

DOI 10.33952/2542-0720-2021-1-25-124-139

УДК 581:3: 576.3:576.535:577.175.152

Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зинатуллина А. Е.

КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКЕ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ (ОБЗОР)

Уфимский институт биологии – обособленное структурное подразделение ФГБНУ
«Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»

Реферат. Одним из направлений биотехнологических исследований растений является использование каллусных культур *in vitro*. Каллус – интегрированная система, образующаяся как экзогенно (в результате пролиферации поверхностных клеток различных тканей растительного организма), так и эндогенно (в глубине этих тканей). Изначально каллус состоит из однородных клеток, которые постепенно преобразуются в систему групп гетерогенных клеток со специфическими морфогенетическими потенциями. Эти потенции реализуются различными путями морфогенеза *in vitro*, в том числе приводящими к формированию полноценных растений-регенерантов. В обзорной статье на примере хлебных злаков проанализированы литературные и собственные данные по использованию каллусов *in vitro* в качестве экспериментальных систем при изучении стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам и особенно фактору засухи. Рассмотрены преимущества и ограничения использования каллусных культур *in vitro*. Показана перспективность исследования механизмов действия абиотических стрессоров и сопротивляемости им на клеточном и тканевом уровнях в модельных условиях каллусной культуры *in vitro*. Уделено внимание оценке засухоустойчивости злаков в имитирующих засуху селективных условиях *in vitro* по такому параметру, как ростовая активность каллусов. На примере брассиностероидов проанализирован вопрос изучения антистрессовых воздействий в каллусных культурах *in vitro*. Рассматривается перспективность использования модельной системы «незрелый зародыш *in vivo* – зародышевый морфогенный каллус *in vitro*» для экспресс-оценки действия антистрессовых регуляторов роста растений. Подчеркивается, что основанием для использования каллусов как модельных систем является как важная роль клетки во всех морфогенетических событиях растительного организма *in vivo* и *in vitro*, так и основанное на универсальности путей морфогенеза растений, сходство ответных реакций растений *in vivo*, каллусов *in vitro*, регенерантов каллусного происхождения *in vitro* и *ex vitro*.

Ключевые слова: каллус *in vitro*, модельные системы, засуха, стресс-устойчивость, хлебные злаки.

Для цитирования: Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зинатуллина А. Е. Каллусные культуры *in vitro* в экспериментальной оценке засухоустойчивости хлебных злаков (обзор) // Таврический вестник аграрной науки. 2021. № 1(25). С. 124–139. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-1-25-124-139.

For citation: Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E. Callus culture *in vitro* in the experimental evaluation of drought resistance in cereals (review) // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2021. No. 1 (25). P. 124–139. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-1-25-124-139.

Введение

Каллус – интегрированная система, образующаяся как экзогенно (в результате пролиферации поверхностных клеток различных тканей растительного организма), так и эндогенно (в глубине этих тканей); изначально состоит из однородных клеток, постепенно преобразующихся в систему групп гетерогенных

клеток, имеющих морфогенетические потенции, которые далее реализуются различными путями морфогенеза *in vitro*, включая регенерацию полноценных фертильных растений [1–3].

Способность к образованию каллусов *in vitro* отмечена у представителей многих семейств растений [2–4]. Особый интерес в этом отношении вызывают каллусные культуры *in vitro*, полученные из различных эксплантов хлебных злаков, имеющих высокую хозяйственную значимость и несомненную коммерческую ценность [3].

Изучение различных вопросов формирования каллусов хлебных злаков и их развития в культуре *in vitro* – предмет научных интересов авторов данной обзорной работы начиная с 90-х гг. прошлого века [5]. Анализ результатов многолетних экспериментальных исследований [6–11] позволил авторам сделать ряд теоретических обобщений [2, 12] и предложить оценивать каллус *in vitro* как модельную систему для изучения сложнейшей проблемы морфогенеза растений [13, 14].

Отдельное направление многолетних экспериментальных исследований авторов – использование каллусных культур злаков *in vitro* как модельных систем при биотехнологических исследованиях устойчивости растений к абиотическим стресс-факторам и действия обработок антистрессовыми препаратами [3, 15].

В целом направление получения регенерантов злаков каллусного происхождения, толерантных к различным экологически неблагоприятным абиотическим факторам, достаточно актуально в мировой биотехнологической практике. Так, исследователи активно разрабатывают способы получения каллусов *in vitro* и каллусных регенерантов *ex vitro*, устойчивых к воздействию солей, в том числе солей тяжелых металлов, низкой температуры, гипоксии/аноксии и других стресс-факторов [16–24].

В последние годы отмечен стремительный рост отечественных и зарубежных публикаций в области применения каллусных культур *in vitro* при решении проблемы устойчивости растений к засухе. Действительно, физиологическая засуха как неблагоприятное сочетание метеорологических условий, при которых растения испытывают длительный водный дефицит как в воздухе, так и в почве [25], – один из наиболее распространенных абиотических стресс-факторов не только в засушливых, но и в полузасушливых регионах [26], приобретающий особую значимость в связи с угрозой глобального потепления.

Важнейшее направление исследований в области адаптивной селекции хлебных злаков – создание засухоустойчивых сортов, способных сохранять относительно высокий уровень урожайности в условиях дефицита воды [27–31]. Важность решения этой проблемы подтверждается активными биотехнологическими разработками получения засухоустойчивых форм злаков на основе использования не только каллусов, но и других культивируемых *in vitro* объектов в селективных условиях, имитирующих засуху [31–33]. Большое значение в настоящее время придается и оценке действия антистрессовых регуляторов роста и развития растений в каллусных культурах *in vitro* [3].

Цель данного обзора – провести критический анализ собственных и литературных публикаций последних лет, посвященных изучению каллусных культур *in vitro* хлебных злаков в экспериментальных условиях, как имитации физиологической засухи, так и воздействия антистрессовых препаратов.

Преимущества и ограничения использования каллусов как экспериментальных систем *in vitro*.

Многочисленные исследования различных видов растений показывают, что успех в формировании каллусов *in vitro* определяется комплексом взаимосвязанных

эндогенных (генотип донорного растения, эпигенетические свойства экспланта, тип и возраст экспланта/донорного растения, свойства клеток эксплантов и др.) и экзогенных (условия выращивания донорных растений, предварительное стрессовое воздействие на эксплант/донорное растение, состав индукционной среды, физические условия культивирования *in vitro* и др.) факторов [3, 15, 33–37].

Разнообразие каллусов, полученных на индукционных средах *in vitro*, можно свести к двум контрастным группам: способные и не способные к морфогенезу по различным путям на регенерационных средах *in vitro*, иначе говоря – морфогенные и неморфогенные [3, 38]. В данном обзоре речь пойдет о морфогенных каллусах.

Использование каллусов *in vitro* при проведении различных экспериментальных направлений в биотехнологии и селекции растений имеет свои преимущества. Это возможность проводить исследования практически круглый год в одних и тех же лабораторных условиях и на относительно небольшой площади, получать большое количество каллусов и регенерантов к заданному сроку, контролировать все стадии формирования каллусов и их развития на индукционной и регенерационной средах *in vitro* вплоть до формирования регенерантов [3, 15, 33]. Весь процесс достаточно трудоемкий, его часто невозможно регулировать при использовании традиционной экспериментальной (тепличной или полевой) системы экспериментов.

Лабораторные условия дают возможность детально анализировать реакции каллусов на действие конкретных (в том числе стрессовых) факторов питательной среды *in vitro*, поскольку при добавлении в культуральную среду определенных веществ происходит их непосредственное взаимодействие с большинством клеток каллусов. Поэтому к преимуществам использования каллусов *in vitro* следует отнести и возможность исследования механизмов морфогенеза на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях [2–4, 39, 40].

Показано также, что каллусная система *in vitro* с успехом может быть использована как дополнение, а в ряде случаев – как альтернатива изучению воздействия стресса на рост и развитие растений и в природных условиях *in vivo* [3, 15]. Преимущества использования каллусных культур показаны и в работах по разработке способов повышения адаптации каллусов к стресс-факторам. Так, на примере риса выявлено, что в условиях солевого стресса экзогенное добавление в индукционную среду антиоксиданта – аскорбиновой кислоты – приводит к повышению устойчивости каллусов к действию солей за счет активизации действия ряда ферментов [41].

