. 2. Preparation of a somatic hybrid of potato (*Solanum tuberosum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*), adapted from [13]: а, б – protoplasts obtained by fusion of tomato and potato protoplasts; а – cytoplasmic part of tomato has green chloroplasts; б – the cytoplasmic part of potatoes is colorless; в – somatic hybrid potato and tomato plants regenerated from fused protoplasts

Таким образом, можно выделить следующие преимущества соматической гибридизации по сравнению с традиционными методами селекции [11]:

- 1) возможность получения фертильных соматических гибридов с целевыми признаками диких видов;
- 2) перспектива переноса моногенных и полигенных признаков за один этап;
- 3) возможность рекомбинации ядерных и цитоплазматических геномов;
- 4) отсутствие угрозы биобезопасности, в отличие от использования трансгенных технологий.

Протопласты можно выделить практически из любого вида растений и культивировать для получения каллуса. Эффективность слияния протопластов была впоследствии повышена за счет использования полиэтиленгликоля, раствора солей кальция с высоким рН или электростимуляции в качестве агентов, усиливающих слияние. Для проверки того, способны ли используемые методы вызывать слияние между акцепторным и донорским родами, используются специальные методы окрашивания. В исследовании [14] были проведены реакции слияния между суспензией протопластов сельдерея сорта «Diamant» 24 и протопластами моркови, кориандра и белого сельдерея сорта «Parmex». Донорские протопласты были окрашены FDA, а акцепторные — кальцеином синим (рис. 3). Гибридные клетки, окрашенные кальцеином синим и FDA, наблюдались после электрошока и химического слияния во всех комбинациях донор/акцептор.

Особую пользу селекционерам растений приносят уникальные комбинации из органелльных (пластидных, митохондриальных) и ядерных геномов, которые могут быть получены в результате слияния протопластов. Это свойство было использовано для замены дефектных хлоропластов, присутствующих в определенных аллоплазматических линиях с цитоплазматической мужской стерильностью [15]. Кроме того, было четко продемонстрировано, что после соматической гибридизации митохондриальные геномы растений могут подвергаться интенсивной межмолекулярной рекомбинации, тем самым создавая новые генетические свойства растений. Рекомбинация митохондрий после слияния протопластов была использована для выделения и описания митохондриальных последовательностей, связанных с цитоплазматической мужской стерильностью и с трансформацией митохондрий плазмидами митохондриальной ДНК [16].

Помимо существенных преимуществ метода соматической гибридизации, имеется и ряд недостатков, ограничивающих его широкое применение в селекции. Во-первых, увеличение длительности эксперимента по сравнению с генетической трансформацией, обусловленное необходимостью устранения нежелательных признаков от соматических гибридов посредством серии обратных скрещиваний. Во-вторых, генетическая нестабильность, отсутствие или плохая урожайность, невысокая жизнеспособность или летальность, очень низкая скрещиваемость полученных асимметричных соматических гибридов и потеря гибридами целевых признаков, что связано с негативными эффектами генетических факторов, вовлеченных в контроль пре- и постзиготической несовместимости [17].

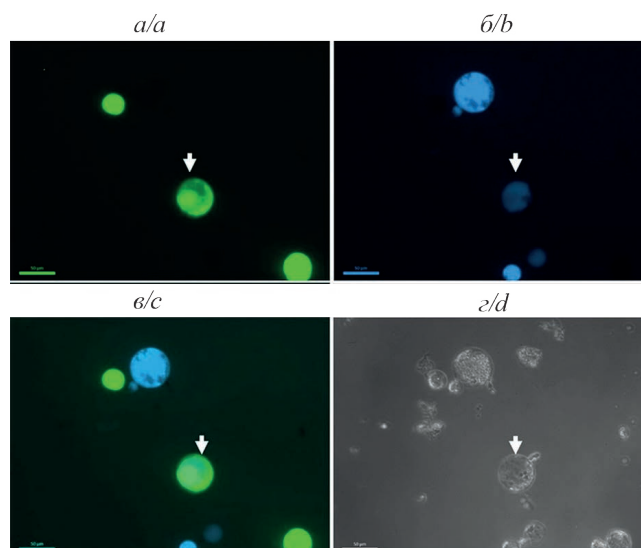


Рис. 3. Слияние протопластов сельдерея и кориандра [14]: протопласты сельдерея окрашены FDA (а), протопласты кориандра – кальцеином синим (б). Наложение фотографий показывает двойное окрашивание (в). Все клетки видны в светлом поле (г). Стрелкой указана гибридная клетка. Масштабная линейка — 50 мкм

Fig. 3. Fusion of celery and coriander protoplasts [14]: celery protoplasts were stained with FDA (a), and coriander protoplasts with calcein blue (b). An overlay of photographs shows double staining (c). All the cells were visible in the light field (d). The arrow indicates a hybrid cell. The scale ruler is 50 microns

У соматических гибридов возможно появление нового признака, не свойственного ни одному из родителей. Разные авторы описали проявление устойчивости клубней соматических гибридов картофеля с не клубненосным видом *S. brevidens* к поражению бактериальными гнилями, вызываемыми *Erwinia* sp., или парше обыкновенной, вызываемой видами *Streptomyces* (*S. scabies*, *S. turgidiscabie* и *S. acidiscabie*) [18; 19]. В обоих случаях признак устойчивости к патогену отсутствовал у культурного родителя – *S. tuberosum* и передавался потомству от скрещивания соматических гибридов и сортов картофеля, поражаемых соответствующими возбудителями.

