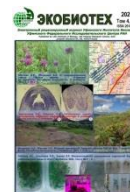




ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАНТОВ ГИБРИДНЫХ КОМБИНАЦИЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И *EX VITRO*

Зинатуллина А.Е.^{1*}, Никонов В.И.²

¹ Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН РАН, Уфа

² Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства УФИЦ РАН, Уфа

*E-mail: aneta@ufaras.ru

Засуха – сочетание климатических условий, ведущее к длительному дефициту воды в почве и воздухе. Это один из наиболее распространенных абиотических стресс-факторов, приводящий к значительным потерям урожая сельскохозяйственных растений и возникновению угрозы продовольственной безопасности. Исследователями активно разрабатываются способы создания засухоустойчивых районированных сортов экономически важных сельскохозяйственных культур и особенно хлебных злаков как основного продовольственного ресурса. Такие сорта должны сохранять относительно высокий показатель урожая при дефиците воды в почве и воздухе.

Цель работы состояла в лабораторной оценке в условиях *in vitro* и *ex vitro* регенерантов пшеницы, образовавшихся в эмбриокультуре *in vitro* в условиях, селективных по показателю «засухоустойчивость». Использовали методы эмбриокультуры *in vitro*, лабораторной оценки всхожести зерновок, гистологического анализа, а также статистическую обработку полученных результатов.

В условиях экспериментов *in vitro* на селективной среде, имитирующей засуху введением маннита в концентрации 8 % в качестве осмотика, получены регенеранты 5-ти гибридных комбинаций пшеницы, проявивших толерантность к стрессу. Показано, что развитие регенерантов *in vitro* и *ex vitro* проходит согласно тех же фенологических фаз и в той же их продолжительности, что и у донорных растений. Регенеранты формируют зерновки достаточно высокого качества, что подтверждается лабораторными наблюдениями их всхожести и гистологическим анализом проростков.

Ключевые слова: зародыш, ♦ отзывчивость ♦ эмбриокультура *in vitro* ♦ засуха ♦ яровая мягкая пшеница ♦ *Triticum aestivum* L.

LABORATORY EVALUATION OF REGENERATES OF WHEAT HYBRID COMBINATIONS *IN VITRO* AND *EX VITRO* CONDITIONS

Zinatullina A.E.^{1*}, Nikonov V.I.²

¹ Ufa Institute of Biology of the UFRC RAS, Ufa

² Bashkir Research Institute of Agricultural Sciences of UFRC RAS, Ufa

*E-mail: aneta@ufaras.ru

Drought is the combination of climatic conditions that leads to a long-term shortage of water in the soil and air. This is one of the most common abiotic stress factors that leads to significant losses of crop yield and the emergence of a threat to food security. Researchers are actively developing ways to create drought-resistant zoned varieties of economically important agricultural crops and especially cereals as the main food resource. Such varieties should maintain a relatively high yield rate with a shortage of water in the soil and air.

The aim of the work was the laboratory evaluation *in vitro* and *ex vitro* of wheat regenerants formed in the embryo culture *in vitro* under conditions selective for the indicator "drought resistance". Methods of embryo culture *in vitro*, laboratory evaluation of caryopsis viability, histological analysis, as well as statistical processing of the received results were used.

Under the conditions of *in vitro* experiments on the selective medium simulating drought by introducing mannitol at the concentration of 8% as an osmotic, regenerants of 5 hybrid wheat combinations that showed tolerance to stress were obtained. It is shown that the development of regenerants *in vitro* and *ex vitro* pass according to the same phenological phases and in the same duration as donor plants. Regenerants form caryopses of sufficiently high quality, which is confirmed by laboratory observations of their viability and histological analysis of seedlings.

Keywords: embryo ♦ responsibility ♦ embryo culture *in vitro* ♦ drought ♦ spring soft wheat ♦ *Triticum aestivum* L.

Поступила в редакцию: 15.06.2021

DOI: [10.31163/2618-964X-2021-4-2-81-88](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2021-4-2-81-88)

ВВЕДЕНИЕ

Эффективность селекционных разработок в области ресурсосведения яровой мягкой пшеницы базируется главным образом на реализации адаптивного потенциала полученных гибридных линий и сортов. Биотехнологический подход культивирования *in vitro* зародышей дает возможность выявить и пути адаптивного морфогенеза не только зародыша, но и особи в целом, поскольку зародыш характеризуется наличием всего потенциала взрослого организма (Терехин, 1996; Эмбриология цветковых растений, 2000; Батыгина, 2014; Круглова и др., 2019, 2020; Kruglova et al., 2020a,b; Tian et al., 2020).