Основное же преимущество использования каллусов, на наш взгляд, состоит в сходстве морфогенетических процессов в растениях в естественных условиях *in vivo* и в культивируемых каллусах/регенерантах *in vitro* [2, 3]. Например, эксперименты, проведенные на пшенице и ячмене, показали общность клеточных механизмов изменения растений *in vivo* и каллусов *in vitro* в ответ на действие высоких значений ряда абиотических факторов [42]. Выявлено значительное сходство морфологических, фенологических и эмбриологических показателей донорных растений и каллусных регенерантов пшеницы [43, 44]. В таком сходстве реакций растений *in vivo* и каллусов/регенерантов *in vitro* можно видеть действие принципа универсальности путей морфогенеза растений в естественных и экспериментальных условиях, выдвинутого Т. Б. Батыгиной [1].

В то же время в применении каллусных культур есть и определенные ограничения. Это обусловлено тем, что формирование каллусов – сам по себе стрессовый фактор, связанный с необходимостью адаптации клеток к нестандартным условиям *in vitro*. К тому же клеточная селекция протекает

достаточно продолжительное время, а это может привести если не к снижению, то к потере клетками своего морфогенетического потенциала. В результате на культивируемые каллусы накладывается сразу несколько стрессовых факторов [3, 15]. Кроме того, культивирование каллусов *in vitro* приводит к изменениям ряда морфологических, биохимических, физиологических показателей каллусных регенерантов в силу действия фактора соматоклональной изменчивости [42, 45]. Большую роль играет и изменчивость генома в процессе культивирования *in vitro* [46, 47], и гетерогенность культивируемых клеток, обусловленная главным образом эпигенетическими особенностями экспланта [3, 4, 15, 17]. Всё это свидетельствует о важности тщательного изучения полученных из каллусов регенерантов, обязательного проведения полевых испытаний для подтверждения их генетической стабильности [3, 15].

Зародышевые каллусы *in vitro* в экспериментальных исследованиях злаков по оценке действия стресс-фактора засухи.

В качестве эксплантов для получения каллусов используют различные части донорных растений, как вегетативные, так и генеративные, и эмбриональные, характеризующиеся наличием способных к каллусогенезу тотипотентных меристематических клеток [3].

Особый интерес вызывают каллусы, полученные из зародышей. Этот интерес во многом обусловлен тем, что использование зародышевых каллусов при различных биотехнологических и селекционных исследованиях дает существенный выигрыш во времени в сравнении с использованием зрелых семян и тем более растений на разных стадиях онтогенеза [3, 48].

В биотехнологических исследованиях различных растений для получения устойчивых к стрессам регенерантов зародыши используются не только для получения каллусов, но для эмбриокультуры *in vitro*, когда регенеранты получают по схеме «один зародыш – один регенерант» [49–54]. Однако именно использование каллусов зародышевого происхождения позволяет сделать биотехнологические исследования более массовыми, поскольку из одного каллуса можно тиражировать несколько регенерантов [3, 55].

Для получения каллусов можно использовать зрелые зародыши злаков [3, 55]. Однако особенно перспективными оказались именно незрелые зародыши различных видов этого семейства [55–61]. Это подтверждено результатами исследований, специально посвященных сравнительной оценке в индукции каллусообразования *in vitro* зрелых и незрелых зародышей пшеницы [62] и кукурузы [63]. Известно, что индукция каллусообразования предполагает репрограммирование морфогенетически компетентных инициальных клеток эксплантов [39, 40, 47], к чему более предрасположены клетки онтогенетически молодых органов [2, 3]. Такие клетки способны к более легкому стимулированию дедифференциации в плюрипотентное состояние путем эпигенетической модификации ДНК и специфических факторов транскрипции [64].

В литературе приводятся единичные данные о структуре незрелых зародышей злаков, формирующих каллусы *in vitro*. Так, в результате гистологических исследований незрелых зародышей пшеницы, инокулированных *in vitro* в различные сроки после искусственного опыления, выявлено, что начало каллусам давали зародыши, находившиеся на стадии формирования органов [65]. В таких зародышах выявляются примордии органов, клетки которых еще не покрыты плотной оболочкой. Это особенно важно для клеток щитка – органа, дающего начало каллусу, например, пшеницы [57, 62, 65] и кукурузы [66]. Граничное положение клеток щитка и отсутствие у них плотной оболочки

способствуют образованию каллуса [3]. Электронномикроскопическим изучением клеток незрелых зародышей пшеницы в стадии формирования органов в них выявлены хорошо развитые органоиды и липидные капли, наличие которых свидетельствует о высокой метаболической активности клеток, а значит, и активном морфогенезе таких зародышей [67]. Активными морфогенетическими процессами можно объяснить и увеличение содержания в таких зародышах ключевых гормонов морфогенеза – ИУК и цитокининов [68].

Использование незрелых зародышей злаков имеет сезонное ограничение. Однако преимущества в получении каллусов позволили рекомендовать именно незрелые зародыши, как основной эксплант при различных биотехнологических исследованиях злаков [3].

Перспективное направление биотехнологических исследований злаков с применением зародышевых каллусов как экспериментальных систем *in vitro* состоит в изучении воздействия на каллусы абиотического стресс-фактора засухи и исследовании ответной реакции каллусных клеток и тканей [3, 15]. Отбор в каллусных культурах *in vitro* устойчивых к водному дефициту форм проводят по показателю роста каллусов, отражающегося в увеличении их размеров и сырой/сухой массы, а также активности митозов в клетках [69–71]. В качестве осмотического агента-имитатора засухи, используют сахарозу, хлорид натрия, манит, сорбит, ПЭГ 6000.

Особенно распространено использование ПЭГ 6000 [45, 72], который за счет высокой молекулярной массы не проникает в клетки, но вызывает коллапс клеточных стенок и сжатие протопласта, т.е. удачно имитирует состояние клеток в условиях осмотического стресса. Важно и то, что механизм действия ПЭГ как имитатора условий дефицита влаги в культивируемых клетках подобен тому, какой наблюдается в клетках интактных растений в условиях засухи [33].

В то же время следует отметить, что повышение концентрации ПЭГ в культуральной среде до 25 %, как правило, приводит к отмиранию каллусов, хотя у пшеницы выявлены немногочисленные каллусы, приспособившиеся даже к таким жестким условиям [72].

В ходе исследований установлены сорта и линии злаков, каллусы которых оценены как толерантные к водному дефициту в селективных условиях *in vitro* (сводка [73]). Чрезвычайно важно, по нашему мнению, что повышенная засухоустойчивость линий кукурузы [45], пшеницы [74, 75] и ячменя [23], выделенных с помощью засухоустойчивых каллусных культур *in vitro*, подтверждена и в полевых условиях.

Ещё одно перспективное направление экспериментальных исследований с применением зародышевых каллусов – выявление засухоустойчивого действия биологически активных веществ, которые даже в низких концентрациях способствуют появлению у растений устойчивости к различным стресс-факторам. В этом отношении привлекает внимание 24-эпибрассинолид – фитогормон из класса brassinosteroidов, проявляющий не только рост-стимулирующий, но и протекторный эффект против засухи [76]. В цикле работ [77–79] приводятся сведения о влиянии внесения 24-эпибрассинолида в индукционную среду *in vitro* на формирование у незасухоустойчивого сорта пшеницы зародышевых каллусов, их ростовые показатели, содержание ряда эндогенных гормонов, морфо- и гистологические параметры, а также регенерационную способность каллусов. Выявлено положительное воздействие этого brassinosteroidа на всех этапах экспериментов. Так, внесение 24-эпибрассинолида привело к высокой частоте образования каллусов, высокому приросту их сырой (рисунок а, б) и сухой массы,

повышению содержанию в них эндогенных гормонов роста и развития – цитокининов, повышению показателей способности каллусов к регенерации и формированию регенерантов одним каллусом. Выявлен и клеточный механизм действия 24-эпибрассинолида в каллусных культурах *in vitro*: введение этого препарата приводит к формированию одним каллусом максимального в условиях выполненных экспериментов количества морфогенетических очагов (рисунок в и г) – клеточных группировок, дающих начало регенерантам впоследствии, на регенерационной среде *in vitro*. Тем самым авторами подтверждена возможность успешного использования зародышевых каллусов в качестве экспериментальных систем *in vitro* при оценке действия антистрессовых препаратов.