Гибридизация соматических клеток была предложена в качестве возможного метода преодоления перекрестной несовместимости неродственных видов растений. С помощью соматической гибридизации получены гибриды между табаком и картофелем, дикими и культурными видами картофеля, морковью и петрушкой, томатом и картофелем. В результате слияния протопластов кочанной капусты и редьки осуществлен перенос цитоплазматической мужской стерильности в капусту [20]. Слияние протопластов картофеля (*Solanum tuberosum*) и томата (*Lycopersicon esculentum*) привело к появлению нового рода *Pomato* (Соланоперсикон) [8]. Были получены гибриды между двумя разными видами, например, между пшеницей *Triticum* и рожью *Secale* для получения тритикале [21].

Первые протоколы по соматической гибридизации *S. tuberosum* с дикими видами были разработаны в 1990-х гг. [22–24] и используются до сих пор. К настоящему времени путем слияния протопластов были получены сотни меж- и внутривидовых соматических гибридов с использованием 23 видов *Solanum* [25]. Известны соматические гибриды, устойчивые к *Phytophthora infestans*, *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacea*, PLRV, PVX, PVY и нематоды, а также соматические гибриды с морозостойкостью и более высокой холодостойкостью. Помимо этого, получены гибриды с более высоким содержанием крахмала и пониженной или повышенной концентрацией гликоалкалоидов [26]. Также соматические внутривидовые и межвидовые гибриды *Solanum* получают с целью создания новой ядерно-цитоплазматической зародышевой плазмы и индукции изменчивости пластидной и митохондриальной ДНК [27; 28]. Соматическая гибридизация картофеля не только преодолевает барьеры нескрещиваемости, но и индуцирует в гибридах изменения на молекулярном, геномном и хромосомном уровнях [29].

Многие гены устойчивости к болезням (например, вирус табачной мозаики, вирус картофеля Х, клубневая гниль) могут быть успешно перенесены от одного вида к другому. Например, у томатов появилась устойчивость к таким болезням, как вирус табачной мозаики, вирус пятнистого увядания и к насекомым-вредителям. Асимметричная соматическая гибридизация была использована для передачи признака устойчивости к бактериальному фитофторозу от дикой *Oryza meyeriana* L. к *Oryza sativa* L. ssp. *Japonica* [30].

Одной из проблем технологии соматической гибридизации и культуры клеток и тканей в целом является геномная нестабильность вследствие соматической вариабельности. Соматическая вариабельность может выражаться в проявлении различных морфологических признаков растений, времени появления всходов, количестве собранных клубней, содержании гликоалкалоидов. Различия также идентифицируются на уровне ядерных микросателлитных маркеров (ncSSR) и связаны с вариациями фенотипа [31]. В 2019 г. исследователи из США показали, что культивирование растений *in vitro* в зависимости от используемого протокола может вызывать нестабильность генома, приводя к крупномасштабным изменениям, и поставить под угрозу конечный фенотип растения [32; 33].

Быстрое развитие молекулярно-генетических методов в сочетании с другими методами уже сейчас позволяет проводить более глубокие исследования стабильности генома и улучшить качество соматических гибридов, полученных путем слияния протопластов.

Успехи соматической гибридизации в создании новых штаммов грибов для биологического контроля вредителей и болезней растений. Биологический контроль обычно воспринимается как альтернатива химическому контролю или, по крайней мере, как средство сокращения использования пестицидов. Вторая причина растущего интереса к биоконтролю связана с продолжающейся революцией в биологических науках, особенно с недавними достижениями в области методов генетической модификации [34].

Для уничтожения насекомых-вредителей на сельскохозяйственных культурах в мире используются биоинсектициды — препараты на основе энтомопатогенных вирусов, бактерий и грибов. Энтомопатогенные препараты действуют по-разному в зависимости от действующего вещества. Грибные патогены проникают в тело насекомого, вызывая развитие инфекционного процесса, который приводит к его гибели. Часто этот процесс сопровождается образованием токсина. Если штамм слабо продуцирует токсин, то мицелий достаточно быстро заполняет все тело насекомого. Заражение насекомых грибными патогенами, в отличие от других микроорганизмов, может происходить на различных стадиях развития (в стадии куколки или имаго).

Такие препараты на основе грибных агентов объединены в группу UNF классификации IRAC. Сюда относят «грибные агенты с неизвестным или неопределенным механизмом действия» (Fungal agents of unknown or uncertain MoA): штаммы *Beauveria bassiana*; *Metarhizium brunneum* штамм F52; *Paecilomyces fumosoroseus* *Apopka* штамм 97; *Akanthomyces muscarius* VeK [35; 36].

Beauveria bassiana — энтомопатогенный гриб, космополит. Вызывает у насекомых различных отрядов болезнь — белая мускардина. Данный вид имеет сложную внутривидовую структуру, которая представлена широким спектром подвидов (патовариантов), приуроченных к конкретной группе насекомых. Каждый подвид *Beauveria bassiana* проявляет максимальную вирулентность к конкретной группе, в отношении прочих членистоногих он может быть средневирулентным или слабовирулентным [37].

Beauveria bassiana имеет широкий круг хозяев и позволяет эффективно контролировать более 200 видов насекомых из шести отрядов и 15 семейств. Гриб патогенен для яиц, личинок, куколок и имаго озимой совки, кукурузного и лугового мотыльков, клопа вредная черепашка, колорадского жука, свекловичного долгоносика, яблонной плодовой гнили, персиковой плодовой гнили, яблонной моли, сосновой совки, златогузки, сосновой пяденицы, соснового шелкопряда. *Beauveria densa* поражает майских жуков [38]. Полевые испытания препаратов на основе *Beauveria bassiana* демонстрируют уровень смертности от 80 до 100 % среди этих разнообразных групп вредителей, при этом эффективность сохраняется даже против популяций, устойчивых к пиретроидам [39].