Засуха – сочетание неблагоприятных климатических условий, ведущее к длительному дефициту воды в почве и воздухе (Кузнецов, Дмитриева, 2011; Кудоярова и др., 2013). Это наиболее распространенный абиотический стресс-фактор не только в засушливых, но и полувасушливых регионах мира (Nezhadahmadi et al., 2013). Стресс-фактор засухи приводит к значительным потерям урожая сельскохозяйственных культур, вплоть до возникновения угрозы продовольственной безопасности. Высказано мнение, что недостаток воды в почве наносит значительно больший вред растениеводству, чем все другие стрессовые факторы, вместе взятые (Дубровная, 2017; Пикало и др., 2020). О чрезвычайной актуальности решения проблемы засухоустойчивости растений свидетельствует обширнейшая литература (обзоры: Круглова и др., 2018; Kruglova et al., 2018; Chaichi et al., 2019; Sallam et al., 2019; Sattar et al., 2019; Пикало и др., 2020; El-Mowafi et al., 2021; Jogawat et al., 2021; Yadav et al., 2021).

Засуха расценивается как основной неблагоприятный экологический фактор на Южном Урале. Проблема получения новых пластичных и устойчивых к засухе сортов яровой мягкой пшеницы, перспективных для районирования в условиях воздействия экстремальных температур внешней среды, в регионе стоит очень остро.

Один из биотехнологических подходов к оценке засухоустойчивости растений предполагает использование регенерантов, полученных из зародышей в результате экспериментов *in vitro* на питательной среде, создающей имитацию дефицита влаги (Круглова, 2012а,б, 2013, 2014; Сельдимирова и др., 2018; Круглова, Сельдимирова, 2020). Такой подход дает возможность экспресс-оценки устойчивости создаваемого сорта к фактору засухи, поскольку использование зародышей сокращает время экспериментальных исследований в сравнении с проростками (Круглова, 2019).

В литературе предложено использование различных осмотических агентов-имитаторов засухи: сахара, хлорид натрия, маннит, сорбит и наиболее часто – полиэтиленгликоль с молекулярной массой 6000 Да (ПЭГ 6000), снижающий осмотический потенциал питательной среды, но не проникающий в растительные клетки (Бычкова, Хлебцова, 2015; Круглова и др., 2018, 2021; Парфенова и др., 2018; Ступко и др., 2019; Freitas et al., 2020).

Важную роль в экспериментальном выявлении генотипов злаковых растений по устойчивости к засухе играет и адекватная концентрация селективного агента: при низких концентрациях устойчивость к стрессу может не проявляться, тогда как концентрации, превышающие некий показатель, могут оказаться летальными. В работе О.А. Сельдимировой (2019) на основании детального анализа влияния ряда концентраций ПЭГ 6000 и маннита на ростовые показатели и гистологический статус проростков пшеницы выявлено, что методически более удобным в использовании, в сравнении с ПЭГ 6000, является маннит; для оценки засухоустойчивости автор рекомендует сублетальную концентрацию в 8 %.

Исследования устойчивости к засухе коллекции гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы, разработанных в лаборатории селекции яровой пшеницы Башкирского НИИ СХ УФИЦ РАН, ранее были проведены на примере действия различных концентраций ПЭГ 6000; при этом была выявлена группа генотипов, толерантных к засухе (Круглова, 2013, 2014). Целью данной статьи явилось продолжение этого направления исследований, а именно лабораторная оценка *in vitro* и *ex vitro* регенерантов, полученных из незрелых зародышей той же коллекции гибридных комбинаций пшеницы, однако моделирование засухи вели введением 8 %-го маннита.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования послужили 10 гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы, разработанных в лаборатории селекции яровой пшеницы Башкирского научно-исследовательского института сельского хозяйства УФИЦ РАН: Боевчанка х Башкирская 26, Боевчанка х Ирень, Башкирская 26 х Экада 70, Воронежская 16 х Л42833, Дуэт х Башкирская 28, Л42938 х Салават Юлаев, Л42875 х Экада 70, Л42809 х Л42866, Л42875 х 76/98а, Э43018 х Тулайковская золотистая.