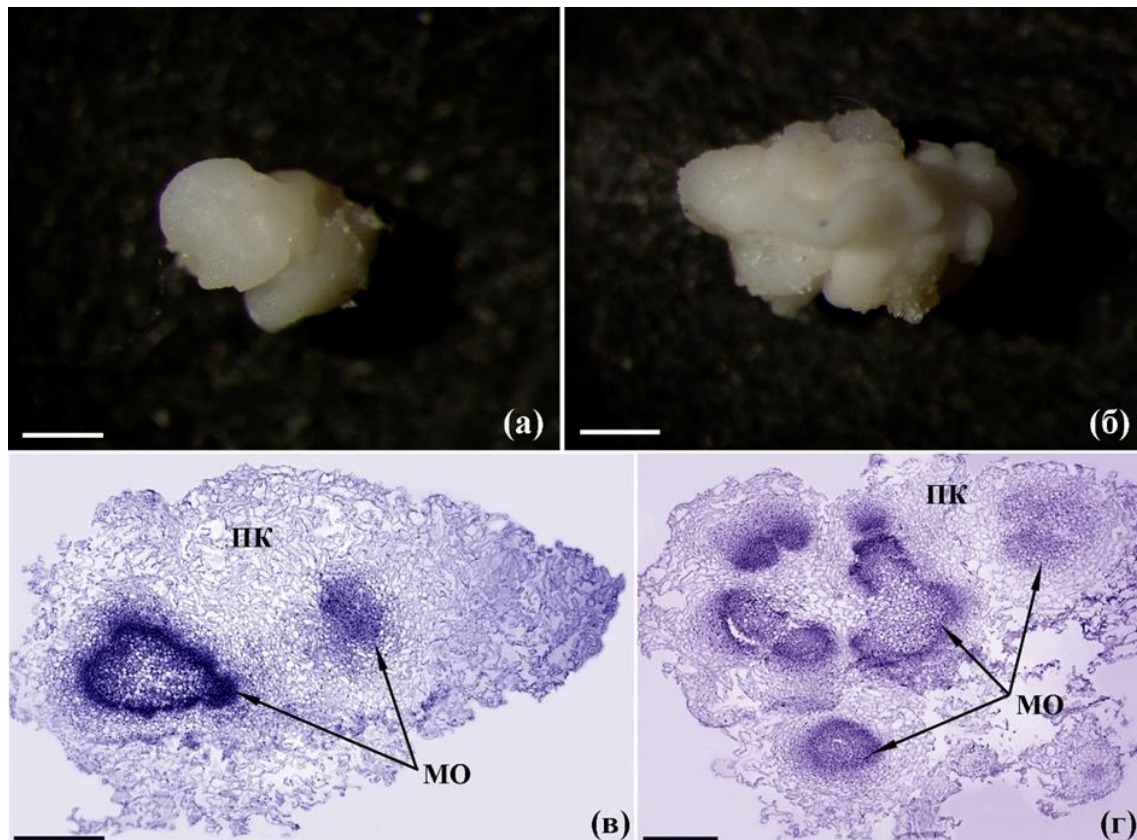


Рисунок – Каллусы незасухоустойчивого сорта пшеницы Салават Юлаев и их гистологический анализ

Примечания: варианты индукционной среды: а, в – без введения; б, г – с введением 24-эпибрассинолида. 30-е сут культивирования *in vitro*. а, б –прижизненная съемка, масштаб 500 мкм; в, г – гистологические препараты, поперечные срезы, масштаб 500 мкм. ПК – паренхимные клетки, МО – морфогенетический очаг [77].

В целом, исследователи активно изучают различные аспекты важнейшей проблемы получения в каллусной культуре *in vitro* засухоустойчивых регенерантов злаков.

В обзорной статье [33] дан обстоятельный и детальный анализ разработанных к настоящему времени прямых и косвенных методов оценки засухоустойчивости селекционного материала пшеницы. Один из выводов исследователей состоит в том, что дальнейший прогресс в изучении засухоустойчивости этого хлебного злака будет зависеть не только от развития клеточных технологий *in vitro*, но и от более

глубокого познания молекулярных механизмов регуляции и экспрессии генов, детерминирующих данный признак. С этим мнением нельзя не согласиться. В то же время, на наш взгляд, использование каллусных культур *in vitro*, особенно полученных из эксплантов сортов и линий – доноров генов засухоустойчивости, следует оценивать как надежную адекватную модель для изучения механизмов ответных реакций растений на этот стресс-фактор с целью получения устойчивых к засухе регенерантов для дальнейших селекционных разработок.

Выводы

Стресс-устойчивость злаков к абиотическим факторам – сложный процесс, регулируемый множеством генетических и, возможно, эпигенетических факторов, выявление и изучение которых представляет значительную трудность. Для исследования различных аспектов феномена стресс-устойчивости перспективны разработки модельных экспериментальных систем. Такими системами для изучения клеточных и тканевых механизмов реакций растений на различные стресс-факторы могут служить каллусные культуры *in vitro*. Основанием для использования каллусных моделей является важная роль клетки во всех морфогенетических событиях в растительном организме *in vivo* и *in vitro*, а также основанное на универсальности путей морфогенеза растений сходство ответных реакций растений *in vivo*, каллусов *in vitro*, регенерантов каллусного происхождения *in vitro* и *ex vitro*.

Модельный подход с использованием каллусных культур *in vitro*, при некоторой условности, дает возможность изучать морфогенез и механизмы его регуляции в контролируемых экспериментатором селективных условиях, позволяет приблизиться к пониманию особенностей ответных реакций злаков на воздействие абиотических стресс-факторов и к разработке способов управления адаптацией в таких условиях. Кроме того, каллусы, полученные из незрелых зародышей, важны и в предварительной экспресс-оценке генотипов хлебных злаков при создании стресс-устойчивых районированных сортов.

В целом, использование каллусных культур *in vitro* можно оценивать как удобный и надежный инструмент как для изучения механизмов ответных реакций растений на стресс, так и для получения устойчивых к стресс-факторам регенерантов – конечной цели биотехнологии *in vitro* и *ex vitro*. Новые возможности повышения стресс-устойчивости хозяйственно ценных растений, в том числе злаков, будут базироваться на результатах дальнейшего развития технологий клеточной селекции *in vitro*, разработке молекулярно-генетических подходов, данных функциональной геномики и трансгенеза растений.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А18-118022190099-6.

Литература

1. Батыгина Т. Б. Биология развития растений. СПб.: ДЕАН, 2014. 764 с.
2. Круглова Н. Н., Титова Г. Е., Сельдмирова О. А. Каллусогенез как путь морфогенеза *in vitro* у злаков // Онтогенез. 2018. Т. 49. № 5. С. 273–288. DOI: 10.1134/S0475145018050038.
3. Зинатуллина А. Е. Модельная система «зародыш–зародышевый каллус» в экспресс-оценке стрессовых и антистрессовых воздействий (на примере злаков) // Экобиотех. 2020. Т. 3. № 1. С. 38–50. DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-1-38-50.
4. Ikeuchi M., Sugimoto K., Iwase A. Plant callus: mechanisms of induction and repression // Plant Cell. 2013. Vol. 25. No. 9. P. 3159–3173. DOI: 10.1105/tpc.113.116053.
5. Круглова Н. Н., Горбунова В. Ю. Каллусогенез как путь морфогенеза в культуре изолированных пыльников злаков // Успехи современной биологии. 1997. Т. 117. Вып. 1. С. 83–94.
6. Батыгина Т. Б., Круглова Н. Н., Горбунова В. Ю., Титова Г. Е., Сельдмирова О. А. От микроспоры – к сорту. М.: Наука, 2010. 174 с.

7. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
8. Seldimirova O. A., Kudoyarova G. R., Kruglova N. N., Zaytsev D. Yu., Veselov S. Yu. Changes in distribution of zeatin and indolil-3-acetic acid in cells during callus induction and organogenesis *in vitro* in immature embryo culture of wheat // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2016. Vol. 52. No. 3. P. 251–264. DOI: 10.1007/s11627-016-9767-4.
9. Галин И. Р., Зайцев Д. Ю., Сельдимирова О. А., Круглова Н. Н. Участие цитокининов в начальных этапах эмбриогенеза *in vitro* в зародышевых каллусах пшеницы // *Биомика*. 2018. Т. 10. № 2. С. 141–145. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-17.
10. Сельдимирова О. А., Кудоярова Г. Р., Круглова Н. Н., Галин И. Р., Веселов Д. С. Способность к соматическому эмбриогенезу *in vitro* в каллусах пшеницы и ячменя определяется балансом содержания в них ИУК и АБК // *Онтогенез*. 2019. Т. 50. № 3. С. 181–193. DOI: 10.1134/S0475145019030054.
11. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зинатуллина А. Е. Структурные особенности и гормональная регуляция зиготического эмбриогенеза злаков // *Успехи современной биологии*. 2019. Т. 139. № 4. С. 326–337. DOI: 10.1134/S0042132419040057.
12. Зинатуллина А. Е. Феномен гемморизогенеза как типа органогенеза *in vitro* в биотехнологических исследованиях хлебных злаков // *Экобиотех*. 2019. Т. 2. № 2. С. 116–127. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-2-116-127.
13. Круглова Н. Н. Каллус как модель для изучения формирования структуры высшего растения // *Известия Уфимского научного центра РАН*. 2011. № 2. С. 17–22. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-44-54.
14. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зинатуллина А. Е. Каллус *in vitro* как модельная система для изучения органогенеза растений // *Известия Уфимского научного центра РАН*. 2019. № 2. С. 44–54. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-44-54.
15. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зинатуллина А. Е. Каллус *in vitro* как модельная система для исследования стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам (на примере злаков) // *Успехи современной биологии*. 2018. Т. 138. № 3. С. 283–293. DOI: 10.7868/S0042132418030067.
16. Melida H., Garcia-Angulo P., Alonso-Simon A., Encina A., Alvarez J., Acebes J.L. Novel type II cell wall architecture in dichlobenil-habituated maize calluses // *Planta*. 2009. Vol. 229. No. 3. P. 617–631. DOI: 10.1007/s00425-008-0860-8.
17. Лукаткин А. С. Использование каллусных культур кукурузы для оценки устойчивости к холодному стрессу // *Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2010. № 5. С. 10–15.
18. Benderradji L., Brini F., Kellou K., Ykhlef N., Djekoun A., Masmoudi K., Bouzerzour H. Callus induction, proliferation, and plantlets regeneration of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under saline and heat stress conditions // *International Scholarly Research Network. ISRN Agronomy*. 2012. Vol. 2012. Article ID 367851. 8 p. DOI: 10.5402/2012/367851.
19. Вартапетян Б. Б., Долгих Ю. И., Полякова Л. И., Чичкова Н. В., Вартапетян А. Б. Биотехнологические подходы в создании растений, толерантных к гипоксии и аноксии // *Acta Naturae*. 2014. Т. 6. № 2 (21). С. 21–33.
20. Никитина Е. Д., Хлебова Л. П., Ерещенко О. В. Разработка отдельных элементов технологии клеточной селекции яровой пшеницы на устойчивость к абиотическим стрессам // *Известия Алтайского государственного университета. Биологические науки*. 2014. № 3-2(83). DOI: 10.14258/izvasu(2014)3.2-09.
21. Баранова Е. Н., Чабан И. А., Кононенко Н. В., Шуплецова О. Н., Широких И. Г., Поляков В. Ю. Морфофункциональная характеристика каллусов ячменя, толерантных к токсическому действию алюминия // *Биологические мембраны*. 2015. Т. 32. № 3. С. 1–13.
22. Соловьева А. И., Гайсинский В. В., Долгих Ю. И. Влияние ионов меди на уровень генетической изменчивости двух каллусных линий кукурузы разного возраста // *Физиология растений*. 2015. Т. 62. № 1. С. 89–95. DOI: 10.7868/S0015330315010145.
23. Шуплецова О. Н., Щенникова И. Н. Результаты использования клеточных технологий в создании новых сортов ячменя, устойчивых к токсичности алюминия и засухе // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016. Т. 20. № 5. С. 623–628. DOI: 10.18699/VJ16.183.
24. Sankepally S. S. R., Talluri V. R., Arulmariamathan J. P., Singh B. Callus Induction and Regeneration Capabilities of Indica Rice Cultivars to Salt Stress // *Journal of Biomolecular Research & Therapeutics*. 2016. Vol. 4. No. 136. DOI: 10.4172/2167-7956.1000136.
25. Yadav S., Sharma K. D. Molecular and morphophysiological analysis of drought stress in plants // *In book: Plant growth. Chapter 10* // Ed. by Rigobelo E. C. 2016. DOI: 10.5772/65246.
26. Sattar S., Afzal R., Bashir I., Shahid A. Biochemical, molecular and morpho-physiological attributes of wheat to upgrade grain production and compete with water stress // *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*. 2019. Vol. 3. No. 3. P. 510–528. DOI: 10.29329/ijjaar.2019.206.16.

27. Веселов С. Ю., Шарипова Г. В., Тимергалин М. Д., Веселов Д. С., Кудоярова Г. Р. Прогноз засухоустойчивости по содержанию абсцизовой кислоты и изучение возможности упрощения процедуры ее количественной оценки в растениях пшеницы // Известия Самарского научного центра РАН. 2011. Т. 13. № 5(3). С. 17–20.
28. Nezhadahmadi A., Hossain P. Z., Faruq G. Drought tolerance in wheat // The Scientific World Journal. 2013. Article ID 610721. 12 p. DOI: 10.1155/2013/610721.
29. Sonmezoglu O. A., Terzi B. Characterization of some bread wheat genotypes using molecular markers for drought tolerance // Physiology and Molecular Biology of Plants. 2018. Vol. 24. No. 1. P. 159–166. DOI: 10.1007/s12298-017-0492-1.
30. Plant life under changing environment: responses and management // Ed. by Tripathi D. K. Elsevier: Academic Press, 2020. 1020 p. DOI: 10.1016/C2018-1-02300-8.
31. Круглова Н. Н. Выявление автономности зародыша пшеницы как этап разработки экспресс-диагностической биотехнологии получения засухоустойчивых образцов // Пермский аграрный вестник. 2014. № 1. С. 38–43.
32. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зинатуллина А. Е., Никонов В. И. Выявление засухоустойчивых генотипов пшеницы в культуре незрелых зародышей *in vitro* // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2019. Т. 52. № 4. С. 37–41. DOI: 10.31563/1684-7628-2019-52-4-37-41.
33. Пикало С., Демидов О., Юрченко Т., Хоменко С., Гуменюк О., Харченко М., Прокопик Н. Методи оцінки посухостійкості селекційного матеріалу пшениці // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2020. Вип. 82. С. 63–79. DOI: 10.30970/vlubs.2020.82.05.
34. Егорова Н. А. Некоторые аспекты биотехнологии эфиромасличных растений: индукция каллюсо- и морфогенеза, использование соматклональной изменчивости // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46. № 2. С. 108–120.
35. Sugiyama M. Historical review of research on plant cell dedifferentiation // Journal of Plant Research. 2015. Vol. 128. P. 349–359. DOI: 10.1007/s10265-015-0706-y.
36. Gaillochet C., Lohmann J. U. The never-ending story: from pluripotency to plant developmental plasticity // Development. 2015. Vol. 142. P. 2237–2249. DOI: 10.1242/dev.117614.
37. Yu Y., Qin W., Li Y., Zhang C., Wang Y., Yang Z., Ge X., Li F. Red light promotes cotton embryogenic callus formation by influencing endogenous hormones, polyamines and antioxidative enzyme activities // Plant Growth Regulation. 2019. Vol. 87. P. 187–199. DOI: 10.1007/s10725-018-0461-x.
38. Зинатуллина А. Е. Цитофизиологические особенности контрастных типов каллюсов *in vitro* // Успехи современной биологии. 2020. Т. 140. № 2. С. 183–194. DOI: 10.31857/S0042132420020040.
39. Ikeuchi M., Ogawa Y., Iwase A., Sugimoto K. Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms // Development. 2016. Vol. 143. No 9. P. 1442–1453. DOI: 10.1242/dev.134668.
40. Ikeuchi M., Favero D.S., Sakamoto Y., Iwase A., Coleman D., Rymen B., Sugimoto K. Molecular mechanisms of plant regeneration // Annual Review of Plant Biology. 2019. Vol. 70. P. 377–406. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050718-100434.
41. Alhasnawi A. N., Che Radziah C. M. Z., Kadhimi A. A., Isahak A., Mohamad A., Yusoff W. M. W. Enhancement of antioxidant enzyme activities in rice callus by ascorbic acid under salinity stress // Biologia Plantarum. 2016. Vol. 60. P. 1–5. DOI: 10.1007/s10535-016-0603-9.
42. Терлецкая Н. В. Неспецифические реакции зерновых злаков на абиотические стрессы *in vivo* и *in vitro*. Алматы: Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК, 2012. 208 с.
43. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зайцев Д. Ю., Галин И. Р., Зинатуллина А. Е., Анохина Н. С. Развитие андроклинных растений пшеницы в лабораторных условиях *in vitro* и *ex vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 3. С. 21–25.
44. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зайцев Д. Ю., Галин И. Р., Зинатуллина А. Е., Анохина Н. С. Развитие андроклинных растений пшеницы в полевых условиях *in vivo* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 3. С. 26–30.
45. Долгих Ю. И. Соматклональная изменчивость растений и возможности ее практического использования на примере кукурузы. Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. М.: Институт физиологии растений РАН, 2005. 45 с.
46. Rykalo S. V., Dubrovna O. V. Variability of the Triticale Genome *in vitro* // Cytology and Genetics. 2018. Vol. 52. No. 5. P. 385–393. DOI: 10.3103/S0095452718050092.
47. Ikeuchi M., Shibata M., Rymen B., Iwase A., Bagman A.-M., Watt L., Coleman D., Favero D., Takahashi T., Ahnert S., Brady S.M., Sugimoto K. A gene regulatory network for cellular reprogramming in plant regeneration // Plant and Cell Physiology. 2018. Vol. 59. Iss. 4. P. 770–782. DOI: 10.1093/pcp/pcy013.
48. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А. Система «зародыш *in planta*–каллус *in vitro*»: цитофизиологические аспекты (на примере пшеницы) // Биомика. 2020. Т. 12. № 2. С. 180–189. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-8.