Metarhizium anisopliae — гриб, известный как зеленый мускардини. Конидии *M. anisopliae* размером от 5,0 до 8,0 мкм имеют овальную форму. Колонии грибов изначально белого или кремового цвета, но в процессе образования спор меняют цвет на оттенки желтого, зеленого и темно-зеленого [40]. Они прорастают при низких температурах [41]. Энтомопатогенные препараты на основе *Metarhizium robertsii* действуют как биологические инсектициды, заражая и убивая насекомых-вредителей, включая колорадского жука, лугового мотылька и паутинного клеща. Этот процесс включает шесть стадий: адгезию (прилипание) спор к телу насекомого, их прорастание, образование аппрессория (специальных структур для проникновения), проникновение через хитиновый покров, колонизацию гемолимфы (крови насекомого) и, наконец, выделение спор, что приводит к гибели вредителя [41].

Препараты, созданные в РУП «Институт защиты растений» на основе энтомопатогенных грибов *Metarhizium robertsii* и *Beauveria bassiana* — «Энтолек», «Мелобасс», «Пециломицин-Б», «Боверин зерновой-БЛ» — эффективны против широкого спектра вредителей на овощных и плодово-ягодных культурах.

Проблемы использования энтомопатогенных грибов включают низкую скорость действия, зависимость от условий окружающей среды, ограниченный спектр действия и возможные проблемы

с устойчивостью насекомых-вредителей. Энтомопатогенные грибы, в отличие от химических пестицидов, действуют не мгновенно, а в течение нескольких дней или даже недель. Эффективность действия зависит от влажности, температуры и других факторов, что может ограничивать их применение в определенных условиях. Кроме того, некоторые грибы эффективны только против определенных видов насекомых, что требует их точного подбора. Существует риск развития резистентности у вредителей к грибным препаратам, хотя он ниже, чем у химических пестицидов. Грибные препараты требуют особых условий хранения, например, низкой температуры, а их срок годности может быть ограничен.

Главными же недостатками использования энтомопатогенных грибов в качестве биоинсектицидов можно считать их относительно низкую вирулентность и, соответственно, недостаточно высокую скорость уничтожения насекомых-вредителей по сравнению с эффектом химических пестицидов [42].

Современная биотехнология предлагает передовые подходы к повышению потенциала грибов для различных биотехнологических применений [43]. Новые молекулярные методы позволяют быстро продвинуться в выяснении важнейших аспектов феномена биоконтроля и ведут к более эффективному его использованию [44]. В настоящее время доступно множество методов генетического манипулирования с грибами.

На сегодняшний день разрабатываются методы получения усовершенствованных штаммов грибов для биологической борьбы с различными вредителями растений [34], в частности, путем 1) применения системы CRISPR/Cas9, 2) слияния протопластов и 3) других генетических подходов. Улучшение штаммов грибов предполагает использование одного или комбинации методов для создания новых штаммов с желаемыми характеристиками. Таким образом, методы генетического улучшения грибов могут найти широкое применение в биологической защите сельскохозяйственных культур [34].

В некоторых случаях могут быть использованы достаточно простые методы генетического улучшения. Например, в работе J. S. Ahmad, R. Baker [45] использовали химический мутагенез для получения штаммов *Trichoderma harzianum*, обладающих устойчивостью к фунгициду беномилу. Удивительно, но мутантные штаммы оказались лучшими колонизаторами ризосферы, чем штаммы дикого типа. Индукция мутаций широко используется и в промышленной микробиологии [46], внося свой вклад в совершенствование средств биоконтроля. Информация о трансформации нитчатых грибов впервые была опубликована в работах N. C. Mishra, E. L. Tatum [47] и M. E. Case et al. [48]. С тех пор молекулярные методы стали более доступными для использования на микромицетах с потенциальной способностью к биоконтролю [49; 50].

Методы получения и слияния грибных протопластов, разработанные в 1970-х гг., в настоящее время относительно просты и детализированы в разных работах [51–53]. Протопласты обычно высвобождаются из зародышевых трубок или гифальных клеток под действием ферментов, разрушающих клеточную стенку в присутствии осмотических веществ. Коммерчески доступный мультиэнзимный препарат Novozym 234 (Novo Labs, Уилтон, Коннектикут) успешно применяется для выделения протопластов у многих грибов [54]. У *Trichoderma* некоторые штаммы требовали обработки растущих гифов аналогом глюкозы, а именно 2-дезоксиглюкозой [55], для адекватного продуцирования протопластов с использованием Novozym 234 [56]. Слияние протопластов легко достигается добавлением полиэтиленгликоля (PEG) в присутствии 10–50 мМ кальция [57; 58]. Фузоген индуцировал образование мелких и крупных агрегатов, содержащих от 2 до 100 протопластов [56]. Как правило, протопласты, выделяющиеся из гифальных клеток, содержат различное количество ядер. Фактическое слияние можно контролировать непосредственно с помощью комплементарного флуоресцентного окрашивания [59].

Классическим примером успешного получения усовершенствованных гибридных штаммов грибов рода *Trichoderma* является протокол, предложенный в работе [60]. Два штамма *T. harzianum* и *T. viride* были предварительно отобраны на селективной среде и характеризовались устойчивостью к фунгицидам. Протопласты были выделены из мицелия этих штаммов с использованием лизирующих ферментов и слиты с использованием полиэтиленгликоля (рис. 4). Слитые протопласты были регенерированы на минимальной среде (protoplast regeneration minimal medium, PRMM), дополненной двумя селективными фунгицидами. Из 40 быстрорастущих гибридов 17 были отобраны на основе их улучшенного роста на селективных средах для дальнейших исследований. Штаммы гибридов росли на 60–70 % быстрее, чем родительские штаммы, вплоть до третьего поколения. Все 17 отобранных гибридов демонстрировали морфологические вариации. Некоторые штаммы гибридов показали трехкратное увеличение активности хитиназы и двукратное увеличение активности β -глюканазы по сравнению с родительскими штаммами. Большинство гибридов проявили сильную антагонистическую активность против патогенов *Macrophomina phaseolina*, *Pythium ultimum* и *Sclerotium rolfii*.