В качестве донорных использовали растения, выращенные в полевых условиях научного стационара Уфимского института биологии УФИЦ РАН (Уфимский район) в течение вегетационного сезона 2020 г.

Был использован метод эмбриокультуры *in vitro* яровой мягкой пшеницы с разработке (Круглова, Катасонова, 2009; Круглова, Сельдимирова, 2011; Основы биотехнологии ..., 2017), при этом учитывались эмбриологические и физиологические показатели эксплантов. Необходимую стадию развития незрелого зародыша выявляли по способности эксплантов, инокулированных на последовательных стадиях развития, завершить эмбриогенез и дать нормальные проростки *in vitro* на безгормональной среде (по: Батыгина, 2014). Такую среду готовили по (Murashige, Skoog, 1962) без добавления гормонов (культуральная среда I). Использовали периодизацию эмбриогенеза пшеницы (Круглова, 2012в): I – этап недифференцированного зародыша (стадии зиготы, двуклеточного, четырехклеточного и многоклеточного зародыша), II – этап дифференциации зародыша (стадия органогенеза с 3 подстадиями), III – этап дифференцированного зародыша (стадии сформированного и зрелого зародыша).

Оценку засухоустойчивости незрелых зародышей проводили по их отзывчивости в виде формирования нормальных проростков в условиях *in vitro*, имитирующих дефицит влаги введением в состав полной среды Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962) осмотика маннита в концентрации 8 %, согласно (Сельдимирова, 2019), без добавления гормонов (культуральная среда II). Провели гистологический анализ проростков, сформировавшихся на селективной среде II, с использованием методики подготовки постоянных препаратов (Световой микроскоп., 2013), при этом препараты окрашивали по Фельгену с подкрашиванием гематоксилином по Эрлиху. Препараты анализировали с использованием микроскопа проходящего света Микровизор μ Vizo-103 (ЛОМО ФОТОНИКА, г. Санкт-Петербург).

Полученные проростки переносили на культуральную среду III, составленную по прописи D.Blaydes (1966), и выращивали до фенофазы кущения. Затем регенеранты переносили в условия *ex vitro* в сосуды с почвенной смесью. Развитие регенерантов до фенологической фазы полной зрелости зерна проходило на светоплощадке

при температуре +20 ...22⁰С и освещенности 16-18 тыс лк, в режиме фотопериода 16 ч свет/8 ч темнота.

Провели оценку всхожести зрелых зерновок регенерантов (Диагностика ..., 1988).

Статистическую обработку полученных результатов провели на основе программы Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментально с использованием культуральной среды I выявили, что стадия развития незрелого зародыша изучаемых гибридных комбинаций пшеницы соответствует сформированному зародышу (по периодизации эмбриогенеза пшеницы: Круглова, 2012в). Незрелые зародыши такой стадии характеризуются такими временными и морфологическими показателями: 17.5-20.0 сут после опыления, средняя длина 2.2 мм. Гистологически выявили, что в зародышах наличествуют все типичные для злаков органы: щиток (семядоля), лигула (вырост щитка), колеоптиль, эпипласт, колеориза, зародышевый корень, а также дифференцированная почечка, состоящая из апекса побега и первого листа.

Незрелые зародыши на такой стадии размещали *in vitro* на среду II.

Выявлено, что в условиях проведенных экспериментов происходило прекращение развития и отмирание незрелых зародышей гибридных комбинаций Боевчанка x Башкирская 26, Боевчанка x Ирень, Л42809 x Л42866, Дуэт x Башкирская 28, Воронежская 16 x Л42833. Незрелые же зародыши гибридных комбинаций Башкирская 26 x Экада 70, Э43018 x Тулайковская золотистая, Л42875 x 76/98а, Л42938 x Салават Юлаев Л42875 x Экада 70 в условиях имитации засухи *in vitro* на культуральной среде II формировали проростки.

Данные по формированию/отсутствию формирования проростков через 9 сут культивирования незрелых зародышей пшеницы *in vitro* на культуральной среде II приведены в таблице 1.