49. Audin M., Tosun M., Haliloglu K. Plant regeneration in wheat mature embryo culture // African Journal of Biotechnology. 2011. Vol. 10. No. 70. P. 15749–15755. DOI: 10.5897/AJB11.1495.
50. Bouiamrine E. H., Diouri M., Halimi R. E. Somatic embryogenesis and plant regeneration capacity from mature and immature durum wheat embryos // International Journal of Biosciences. 2012. Vol. 2. P. 29–39.
51. Егорова Н. А., Ставцева И. В. Биотехнологические приемы получения форм шалфея, устойчивых к осмотическому стрессу *in vitro* // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2013. Вып. 8. С. 93–100.
52. Бычкова О. В. Оценка эффективности морфогенеза и регенерации яровой твердой пшеницы в культуре *in vitro* // Acta Biologica Sibirica. 2016. № 2. С. 139–149. DOI: 10.14258/abs.v2i1-4.923.
53. Bouamama B., Salem A. B., Youssef F. B., Chaieb S., Jaafoura M.-H., Mliki A., Ghorbel A. Somatic embryogenesis and organogenesis from mature caryopses of North African barley accession “Kerkenen” (*Hordeum vulgare* L.) // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2011. Vol. 47. P. 321–327. DOI: 10.1007/s11627-011-9357-4.
54. Delporte F., Pretova A., du Jardin P., Watillon D. Morpho-histology and genotype dependence of *in vitro* morphogenesis in mature embryo cultures of wheat // Protoplasma. 2014. Vol. 251. No. 6. P. 1455–1470. DOI: 10.1007/s00709-014-0647-7.
55. Кулуев Б. Р., Круглова Н. Н., Зарипова А. А., Фархутдинов Р. Г. Основы биотехнологии растений. Уфа: Башкирский государственный университет, 2017. 244 с.
56. Dagustu N. Comparison of callus formation and plantlet regeneration capacity from immature embryo culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes // Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2014. Vol. 22. No. 3. P. 1–4. DOI: 10.1080/13102818.2008.10817552.
57. Carciofi M., Blennow A., Nielsen M. M., Holm P. B., Hebelstrup K. H. Barley callus: a model system for bioengineering of starch in cereals // Plant Methods. 2012. Vol. 8. No. 36. DOI: 10.1186/1746-4811-8-36.
58. Miroshnichenko D., Chaban I., Chernobrovkina M., Dolgov S. Protocol for efficient regulation of *in vitro* morphogenesis in einkorn (*Triticum monococcum* L.), a recalcitrant diploid wheat species // PloS ONE. 2017. № 12(3). e0173533. DOI: 10.1371/journal.pone.0173533.
59. Liu B., Shan X., Wu Y., Su Sh., Li Sh., Liu H., Han J., Yuan Y. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of embryogenic and non-embryogenic calli derived from a maize (*Zea mays* L.) inbred line Y423 // International Journal of Molecular Sciences. 2018. Vol. 19(12). No. 4004. DOI: 10.3390/ijms19124004.
60. Alejandri-Ramirez N. D., Chavez-Hernandez E. C., Contreras-Guerra J. L., Reyes J. L., Dinkova T. D. Small RNA differential expression and regulation in Tuxpeno maize embryogenic callus induction and establishment // Plant Physiology and Biochemistry. 2018. Vol. 122. P. 78–89. DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.11.013.
61. Ijaz B., Sudiro C., Hyder M. Z., Malik S. I., Farrakh S., Schiavo F., Yasmin T. Histomorphological analysis of rice callus cultures reveals differential regeneration response with varying media combinations // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2019. Vol. 55. P. 569–580. DOI: 10.1007/s11627-019-09974-6.
62. Катасонова А. А., Круглова Н. Н. Зародыш пшеницы как компетентный эксплант для получения морфогенных каллусов *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2011. № 2. С. 27–31.
63. Chu Z., Chen J., Xu H., Dong Z., Chen F., Cui D. Identification and comparative analysis of microRNA in wheat (*Triticum aestivum* L.) callus derived from mature and immature embryos during *In vitro* cultures // Frontiers in Plant Science. 2016. Vol. 7. Iss. 1302. DOI: 10.3389/fpls.2016.01302.
64. Lopez-Ruiz B. A., Juarez-Gonzalez V. T., Sandoval-Zapotitla E., Dinkova T. D. Development-related miRNA expression and target regulation during staggered *in vitro* plant regeneration of tuxpeno VS-535 maize cultivar // International Journal of Molecular Sciences. 2019. Vol. 20. No. 2079. DOI: 10.3390/ijms20092079.
65. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Зинатуллина А. Е. Гистологический статус зародыша пшеницы в стадии органогенеза *in vivo*, оптимальной для получения морфогенного каллуса *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2019. № 1. С. 25–29. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-1-25-29.
66. Juarez-Gonzalez V., Lopez-Ruiz B. A., Baldrich P., Lujan-Soto E., Meyers B. C., Dinkova T. D. The explant developmental stage profoundly impacts small RNA-mediated regulation at the dedifferentiation step of maize somatic embryogenesis // International Journal of Scientific Reports. 2019. Vol. 9. No. 1. DOI: 10.1038/s41598-019-50962-y.
67. Сельдимирова О. А., Круглова Н. Н., Титова Г. Е., Батыгина Т. Б. Сравнительный ультраструктурный анализ формирующихся микроспориальных эмбриоидов *in vitro* и зиготических зародышей *in vivo* пшеницы как основа понимания цитофизиологических аспектов их развития // Онтогенез. 2017. Т. 48. № 3. С. 220–233. DOI: 10.7868/S0475145017030119.

68. Seldimirova O. A., Kudoyarova G. R., Katsuhara M., Galin I. R., Zaitsev D. Yu., Kruglova N. N., Veselov D. S., Veselov S. Yu. Dynamics of the contents and distribution of ABA, auxins and aquaporins in developing caryopses of an ABA-deficient barley mutant and its parental cultivar // *Seed Science Research*. 2019. Vol. 29. Iss. 4. P. 1–9. DOI: 10.1017/S0960258519000229.
69. Соболева М. И., Логинов И. В. Статистические характеристики, маркирующие морфогенез в каллусных культурах яровой мягкой пшеницы // *Физиология растений*. 2004. Т. 51. № 2. С. 287–296.
70. Galovic V., Kotaranin Z., Dencic S. *In vitro* assessment of wheat tolerance to drought // *Genetika*. 2005. Vol. 37. No. 2. P. 165–171.
71. Farshadfar E., Jamshidi B., Cheghamirza K., da Silva J. A. T. Evaluation of drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using *in vivo* and *in vitro* techniques // *Annals of Biological Research*. 2012. Vol. 3. No. 1. P. 465–476.
72. Bouiamrine E. H., Diouri M. Response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) callus culture to osmosis induced drought stress caused by polyethylene glycol (PEG) // *Annals of Biological Research*. 2012. Vol. 3. No. 9. P. 4555–4563.
73. Maleki M., Ghorbanpour M., Nikabadi S., Wani S. H. *In vitro* screening of crop plants for abiotic stress tolerance // In book: *Recent approaches in omics for plant resilience to climate change* // Ed. by Wani S. Cham: Springer, 2019. P. 75–91. DOI: 10.1007/978-3-030-21687-0_4.
74. Россеев В. М., Белан И. А., Россеева Л. П. Тестирование *in vitro* яровой мягкой пшеницы на засухоустойчивость // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2011. Т. 76. № 2. С. 32–34.
75. Тагиманова Д. С., Ергалиева А. Ж., Райзер О. Б., Хапилина О. Н. Оценка генотипов яровой мягкой пшеницы на засухоустойчивость в условиях *in vitro* // *Биотехнология. Теория и практика*. 2013. № 2. С. 42–46.
76. Shakirova F., Allagulova C., Maslennikova D., Fedorova K., Yuldashev R., Lubyanova A., Bezrukova M., Avalbaev A. Involvement of dehydrins in 24-epibrassinolide-induced protection of wheat plants against drought stress // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2016. Vol. 108. P. 539–548. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.07.013.
77. Сельдимирова О. А., Безрукова М. В., Галин И. Р., Лубянова А. Р., Шакирова Ф. М., Круглова Н. Н. Влияние 24-эпибрасинолида на формирование, ростовые показатели и регенерационную способность каллусов *in vitro* контрастных по засухоустойчивости сортов пшеницы // *Физиология растений*. 2017. Т. 64. № 6. С. 461–472. DOI: 10.7868/S0015330317060082.
78. Круглова Н. Н., Сельдимирова О. А., Безрукова М. В., Шакирова Ф. М. Модельная система «зародыш–каллус–регенерант» пшеницы для экспресс-оценки действия 24-эпибрасинолида // *Экобиотех*. 2020. Т. 3. № 3. С. 331–336. DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-3-331-336.
79. Сельдимирова О. А., Круглова Н. Н., Безрукова М. В., Шакирова Ф. М. Зародышевые каллусы и регенеранты пшеницы в экспресс-оценке действия антистрессового регулятора роста растений 24-эпибрасинолида // *Биомика*. 2020. Т. 12. № 3. С. 394–397. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-30.
80. Sallam A., Alqudah A. M., Dawood M. F., Baenziger P. S., Borner A. Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research // *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20. No. 13. DOI: 10.3390/ijms20133137.