Таким образом, с помощью метода слияния протопластов, подобрав исходные родительские штаммы энтомопатогенных грибов или грибов-антагонистов, могут быть решены такие важные биотехнологические задачи, как расширение спектра действия биопрепаратов, повышение вирулентности исходных штаммов, их устойчивости к абиотическим факторам среды, а также увеличение сроков хранения.

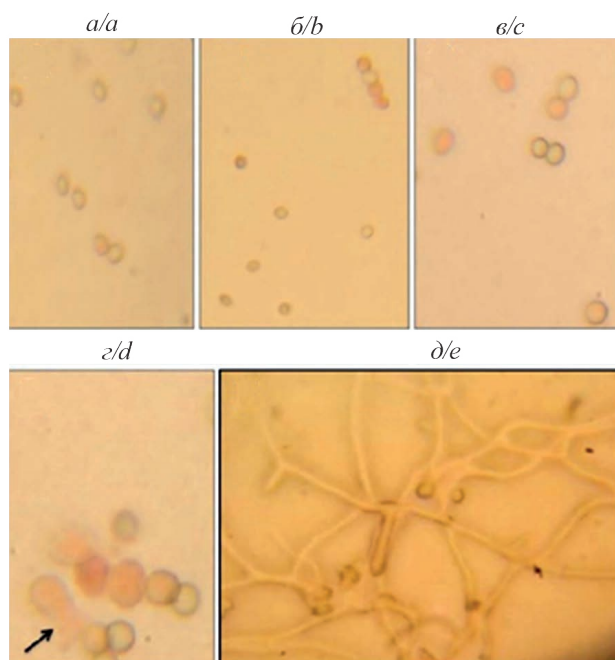


Рис. 4. Стадии слияния протопластов двух штаммов *T. harzianum* и *T. viride* (адаптировано по [60]):
а, б – высвобожденные протопласты из родительских штаммов *T. harzianum* и *T. viride*;
в, г – слияние протопластов родительских штаммов после обработки ПЭГ; д – регенерация слитых протопластов между *T. harzianum* и *T. viride* после инкубации в течение 36 ч на среде PRMM с добавлением фунгицидов

Fig. 4. Stages of fusion of protoplasts of two strains of *T. harzianum* and *T. viride* (adapted from [68]):
(a, b) – released protoplasts from the parent strains of *T. harzianum* and *T. viride*;
(c, d) fusion of protoplasts of the parent strains after PEG treatment; (e) – regeneration fusion of protoplasts between *T. harzianum* and *T. viride* after incubation for 36 hours on PRMM medium with the addition of two fungicides

Заключение

Анализ мировой научной литературы свидетельствует, что эффективное использование генетического разнообразия, присущего сельскохозяйственным растениям и их дикорастущим сородичам, а также формирование устойчивости к болезням с помощью соматической гибридизации и/или молекулярно-биологических методов приводит к получению культур с улучшенными свойствами и вносит значительный вклад в продовольственную и экологическую безопасность. Важным современным направлением является повышение биологического потенциала энтомопатогенных грибов, которые применяются для биологической защиты растений от насекомых-вредителей, а также грибов-антагонистов для защиты растений от фитопатогенов. Для успешного применения соматической гибридизации в селекции растений и грибов необходим анализ селекционного потенциала соматических гибридов, получение потомства путем гибридизации с целевыми, как правило, дикими родственными формами и идентификация молекулярных маркеров, сцепленных с целевыми признаками. Новые инструменты геномики позволяют эффективно осуществлять геномную селекцию и исследовать сложные биологические процессы, обеспечивающие стабильность генома и взаимодействие ядерного и цитоплазматического геномов. В совокупности данные исследования будут способствовать развитию технологии соматической гибридизации и расширению области ее применения.

Библиографические ссылки

1. Спиридович ЕВ. *Ботанические коллекции: документирование и биотехнологические аспекты использования*. Минск: Белорусская наука; 2015. 226 с.
2. Курина АБ, Артемьева АМ. Возможности использования биотехнологических методов в селекции овощных культур в лаборатории селекции и клеточных технологий ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(4):55–64. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-02.
3. Бутенко РГ. *Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе*. Москва: ФБК-ПРЕСС; 1999. 158 с.
4. Verpoorte R, Choi YH, Kim HK. NMR-based metabolomics at work in phytochemistry. *Phytochemistry Reviews*. 2007;6(1):3–14. DOI: 10.1007/s11101-006-9031-3.
5. Пивоваров ВФ, Шмыкова НА, Супрунова ТП. Биотехнологические приемы в селекции овощных культур. *Овощи России*. 2011;3(12):10–17.