Таблица 1. Формирование проростков из незрелых зародышей гибридных комбинаций пшеницы в селективных условиях культуры *in vitro* с введением маннита (8%)

Гибридная комбинация	Количество проростков, % от инокулированных зародышей
Э43018 x Тулайковская золотистая	13.9±3.4 ²
Л42875 x Экада 70	7.3±3.3 ²
Л42875 x 76/98а	4.2±0.6 ²
Башкирская 26 x Экада 70	4.1±1.3 ¹
Л42938 x Салават Юлаев	3.5±0.9 ³
Боевчанка x Ирень	0
Дуэт x Башкирская 28	0
Л42809 x Л42866	0
Воронежская 16 x Л42833	0
Боевчанка x Башкирская 26	0

Примечание: ¹ – значимо на 0.1%-м уровне, ² – значимо на 1.0%-м уровне, ³ – значимо на 5.0%-м уровне

В целом, гибридные комбинации пшеницы Э43018 x Тулайковская золотистая, Л42875 x Экада 70, Л42875 x 76/98а, Башкирская 26 x Экада 70, Л42938 x Салават Юлаев оценены как перспективные стресс-толерантные, поскольку их незрелые зародыши в условиях имитации засухи *in vitro* формируют проростки нормальной морфологии.

Эти данные совпадают с ранее проведенной селективной оценкой этих же генотипов путем использования ПЭГ 6000 (12 %) в качестве имитатора засухи (Круглова, 2013).

Гистологический анализ подтвердил нормальное строение апексов побега и корня таких 9-суточных проростков (на рисунке данные приведены для проростков гибридной комбинации Э43018 х Тулайковская золотистая).

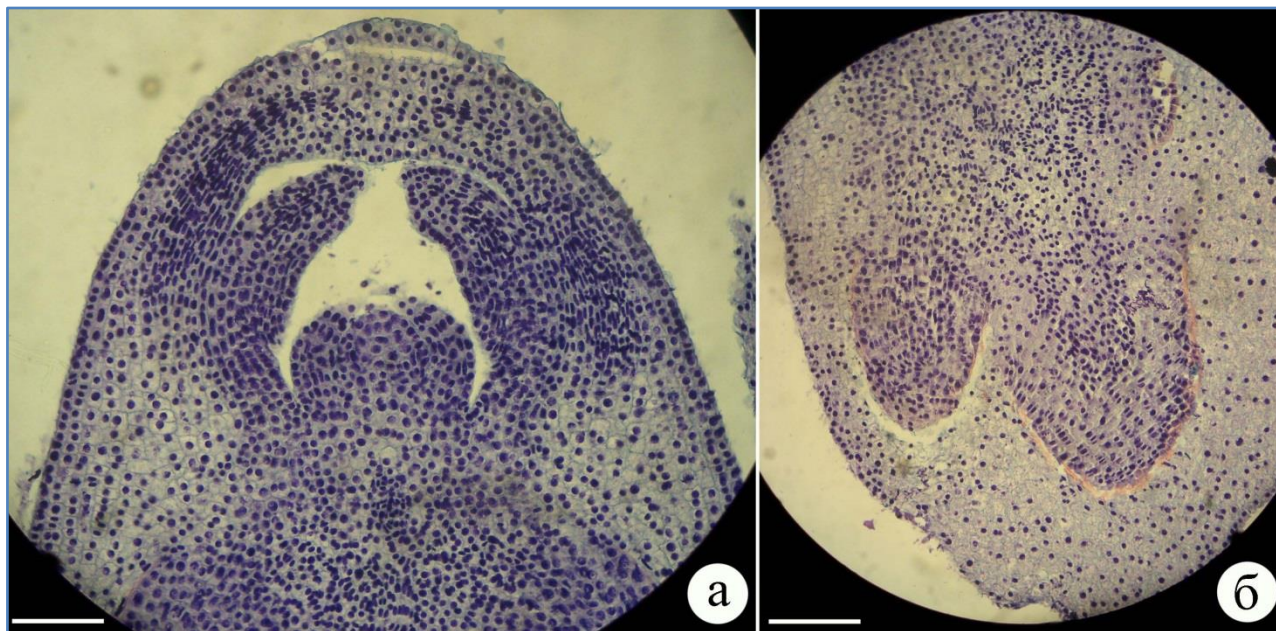


Рис. Апексы побега (а) и корня (б) проростка пшеницы гибридной комбинации Э43018 х Тулайковская золотистая на 9 сут культивирования *in vitro* в условиях имитации засухи. Продольные срезы. Световая микроскопия. Масштабная линейка: 100 мкм.