References

1. Batygina T. B. *Plant developmental biology*. Saint-Petersburg: DEAN, 2014. 764 p.
2. Kruglova N. N., Titova G. E., Seldimirova O. A. Callusogenesis as an *in vitro* morphogenesis pathway in cereals // *Russian Journal of Developmental Biology*. 2018. Vol. 49. No. 5. P. 245–259. DOI: 10.1134/S106236041805003X.
3. Zinatullina A. E. The model system “embryo–embryonic callus” in express evaluation of stress and anti-stress effects (on the example of cereals) // *Ecobiotech*. 2020. Vol. 3. No. 1. P. 38–50. DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-1-38-50.
4. Ikeuchi M., Sugimoto K., Iwase A. Plant callus: mechanisms of induction and repression // *Plant Cell*. 2013. Vol. 25. No. 9. P. 3159–3173. DOI: 10.1105/tpc.113.116053.
5. Kruglova N. N., Gorbunova V. Yu. Callusogenesis as a path of morphogenesis in cereal anther culture // *Uspehi Sovremennoj Biologii*. 1997. Vol. 117. Iss. 1. P. 83–94.
6. Batygina T. B., Kruglova N. N., Gorbunova V. Yu., Titova G. E., Seldimirova O. A. From microspore – to cultivar. Moscow: Nauka, 2010. 174 p.
7. Kruglova N. N., Seldimirova O. A. Wheat regeneration *in vitro* and *ex vitro*: cytohistological aspects. Ufa: Gilem, 2011. 124 p.

8. Seldimirova O. A., Kudoyarova G. R., Kruglova N. N., Zaytsev D. Yu., Veselov S. Yu. Changes in distribution of zeatin and indole-3-acetic acid in cells during callus induction and organogenesis *in vitro* in immature embryo culture of wheat // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2016. Vol. 52. No. 3. P. 251–264. DOI: 10.1007/s11627-016-9767-4.
9. Galin I. R., Zaytsev D. Yu., Seldimirova O. A., Kruglova N. N. Participation of cytokinins at early stages of embryoidogenesis *in vitro* in spring bread wheat embryo calli // *Biomics*. 2018. Vol. 10. No. 2. P. 141–145. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-17.
10. Seldimirova O. A., Kudoyarova G. R., Kruglova N. N., Galin I. R., Veselov D. S. Somatic embryogenesis in wheat and barley calli *in vitro* is determined by the level of indoleacetic and abscisic acids // *Russian Journal of Developmental Biology*. 2019. Vol. 50. No. 3. P. 124–135. DOI: 10.1134/S1062360419030056.
11. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E. Structural features and hormonal regulation of the zygotic embryogenesis in cereals // *Biology Bulletin Reviews*. 2020. Vol. 10. No. 2. P. 115–126. DOI: 10.1134/S2079086420020048.
12. Zinatullina A. E. Gemmorhizogenesis as the type of organogenesis *in vitro* during biotechnological investigations of cereals // *Ecobiotech*. 2019. Vol. 2. No. 2. P. 116–127. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-2-116-127.
13. Kruglova N. N. Callus as a model system for the study of higher plant structure formation *in vitro* conditions // *Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN*. 2011. No. 2. P. 17–22.
14. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E. Callus *in vitro* as a model system for the study of plant organogenesis // *Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN*. 2019. No. 2. P. 44–54. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-44-54.
15. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E. *In vitro* callus as a model system for the study of plant stress-resistance to abiotic factors (on the example of cereals) // *Biology Bulletin Reviews*. 2018. Vol. 8. No. 6. P. 518–526. DOI: 10.1134/S2079086418060063.
16. Melida H., Garcia-Angulo P., Alonso-Simon A., Encina A., Alvarez J., Acebes J.L. Novel type II cell wall architecture in dichlobenil-habituated maize calluses // *Planta*. 2009. Vol. 229. No. 3. P. 617–631. DOI: 10.1007/s00425-008-0860-8.
17. Lukatkin A. S. Use of maize callus cultures for an estimation of resistance to chilling stress // *Reports of Russian Academy of Agricultural sciences*. 2010. No. 5. P. 10–15.
18. Benderradji L., Brini F., Kellou K., Ykhlef N., Djekoun A., Masmoudi K., Bouzerzour H. Callus induction, proliferation, and plantlets regeneration of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under saline and heat stress conditions // *International Scholarly Research Network. ISRN Agronomy*. 2012. Vol. 2012. Article ID 367851. 8 p. DOI: 10.5402/2012/367851.
19. Vartapetyan B. B., Dolgikh Yu. I., Polyakova L. I., Chichkova N. V., Vartapetyan A. B. Biotechnological approaches in the creation of plants tolerant to hypoxia and anoxia // *Acta Naturae*. 2014. Vol. 6. No. 2 (21). P. 21–33.
20. Nikitina E. D., Khlebova L. P., Ereschenko O. V. The development of some technology elements of the spring wheat cell selection for resistance to abiotic stresses // *Izvestiya of Altai State University. Biological sciences*. 2014. DOI: 10.14258/izvasu(2014)3.2-09.
21. Baranova E. N., Chaban I. A., Kononenko N. V., Shupletsova O. N., Shirokih I. G., Polyakov V. Yu. Morphological and functional characteristics of barley calluses tolerant to the toxic action of aluminum // *Biologicheskie membrany*. 2015. Vol. 32. No. 3. P. 1–13. DOI: 10.7868/S0233475515030032
22. Solov'eva A. I., Gaysinskii V. V., Dolgikh Yu. I. Effect of copper ions on genetic variability in two maize callus lines of different ages // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2015. Vol. 62. No. 1. P. 89–95. DOI: 10.7868/S0015330315010145.
23. Shupletsova O. N., Shchennikova I. N. Results of using cell technologies for creation of new barley varieties resistant against aluminum toxicity and drought // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016. Vol. 20. No. 5. P. 623–628. DOI: 10.18699/VJ16.183
24. Sankepally S. S. R., Talluri V. R., Arulmariamathan J. P., Singh B. Callus induction and regeneration capabilities of Indica rice cultivars to salt stress // *Journal of Biomolecular Research & Therapeutics*. 2016. Vol. 4. No. 136. DOI: 10.4172/2167-7956.1000136.
25. Yadav S., Sharma K. D. Molecular and morphophysiological analysis of drought stress in plants // *Plant growth. Chapter 10* // Ed. by Rigobelo E. C. 2016. DOI: 10.5772/65246.
26. Sattar S., Afzal R., Bashir I., Shahid A. Biochemical, molecular and morpho-physiological attributes of wheat to upgrade grain production and compete with water stress // *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*. 2019. Vol. 3. No. 3. P. 510–528. DOI: 10.29329/ijjaar.2019.206.16.
27. Veselov S. Yu., Sharipova G. V., Timergalin M. D., Veselov D. S., Kudoyarova G. R. Forecast of drought resistance by the content of abscisic acid and study of the possibility of simplifying the procedure

for its quantitative assessment in wheat plants // Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2011. Vol. 13. No. 5(3). P. 17–20.

28. Nezhadahmadi A., Hossain P.Z., Faruq G. Drought tolerance in wheat // The Scientific World Journal. 2013. Article ID 610721. 12 p. DOI: 10.1155/2013/610721.