6. Moon J, Skibbe D, Timofejeva L, et al. Regulation of cell divisions and differentiation by male sterility 32 is required for anther development in maize. *The Plant Journal*. 2013;76(4):592–602.
7. Carlson PS, Smith HH, Dearing RD. Parasexual interspecific plant hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1972;69(8):2292–2294.
8. Shuro AR. Review Paper on the Role of Somatic Hybridization in Crop Improvement. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences (IJRSAS)*. 2018;4(9):1–8. DOI: 10.20431/2454-6224.0409001.
9. Brown DCW, Thorpe TA. Crop improvement through tissue culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1995;11(4):409–415.
10. Sink KC, Jain RK, Chowdhury JB. Somatic cell hybridization. In: Distant Hybridization of Crop Plants. Berlin: Springer-Verlag; 1992. p. 168–198.
11. Поливанова ОБ, Егорова АС, Сиволапова АБ, и др. Технология протопластов и соматическая гибридизация картофеля – современное состояние и перспективы (обзор). *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2023;24(1):7–19. DOI: 10.30766/2072-9081.2023.24.1.7-19.
12. Begna T. Review on Somatic Hybridization and Its Role in Crop Improvement. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 2020;10(11):29–40.
13. Melchers G, Sacristán MD, Holder AA. Somatic hybrid plants of potato and tomato regenerated from fused protoplasts. *Carlsberg Research Communications*. 1978;43(4):203–218.
14. Bruznican S, Eeckhaut T, Van Huylenbroeck J, et al. An asymmetric protoplast fusion and screening method for generating cereals cybrids. *Scientific Reports*. 2021;11(1):4553. DOI: 10.1038/s41598-021-83970-y.
15. Reski R, Faust M, Wang XH, et al. Genome analysis of the moss *Physcomitrella patens* (Hedw.) B. S. G. *Molecular and General Genetics*. 1994;244(4):352–359.
16. Muralidhar RV, Panda T. Monoclonal antibodies specific against tumors and viral infections. *Bioprocess Engineering*. 2000;22(5):421–427.
17. Гавриленко ТА, Ермишин АП. Межвидовая гибридизация картофеля: теоретические и прикладные аспекты. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017;21(1):16–29. DOI: 10.18699/VJ17.220.
18. Austin S, Lojkowska E, Ehlenfeldt MK, et al. Fertile interspecific somatic hybrids of *Solanum*: a novel source of resistance to *Erwinia* soft rot. *Phytopathology*. 1988;78(9):1216–1220.
19. Kim SR, Ahn YK, Kim TG, et al. Breeding of a new cultivar «Jeseo» with resistant to common scab. *Korean Journal of Breeding Science*. 2013;45(4):468–473.
20. Тарануха ГИ. Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур: учебное пособие для агрономических специальностей сельскохозяйственных высших учебных заведений. Минск: Ураджай; 2001. 314 с.
21. Helgeson JP, Hunt GJ, Haberlandt GT, et al. Somatic hybrids between *Solanum brevidens* and *Solanum tuberosum*: Expression of a late blight resistance gene and potato leaf roll resistance. *Plant Cell Reports*. 1986;5(3):212–214.
22. Rokka VM, Xu YS, Kankila J, et al. Identification of somatic hybrids of dihaploid *Solanum tuberosum* lines and *S. brevidens* by species specific RAPD patterns and assessment of disease resistance of the hybrids. *Euphytica*. 1994;80:207–217. DOI: 10.1007/BF00039652.
23. Waara S, Glimelius K. The potential of somatic hybridization in crop breeding. *Euphytica*. 1995;85:217–233. DOI: 10.1007/BF00023951.
24. Rokka VM, Tauriainen A, Pietilä L, et al. Interspecific somatic hybrids between wild potato *Solanum acaule* Bitt. and anther-derived dihaploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Reports*. 1998;18:82–88. DOI: 10.1007/s002990050536.
25. Tiwari JK, Devi S, Ali N, et al. Progress in somatic hybridization research in potato during the past 40 years. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2018;132:225–238. DOI: 10.1007/s11240-017-1327-z.
26. Orczyk W, Przetakiewicz J, Nadolska-Orczyk A. Somatic hybrids of *Solanum tuberosum* – application to genetics and breeding. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003;74:1–13. DOI: 10.1023/A:1023396405655.
27. Tiwari JK, Poonam, Sarkar D, et al. Molecular and morphological characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. etuberosum* Lindl. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2010;103:175–187. DOI: 10.1007/s11240-010-9765-x.
28. Sarkar D, Tiwari JK, Sharma SH, et al. Production and characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. pinnatisectum* Dun. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2011;107:427–440. DOI: 10.1007/s11240-011-9993-8.
29. Яковлева ГА. Соматическая гибридизация и клеточная селекция картофеля (*Solanum tuberosum* L.). В: *Генетические основы селекции растений*. Минск: Белорусская наука; 2012. Том 3. с. 217–250.
30. Yan CQ, Quian KX, Yan QS, et al. Use of asymmetric somatic hybridization for transfer of the bacterial blight resistance trait from *Oryza meyeriana* L. to *O. sativa* L. ssp. *japonica*. *Plant Cell Reports*. 2004;22:569–575.
31. Sedláček P, Sedláčková V, Vašek J, et al. Phenotypic, molecular and biochemical evaluation of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. bulbocastanum*. *Scientific Reports*. 2022;12(1):4484. DOI: 10.1038/s41598-022-08424-5.
32. Fossi M, Amundson KR, Kuppu S, et al. Regeneration of *Solanum tuberosum* plants from protoplasts induces widespread genome instability. *Plant Physiology*. 2019;180(1):78–86. DOI: 10.1104/pp.18.00906.
33. Jiang M, Wu X, Song Y, et al. Effects of OsMSH6 mutations on microsatellite ability and homeologous recombination in rice. *Frontiers in Plant Science*. 2020;1:220. DOI: 10.3389/fpls.2020.00220.
34. Stasz TE. Genetic improvement of fungi by protoplast fusion for biological control of plant pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1990;12:322–327.
35. Siegwart M, Graillot B, Blachere Lopez C, et al. Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review. *Frontiers in Plant Science*. 2015;6:381. DOI: 10.3389/fpls.2015.00381.
36. Лухменёв ВП. Фитопатология: учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности «Агрономия». Оренбург: ОГАУ; 2012. 299 с.
37. Севницкая НЛ. Горизонтальная передача энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* среди жуков короеда типографа. В: *Современное состояние и перспективы охраны и защиты лесов в системе устойчивого развития. Материалы Международной научно-практической конференции. Гомель, 9–11 октября 2013 г.* Гомель: Институт леса НАН Беларуси; 2013. с. 118–121.
38. Хижняк ПА, Бегляров ГА, Стативкин ВГ, и др. *Химическая и биологическая защита растений: учебное пособие*. Москва: Колос; 1971. 215 с.

39. Ikkei S. Efficacy of a Fungal Biopesticide for Bed Bug Management Is Influenced by the Toxicity and Associated Behavioral Avoidance of Harborage on Insecticide-Impregnated Box Spring Covers. *Journal of Economic Entomology*. 2020;113(6):2850–2857. DOI: 10.1093/jee/toaa227
40. Tangthirasun N, Poeaim S, Soyong K, et al. Variation in morphology and ribosomal DNA among isolates of *Metarhizium anisopliae* from Thailand. *International Journal of Agricultural Technology*. 2010;6(2):317–329.
41. Meyling NV, Eilenberg J. Ecology of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Temperate Agroecosystems: Potential for Conservation Biological Control. *Biological Control*. 2007;43(2):145–155. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.07.007
42. Lovett B, St Leger RJ. Genetically engineering better fungal biopesticides. *Pest Management Science*. 2018;74(4):781–789. DOI: 10.1002/ps.4734
43. Anam S, Batool F, Zafar N. Biotechnological Interventions for Fungal Strain Improvement. In: *Phytopathology and Molecular Biology of Plant Pathogen Interactions*. Boca Raton: CRC Press; 2022. p. 125–138.
44. Cook JR, Baker KF. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. St. Paul: American Phytopathological Society; 1983. 539 p.
45. Ahmad JS, Baker R. Rhizosphere competence in *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*. 1987;77(2):182–189.
46. Rowlands RT. Industrial fungal genetics and strain selection. In: *The Filamentous Fungi*. Fungal Technology. Glasgow: Edward Arnold; 1983. p. 346–372.
47. Mishra NC, Tatum EL. Non-Mendelian inheritance of DNA-induced inositol independence in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1973;70(12):3875–3879.
48. Case ME, Schweizer M, Kushmer SR, et al. Efficient transformation of *Neurospora crassa* by utilizing hybrid plasmid DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1979;76(10):5259–5263.
49. Fincham JRS. Transformation in fungi. *Microbiological Reviews*. 1989;53(1):148–170.
50. Timberlake WE, Marshall MA. Genetic engineering of filamentous fungi. *Science*. 1989;244(4910):1313–1317.
51. Ferenczy L. Fungal protoplast fusion: basic and applied aspects. In: *Cell Fusion: Gene Transfer and Transformation*. New York: Raven Press; 1984. p. 145–169.
52. Ferenczy L, Farkas GL. *Advances in Protoplast Research*. Oxford: Pergamon Press Ltd.; 1979. 511 p.
53. Peberdy JF, Ferenczy L. Fungal Protoplasts. Application in Biochemistry and Genetics. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1985. 354 p.
54. Hamlyn PF, Bradshaw RE, Mellon FM, et al. Efficient protoplast isolation from fungi using commercial enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*. 1981;3:321–325.
55. Zonneveld BJM. Inhibiting effect of 2-deoxyglucose on cell wall alpha 1,3-glucan synthesis and cleistothecium development in *Aspergillus nidulans*. *Developmental Biology*. 1973;34(1):1–8.
56. Stasz TE, Harman GE, Gullino ML. Limited vegetative compatibility following intra- and interspecific protoplast fusion in *Trichoderma*. *Experimental Mycology*. 1989;13(4):364–371.
57. Anne J, Peberdy JF. Conditions for induced fusion of fungal protoplasts in polyethylene glycol solution. *Archives of Microbiology*. 1975;105(3):201–205.
58. Anne J, Peberdy JF. Induced fusion of fungal protoplasts following treatment with polyethylene glycol. *Journal of General Microbiology*. 1976;92(2):413–417.
59. Harman GE, Stasz TE. Fluorescent vital stains for complementary labelling of protoplasts from *Trichoderma* spp. *Stain Technology*. 1988;63(4):241–247.
60. Hassan MM. Influence of protoplast fusion between two *Trichoderma* spp. on extracellular enzymes production and antagonistic activity. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014;28(6):1014–1023. DOI: 10.1080/13102818.2014.978206.

References

1. Spiridovich EV. *Botanicheskie kollektsii: dokumentirovanie i biotekhnologicheskie aspekti ispolzovaniya* [Botanical collections. Documentation and biotechnological aspects of use]. Minsk: Belorusskaya nauka; 2015. 226 p. Russian.
2. Kurina AB, Artemeva AM. *Vozmozhnosti ispolzovaniya biotekhnologicheskikh metodov v seleksii ovoshchnikh kultur v laboratorii seleksii i kletochnikh tekhnologii VIR* [Possibilities of biotechnological methods in breeding of vegetable crops at the VIR Laboratory of Breeding and Cell Technologies]. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(4):55–64. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-4-o2. Russian.
3. Butenko RG. *Biologiya kletok visshikh rastenii in vitro i biotekhnologii na ikh osnove* [Biology of higher plant cells in vitro and biotechnology based on them]. Moscow: FBK-PRESS; 1999. 158 p. Russian.
4. Verpoorte R, Choi YH, Kim HK. NMR-based metabolomics at work in phytochemistry. *Phytochemistry Reviews*. 2007;6(1):3–14. DOI: 10.1007/s11101-006-9031-3.
5. Pivovarov VF, Shmikhova NA, Suprunova TP. *Biotekhnologicheskie priemi v seleksii ovoshchnikh kultur* [Biotechnological methods in vegetable crop breeding]. *Vegetable crops of Russia*. 2011;3(12):10–17. Russian.
6. Moon J, Skibbe D, Timofejeva L, et al. Regulation of cell divisions and differentiation by male sterility 32 is required for anther development in maize. *The Plant Journal*. 2013; 76(4):592–602.
7. Carlson PS, Smith HH, Dearing RD. Parasexual interspecific plant hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1972;69(8):2292–2294.
8. Shuro AR. Review Paper on the Role of Somatic Hybridization in Crop Improvement. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences (IJRSAS)*. 2018;4(9):1–8. DOI: 10.20431/2454-6224.0409001.
9. Brown DCW, Thorpe TA. Crop improvement through tissue culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1995;11(4):409–415.
10. Sink KC, Jain RK, Chowdhury JB. Somatic cell hybridization. In: *Distant Hybridization of Crop Plants*. Berlin: Springer-Verlag; 1992. p. 168–198.
11. Polivanova OB, Yegorova AS, Sivolapova AB, et al. *Tekhnologiya protoplastov i somaticheskaya gibridizatsiya kartofelya – sovremennoe sostoyanie i perspektivi (obzor)* [Current state and prospects of protoplast technology and potato somatic hybridization (review)]. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2023;24(1):7–19. DOI: 10.30766/2072-9081.2023.24.1.7-19. Russian.