29. Sonmezoglu O. A., Terzi B. Characterization of some bread wheat genotypes using molecular markers for drought tolerance // Physiology and Molecular Biology of Plants. 2018. Vol. 24. No. 1. P. 159–166. DOI: 10.1007/s12298-017-0492-1.

30. Plant life under changing environment: Responses and Management // Ed. by Tripathi D. K. Academic Press (Elsevier), 2020. 1020 p. DOI: 10.1016/C2018-1-02300-8.

31. Kruglova N. N. Discovery of the wheat embryo autonomy as a stage of elaboration of express diagnostical biotechnology for obtaining drought-resistant samples // Perm Agrarian Journal. 2014. No. 1. P. 38–43.

32. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A.E., Nikonov V. I. Identifying of drought tolerant wheat genotypes in culture of immature embryos *in vitro* // Vestnik of the Bashkir State Agrarian University. 2019. Vol. 52. No. 4. P. 37–41. DOI: 10.31563/1684-7628-2019-52-4-37-41.

33. Pykalo S., Demidov O., Yurchenko T., Khomenko S., Gumenyuk O., Kharchenko M., Prokopik N. Methods for evaluation of wheat breeding material for drought tolerance // Visnyk of Lviv University. Biological series. 2020. Iss. 82. P. 63–79. DOI: 10.30970/vlubs.2020.82.05.

34. Yegorova N. A. Some aspects of essential oil plants biotechnology: callus and morphogenesis induction, use of somaclonal variability // Plant physiology and genetics. 2014. Vol. 46. No. 2. P. 108–120.

35. Sugiyama M. Historical review of research on plant cell dedifferentiation // Journal of Plant Research. 2015. Vol. 128. P. 349–359. DOI: 10.1007/s10265-015-0706-y.

36. Gaillochet C., Lohmann J. U. The never-ending story: from pluripotency to plant developmental plasticity // Development. 2015. Vol. 142. P. 2237–2249. DOI: 10.1242/dev.117614.

37. Yu Y., Qin W., Li Y., Zhang C., Wang Y., Yang Z., Ge X., Li F. Red light promotes cotton embryogenic callus formation by influencing endogenous hormones, polyamines and antioxidative enzyme activities // Plant Growth Regulation. 2019. Vol. 87. P. 187–199. DOI: 10.1007/s10725-018-0461-x.

38. Zinatullina A. E. Cytophysiological features of contrast callus types *in vitro* // Uspehi Sovremennoj Biologii. 2020. Vol. 140. No. 2. P. 183–194. DOI: 10.31857/S0042132420020040.

39. Ikeuchi M., Ogawa Y., Iwase A., Sugimoto K. Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms // Development. 2016. Vol. 143. No. 9. P. 1442–1453. DOI: 10.1242/dev.134668.

40. Ikeuchi M., Favero D.S., Sakamoto Y., Iwase A., Coleman D., Rymen B., Sugimoto K. Molecular mechanisms of plant regeneration // Annual Review of Plant Biology. 2019. Vol. 70. P. 377–406. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050718-100434.

41. Alhasnawi A. N., Che Radziah C. M. Z., Kadhimi A. A., Isahak A., Mohamad A., Yusoff W. M. W. Enhancement of antioxidant enzyme activities in rice callus by ascorbic acid under salinity stress // Biologia Plantarum. 2016. Vol. 60. P. 1–5. DOI: 10.1007/s10535-016-0603-9.

42. Terletskaia N. V. Non-specific reactions of cereals on abiotic stresses *in vivo* and *in vitro*. Almaty: на “Institute of Plant Biology and Biotechnology” of the Committee of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2012. 208 p.

43. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zaytsev D. Yu., Galin I. R., Zinatullina A. E., Anokhina N. S. Development of wheat androclinal regenerants under laboratory conditions *in vitro* and *ex vitro* // Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN. 2017. No. 3. P. 21–25.

44. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zaytsev D. Yu., Galin I. R., Zinatullina A. E., Anokhina N. S. Development of wheat androclinal plants under field conditions *in vivo* // Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN. 2017. No. 3. P. 26–30.

45. Dolgikh Yu. I. Somaclonal variability of plants and the possibilities of its practical use on the example of corn: Authors’ abstract ... Dr. Sc. (Biol.). Moscow: Institute of Plant Physiology of RAS, 2005. 45 p.

46. Pykalo S. V., Dubrovna O. V. Variability of the triticale genome in culture *in vitro* // Cytology and Genetics. 2018. Vol. 52. No. 5. P. 385–393. DOI: 10.3103/S0095452718050092.

47. Ikeuchi M., Shibata M., Rymen B., Iwase A., Bagman A.-M., Watt L., Coleman D., Favero D., Takahashi T., Ahnert S., Brady S. M., Sugimoto K. A gene regulatory network for cellular reprogramming in plant regeneration // Plant and Cell Physiology. 2018. Vol. 59. Iss. 4. P. 770–782. DOI: 10.1093/pcp/pcy013.

48. Kruglova N. N., Seldimirova O. A. The system “embryo *in planta*–callus *in vitro*”: cytophysiological aspects (by example of wheat) // Biomics. 2020. Vol. 12. No. 2. P. 180–189. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-8.

49. Audin M., Tosun M., Haliloglu K. Plant regeneration in wheat mature embryo culture // African Journal of Biotechnology. 2011. Vol. 10. No. 70. P. 15749–15755. DOI: 10.5897/AJB11.1495.

50. Bouiamrine E. H., Diouri M., Halimi R. E. Somatic embryogenesis and plant regeneration capacity from mature and immature durum wheat embryos // *International Journal of Biosciences*. 2012. Vol. 2. P. 29–39.
51. Yegorova N. A., Stavtseva I. V. Biotechnological techniques for obtaining forms of sage that are resistant to osmotic stress *in vitro* // *Ecosystems, its optimization and security*. 2013. Iss. 8. P. 93–100.
52. Bychkova O. V. Evaluation of morphogenesis and regeneration of hard spring wheat *in vitro* // *Acta Biologica Sibirica*. 2016. No. 2. P. 139–149. DOI: 10.14258/abs.v2i1-4.923.
53. Bouamama B., Salem A. B., Youssef F. B., Chaieb S., Jaafoura M.-H., Mliki A., Ghorbel A. Somatic embryogenesis and organogenesis from mature caryopses of North African barley accession “Kerkena” (*Hordeum vulgare* L.) // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2011. Vol. 47. P. 321–327. DOI: 10.1007/s11627-011-9357-4.
54. Delporte F., Pretova A., du Jardin P., Watillon D. Morpho-histology and genotype dependence of *in vitro* morphogenesis in mature embryo cultures of wheat // *Protoplasma*. 2014. Vol. 251. No. 6. P. 1455–1470. DOI: 10.1007/s00709-014-0647-7.
55. Kuluev B. R., Kruglova N. N., Zaripova A. A., Farhutdinov R. G. Bases of plant biotechnology. Ufa: Publishing house of Bashkir State University, 2017. 244 p.
56. Dagustu N. Comparison of callus formation and plantlet regeneration capacity from immature embryo culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014. Vol. 22. No. 3. P. 1–4. DOI: 10.1080/13102818.2008.10817552.
57. Carciofi M., Blennow A., Nielsen M. M., Holm P. B., Hebelstrup K. H. Barley callus: a model system for bioengineering of starch in cereals // *Plant Methods*. 2012. Vol. 8. No. 36. DOI: 10.1186/1746-4811-8-36.
58. Miroshnichenko D., Chaban I., Chernobrovkina M., Dolgov S. Protocol for efficient regulation of *in vitro* morphogenesis in einkorn (*Triticum monococcum* L.), a recalcitrant diploid wheat species // *PLoS ONE*. 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0173533.
59. Liu B., Shan X., Wu Y., Su Sh., Li Sh., Liu H., Han J., Yuan Y. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of embryogenic and non-embryogenic calli derived from a maize (*Zea mays* L.) inbred line Y423 // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19(12). No. 4004. DOI: 10.3390/ijms19124004.
60. Alejandri-Ramirez N. D., Chavez-Hernandez E. C., Contreras-Guerra J. L., Reyes J. L., Dinkova T. D. Small RNA differential expression and regulation in Tuxpeno maize embryogenic callus induction and establishment // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2018. Vol. 122. P. 78–89. DOI: 10.1016/j.plaphy.2017.11.013.
61. Ijaz B., Sudiro C., Hyder M. Z., Malik S. I., Farrakh S., Schiavo F., Yasmin T. Histomorphological analysis of rice callus cultures reveals differential regeneration response with varying media combinations // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2019. Vol. 55. P. 569–580. DOI: 10.1007/s11627-019-09974-6.
62. Katasonova A. A., Kruglova N. N. Wheat embryo as a competent explant for obtaining morphogenical calluses *in vitro* // *Proceedings of Ufa Scientific Center of RAS*. 2011. No. 2. P. 27–31.
63. Chu Z., Chen J., Xu H., Dong Z., Chen F., Cui D. Identification and comparative analysis of microRNA in wheat (*Triticum aestivum* L.) callus derived from mature and immature embryos during *In vitro* cultures // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. Iss. 1302. DOI: 10.3389/fpls.2016.01302.
64. Lopez-Ruiz B. A., Juarez-Gonzalez V. T., Sandoval-Zapotitla E., Dinkova T. D. Development-related miRNA expression and target regulation during staggered *in vitro* plant regeneration of Tuxpeno VS-535 maize cultivar // *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20. No. 2079. DOI: 10.3390/ijms20092079.
65. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E. Histological status of wheat embryo on stage of organogenesis *in vivo* optimal for obtaining of morphogenic callus *in vitro* // *Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN*. 2019. No. 1. P. 25–29. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-1-25-29.
66. Juarez-Gonzalez V., Lopez-Ruiz B. A., Baldrich P., Lujan-Soto E., Meyers B. C., Dinkova T. D. The explant developmental stage profoundly impacts small RNA-mediated regulation at the dedifferentiation step of maize somatic embryogenesis // *International Journal of Scientific Reports*. 2019. Vol. 9. No. 1. DOI: 10.1038/s41598-019-50962-y.
67. Seldimirova O. A., Kruglova N. N., Titova G. E., Batygina T. B. Comparative ultrastructural analysis of the *in vitro* microspore embryoids and *in vivo* zygotic embryos of wheat as a basis for understanding of cytophysiological aspects of their development // *Russian Journal of Developmental Biology*. 2017. Vol. 48. No. 3. P. 185–197. DOI: 10.1134/S1062360417030109.
68. Seldimirova O. A., Kudoyarova G. R., Katsuhara M., Galin I. R., Zaitsev D. Yu., Kruglova N. N., Veselov D. S., Veselov S. Yu. Dynamics of the contents and distribution of ABA, auxins and aquaporins in developing caryopses of an ABA-deficient barley mutant and its parental cultivar // *Seed Science Research*. 2019. Vol. 29. Iss. 4. P. 1–9. DOI: 10.1017/S0960258519000229.