12. Begna T. Review on Somatic Hybridization and Its Role in Crop Improvement. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 2020;10(11):29–40.
13. Melchers G, Sacristán MD, Holder AA. Somatic hybrid plants of potato and tomato regenerated from fused protoplasts. *Carlsberg Research Communications*. 1978;43(4):203–218.
14. Bruznican S, Eeckhaut T, Van Huylenbroeck J, et al. An asymmetric protoplast fusion and screening method for generating celeriac cybrids. *Scientific Reports*. 2021;11(1):4553. DOI: 10.1038/s41598-021-83970-y.
15. Reski R, Faust M, Wang XH, et al. Genome analysis of the moss *Physcomitrella patens* (Hedw.) B. S. G. *Molecular and General Genetics*. 1994;244(4):352–359.
16. Muralidhar RV, Panda T. Monoclonal antibodies specific against tumors and viral infections. *Bioprocess Engineering*. 2000;22(5):421–427.
17. Gavrilenko TA, Yermishin AP. *Mezhvidovaya gibrizatsiya kartofelya: teoreticheskie i prikladnye aspekty* [Interspecific hybridization of potato: theoretical and applied aspects]. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017;21(1):16–29. DOI: 10.18699/VJ17.220. Russian.
18. Austin S, Lojkowska E, Ehlenfeldt MK, et al. Fertile interspecific somatic hybrids of *Solanum*: a novel source of resistance to *Erwinia* soft rot. *Phytopathology*. 1988;78(9):1216–1220.
19. Kim SR, Ahn YK, Kim TG, et al. Breeding of a new cultivar «Jeseo» with resistant to common scab. *Korean Journal of Breeding Science*. 2013;45(4):468–473.
20. Taranukho GI. *Seleksiya i semenovodstvo sel'skokhozyaistvennykh kultur: uchebnoe posobie dlya agronomicheskikh spetsialnostei sel'skokhozyaistvennykh vishikh uchebnykh zavedenii* [Selection and seed production of agricultural crops: a textbook for agronomic specialties in agricultural higher education institutions.]. Minsk: Uradzhai; 2001. 314 p. Russian.
21. Helgeson JP, Hunt GJ, Haberlandt GT, et al. Somatic hybrids between *Solanum brevidens* and *Solanum tuberosum*: Expression of a late blight resistance gene and potato leaf roll resistance. *Plant Cell Reports*. 1986;5(3):212–214.
22. Rokka VM, Xu YS, Kankila J, et al. Identification of somatic hybrids of dihaploid *Solanum tuberosum* lines and *S. brevidens* by species specific RAPD patterns and assessment of disease resistance of the hybrids. *Euphytica*. 1994;80:207–217. DOI: 10.1007/BF00039652.
23. Waara S, Glimelius K. The potential of somatic hybridization in crop breeding. *Euphytica*. 1995;85:217–233. DOI: 10.1007/BF00023951.
24. Rokka VM, Tauriainen A, Pietilä L, et al. Interspecific somatic hybrids between wild potato *Solanum acaule* Bitt. and anther-derived dihaploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Reports*. 1998;18:82–88. DOI: 10.1007/s002990050536.
25. Tiwari JK, Devi S, Ali N, et al. Progress in somatic hybridization research in potato during the past 40 years. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2018;132:225–238. DOI: 10.1007/s11240-017-1327-z.
26. Orczyk W, Przetakiewicz J, Nadolska-Orczyk A. Somatic hybrids of *Solanum tuberosum* – application to genetics and breeding. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003;74:1–13. DOI: 10.1023/A:1023396405655.
27. Tiwari JK, Poonam, Sarkar D, et al. Molecular and morphological characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. etuberosum* Lindl. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2010;103:175–187. DOI: 10.1007/s11240-010-9765-x.
28. Sarkar D, Tiwari JK, Sharma SH, et al. Production and characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. pinnatisectum* Dun. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2011;107:427–440. DOI: 10.1007/s11240-011-9993-8.
29. Yakovleva GA. *Somaticheskaya gibrizatsiya i kletchnaya seleksiya kartofelya (Solanum tuberosum L.)* [Somatic hybridization and cell selection of potatoes (*Solanum tuberosum* L.)]. In: *Geneticheskie osnovy selektsii rastenii = The genetic basis of plant breeding*. Minsk: Belorusskaya nauka; 2012. Volume 3. p. 217–250. Russian.
30. Yan CQ, Quian KX, Yan QS, et al. Use of asymmetric somatic hybridization for transfer of the bacterial blight resistance trait from *Oryza meyeriana* L. to *O. sativa* L. ssp. *japonica*. *Plant Cell Reports*. 2004;22:569–575.
31. Sedlák P, Sedláková V, Vašek J, et al. Phenotypic, molecular and biochemical evaluation of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. bulbocastanum*. *Scientific Reports*. 2022;12(1):4484. DOI: 10.1038/s41598-022-08424-5.
32. Fossi M, Amundson KR, Kuppu S, et al. Regeneration of *Solanum tuberosum* plants from protoplasts induces widespread genome instability. *Plant Physiology*. 2019;180(1):78–86. DOI: 10.1104/pp.18.00906.
33. Jiang M, Wu X, Song Y, et al. Effects of OsMSH6 mutations on microsatellite stability and homeologous recombination in rice. *Frontiers in Plant Science*. 2020;11:220. DOI: 10.3389/fpls.2020.00220.
34. Stasz TE. Genetic improvement of fungi by protoplast fusion for biological control of plant pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 1990;12:322–327.
35. Siegwart M, Graillat B, Blachere Lopez C, et al. Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review. *Frontiers in Plant Science*. 2015;6:381. DOI: 10.3389/fpls.2015.00381.
36. Lukhmenyov VP. *Fitopatologiya: uchebnoe posobie dlya studentov vuzov, obuchayushchikhsya po spetsialnosti «Agronomiya»* [Phytopathology: textbook for university students studying «Agronomy»]. Orenburg: OSAU; 2012. 299 p. Russian.
37. Sevnitskaya NL. *Gorizontalnaya peredacha entomopatogenogo griba Beauveria bassiana sredi zhukov koroeda tipografa* [Horizontal transmission of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* among the bark beetles]. In: *Sovremennoe sostoyanie i perspektivi okhrani i zashchiti lesov v sisteme ustoichivogo razvitiya* [Current state and prospects of forest conservation and protection in the system of sustainable development]. Gomel: Forestry Institute of the National Academy of Sciences of Belarus; 2013. p. 118–121. Russian.
38. Khizhnyak PA, Beglyarov GA, Stativkin VG, et al. *Khimicheskaya i biologicheskaya zashchita rastenii* [Chemical and biological plant protection]. Moscow: Kolos; 1971. 215 p. Russian.
39. Ikkei S. Efficacy of a Fungal Biopesticide for Bed Bug Management Is Influenced by the Toxicity and Associated Behavioral Avoidance of Harborage in Insecticide-Impregnated Box Spring Covers. *Journal of Economic Entomology*. 2020;113(6):2850–2857. DOI: 10.1093/jee/toaa227.
40. Tangthirasun N, Poearm S, Soyong K, et al. Variation in morphology and ribosomal DNA among isolates of *Metarhizium anisopliae* from Thailand. *International Journal of Agricultural Technology*. 2010;6(2):317–329.
41. Meyling NV, Eilenberg J. Ecology of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Temperate Agroecosystems: Potential for Conservation Biological Control. *Biological Control*. 2007;43(2):145–155. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.07.007.

42. Lovett B, St Leger RJ. Genetically engineering better fungal biopesticides. *Pest Management Science*. 2018;74(4):781–789. DOI: 10.1002/ps.4734
43. Anam S, Batool F, Zafar N. Biotechnological Interventions for Fungal Strain Improvement. In: *Phytopathology and Molecular Biology of Plant Pathogen Interactions*. Boca Raton: CRC Press; 2022. p. 125–138.
44. Cook JR, Baker KF. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. St. Paul: American Phytopathological Society; 1983. 539 p.
45. Ahmad JS, Baker R. Rhizosphere competence in *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*. 1987;77(2):182–189.
46. Rowlands RT. Industrial fungal genetics and strain selection. In: *The Filamentous Fungi*. Fungal Technology. Glasgow: Edward Arnold; 1983. p. 346–372.
47. Mishra NC, Tatum EL. Non-Mendelian inheritance of DNA-induced inositol independence in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1973;70(12):3875–3879.
48. Case ME, Schweizer M, Kushmer SR, et al. Efficient transformation of *Neurospora crassa* by utilizing hybrid plasmid DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1979;76(10):5259–5263.
49. Fincham JRS. Transformation in fungi. *Microbiological Reviews*. 1989;53(1):148–170.
50. Timberlake WE, Marshall MA. Genetic engineering of filamentous fungi. *Science*. 1989;244(4910):1313–1317.
51. Ferenczy L. Fungal protoplast fusion: basic and applied aspects. In: *Cell Fusion: Gene Transfer and Transformation*. New York: Raven Press; 1984. p. 145–169.
52. Ferenczy L, Farkas GL. *Advances in Protoplast Research*. Oxford: Pergamon Press Ltd.; 1979. 511 p.
53. Peberdy JF, Ferenczy L. Fungal Protoplasts. Application in Biochemistry and Genetics. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1985. 354 p.
54. Hamlyn PF, Bradshaw RE, Mellon FM, et al. Efficient protoplast isolation from fungi using commercial enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*. 1981;3:321–325.
55. Zonneveld BJM. Inhibiting effect of 2-deoxyglucose on cell wall alpha 1,3-glucan synthesis and cleistothecium development in *Aspergillus nidulans*. *Developmental Biology*. 1973;34(1):1–8.
56. Stasz TE, Harman GE, Gullino ML. Limited vegetative compatibility following intra- and interspecific protoplast fusion in *Trichoderma*. *Experimental Mycology*. 1989;13(4):364–371.
57. Anne J, Peberdy JF. Conditions for induced fusion of fungal protoplasts in polyethylene glycol solution. *Archives of Microbiology*. 1975;105(3):201–205.
58. Anne J, Peberdy JF. Induced fusion of fungal protoplasts following treatment with polyethylene glycol. *Journal of General Microbiology*. 1976;92(2):413–417.
59. Harman GE, Stasz TE. Fluorescent vital stains for complementary labelling of protoplasts from *Trichoderma* spp. *Stain Technology*. 1988;63(4):241–247.
60. Hassan MM. Influence of protoplast fusion between two *Trichoderma* spp. on extracellular enzymes production and antagonistic activity. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014;28(6):1014–1023. DOI: 10.1080/13102818.2014.978206.

Статья поступила в редколлегию 30.03.2026.
Received by editorial board 30.03.2026.