69. Soboleva M. I., Loginov I. V. Statistical parameters reflecting morphogenetic capacity of soft spring wheat calluses // Russian Journal of Plant Physiology. 2004. Vol. 51. No. 2. P. 287–296.
70. Galovic V., Kotaranin Z., Dencic S. *In vitro* assessment of wheat tolerance to drought // Genetika. 2005. Vol. 37. No. 2. P. 165–171.
71. Farshadfar E., Jamshidi B., Cheghamirza K., da Silva J. A. T. Evaluation of drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using *in vivo* and *in vitro* techniques // Annals of Biological Research. 2012. Vol. 3. No. 1. P. 465–476.
72. Bouiamrine E. H., Diouri M. Response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) callus culture to osmosis induced drought stress caused by polyethylene glycol (PEG) // Annals of Biological Research. 2012. Vol. 3. No. 9. P. 4555–4563.
73. Maleki M., Ghorbanpour M., Nikabadi S., Wani S. H. *In vitro* screening of crop plants for abiotic stress tolerance // Recent Approaches in Omics for Plant Resilience to Climate Change // Ed. by Wani S. Cham: Springer, 2019. P. 75–91. DOI: 10.1007/978-3-030-21687-0_4.
74. Rosseev V. M., Belan I. A., Rosseeva L. P. Testing *in vitro* of spring soft wheat for drought resistance // Bulletin of Altai State Agricultural University. 2011. Vol. 76. No. 2. P. 32–34.
75. Tagimanova D. S., Ergalieva A. Zh., Raiser O. B., Khapilina O. N. Evaluation of spring soft wheat genotypes for drought resistance in *in vitro* conditions // Biotechnology. Theory and practice. 2013. No. 2. P. 42–46.
76. Shakirova F., Allagulova C., Maslennikova D., Fedorova K., Yuldashev R., Lubyanova A., Bezrukova M., Avalbaev A. Involvement of dehydrins in 24-epibrassinolide-induced protection of wheat plants against drought stress // Plant Physiology and Biochemistry. 2016. Vol. 108. P. 539–548. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.07.013.
77. Seldimirova O. A., Bezrukova M. V., Galin I. R., Lubyanova A. R., Shakirova F. M., Kruglova N. N. 24-epibrassinolide effect on *in vitro* callus tissue formation, growth, and regeneration in wheat varieties with contrasting drought resistance // Russian Journal of Plant Physiology. 2017. Vol. 64. No. 6. P. 919–929. DOI: 10.1134/S1021443717060085
78. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Bezrukova M. V., Shakirova F. M. Model system “embryo–callus–regenerant” in wheat for the rapid assessment of the effect of 24-epibrassinolide // Ecobiotech. 2020. Vol. 3. No. 3. P. 331–336. DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-3-331-336.
79. Seldimirova O. A., Kruglova N. N., Bezrukova M. V., Shakirova F. M. Wheat regenerants in the system of rapid assessment of the effect of 24-epibrassinolide // Biomics. 2020. Vol. 12. No. 3. P. 394–397. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-30.
80. Sallam A., Alqudah A. M., Dawood M. F., Baenziger P. S., Borner A. Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research // International Journal of Molecular Sciences. 2019. Vol. 20. No. 13. DOI: 10.3390/ijms20133137.

UDC 581.3: 576.3:576.535:577.175.152

Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E.

CALLUS CULTURE *IN VITRO* IN THE EXPERIMENTAL EVALUATION OF DROUGHT RESISTANCE IN CEREALS (REVIEW)

Summary. *One of the directions in plant biotechnological research is the use of callus cultures in vitro. The callus is an integrated system that is formed both exogenously (as a result of the proliferation of surface cells of various tissues of the plant organism) and endogenously (in the depth of these tissues). Initially, callus consists of homogeneous cells gradually transformed into a system of groups of heterogeneous cells with specific morphogenetic potencies. These potencies are realized by various ways of morphogenesis in vitro, including those leading to the formation of full-fledged plants-regenerants. In this review, using cereals as an example, we analyze the literature and our data on the use of calli in vitro as experimental systems for studying the plant stress-resistance to abiotic factors, especially to the drought factor. The advantages and limitations of using callus cultures in vitro are considered. The prospects of studying the mechanisms of action of abiotic stressors and resistance to them at the cellular and tissue levels under model conditions of callus culture in vitro are shown. Attention is paid to the assessment of the drought resistance of cereals under selective conditions simulating drought in vitro by*

such a parameter as the growth activity of calli. The issue of studying anti-stress effects in callus cultures in vitro is analyzed on the example of brassinosteroids. The prospects of using the model system “immature embryo in vivo–embryonic morphogenic callus in vitro” for rapid assessment of the effect of anti-stress plant growth regulators are considered. It is emphasized that the basis for using calli as the model system is both the significant role of the cell in all morphogenetic events of the plant organism in vivo and in vitro and the similarity of the responses of plants in vivo, calli in vitro, regenerants of callus origin in vitro and ex vitro.

Keywords: *callus in vitro, model systems, drought, stress-resistance, cereals.*

Круглова Наталья Николаевна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории физиологии растений Уфимского Института биологии – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: kruglova@anrb.ru.

Сельдмирова Оксана Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии растений Уфимского Института биологии – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: o_seldimirova@mail.ru.

Зинатуллина Анна Евгеньевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории физиологии растений Уфимского Института биологии – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; aneta@ufaras.ru.

Kruglova Natalia Nikolaevna, Dr. Sc. (Biol.), professor, chief researcher at the Laboratory of plant physiology of the Ufa Institute of biology – subdivision of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences; 69, Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: kruglova@anrb.ru.

Seldimirova Oksana Aleksandrovna, Cand. Sc. (Biol.), leading researcher at the Laboratory of plant physiology of the Ufa Institute of biology – subdivision of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences; 69, Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: o_seldimirova@mail.ru.

Zinatullina Anna Evgen'evna, Cand. Sc. (Biol.), researcher at the Laboratory of plant physiology of the Ufa Institute of biology – subdivision of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences; 69, Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: aneta@ufaras.ru.

Дата поступления в редакцию – 12.02.2021.

Дата принятия к печати – 26.02.2021.