Проростки выявленных стресс-толерантных гибридных комбинаций пшеницы переносили на среду III и после культивирования *in vitro* в течение 30-35 сут получили растения-регенеранты в фенофазе кущения.

Для дальнейших экспериментов регенеранты размещали в условия *ex vitro* в сосуды с почвенной смесью. Развитие регенерантов проходила на светоплощадке при температуре +20 ... 22°C и освещенности 16-18 тыс лк, в режиме фотопериода 16 ч света/8 ч темноты.

Вегетация регенерантов *ex vitro* шла сходно с развитием пшеницы в полевых условиях (Челак, 1991) по последовательности прохождения фенологических фаз (выход в трубку, стеблевание, колошение, цветение, молочная/восковая/полная спелость зерна) и по продолжительности этих фенологических фаз.

В фенофазе полной спелости зерна дали оценку всхожести зерновок регенерантов способом проращивания при +27°C в темноте в течение 3 сут. В результате выявлена достаточно высокая лабораторную всхожесть зерновок (табл. 2).

Таблица 2. Лабораторная всхожесть зерновок регенерантов гибридных комбинаций пшеницы

Гибридная комбинация	Лабораторная всхожесть зерновок, %
Э43018 х Тулайковская золотистая	91.1±1.4
Л42875 х Экада 70	83.7±5.3
Л42875 х 76/98а	90.8±3.6
Башкирская 26 х Экада 70	92.1±6.2
Л42938 х Салават Юлаев	82.4±3.7

Примечание: все показатели значимы на 5.0%-м уровне

ВЫВОДЫ

Данные по формированию проростков из незрелых зародышей в модельных условиях *in vitro* на питательных средах, имитирующих засуху введением осмотика маннит в концентрации 8 %, позволили выявить 5 толерантных к засухе гибридных комбинаций пшеницы (получены в лаборатории селекции яровой пшеницы Башкирского НИИ СХ УФИЦ РАН).

Стресс-толерантные регенеранты в условиях *in vitro* и *ex vitro* развиваются согласно тем же фенологическим фазам и той же их продолжительности, что и донорные растения. Регенеранты формируют зерновки высокого качества, что подтверждается лабораторной оценкой их всхожести и данными гистологического анализа.

Полученные результаты, а также результаты аналогичных исследований этих же генотипов с использованием ПЭГ 6000, имитирующим засуху, позволяют рекомендовать выявленные 5 гибридных комбинаций к использованию в качестве перспективных в селекционных исследованиях по признаку «засухоустойчивость».

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А18-118022190099-6 и договора о творческом сотрудничестве между Уфимским институтом биологии УФИЦ РАН и Башкирским НИИ СХ УФИЦ РАН на 2018-2023 гг.

В ходе экспериментальных исследований использована приборная база Центра коллективного пользования «Агидель» УФИЦ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батыгина Т.Б. Биология развития растений. СПб.: Изд-во ДЕАН, 2014. 764 с.
2. Бычкова О.В., Хлебова Л.П. Физиологическая оценка засухоустойчивости яровой твердой пшеницы // Acta Biologica Sibirica. 2015. Т. 1. № 1–2. С. 107–116.
3. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: методическое руководство / Под ред. Г.В. Удовенко. Л.: ВИР, 1988. 228 с.
4. Дубровная О.В. Селекция пшеницы *in vitro* на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам // Физиология растений и генетика. 2017. Т. 49. № 4. С. 279–292.
5. Круглова Н.Н. Оптимизация биотехнологии получения растений пшеницы в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012а. № 3. С. 57–61.
6. Круглова Н.Н. Оценка коллекции генотипов яровой мягкой пшеницы по устойчивости автономных зародышей *in vitro* на селективных средах, имитирующих засуху // Известия Самарского научного центра РАН. 2012б. Т. 16. № 1. С. 2243–2245.
7. Круглова Н.Н. Периодизация эмбриогенеза пшеницы как методологический аспект биотехнологических разработок // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012в. № 1. С. 56–61.
8. Круглова Н.Н. Лабораторная оценка регенерантов пшеницы, полученных в экспериментальной селективной эмбриокультуре *in vitro* // Пермский аграрный вестник. 2013. № 1. С. 35–38.
9. Круглова Н.Н. Выявление автономности зародыша пшеницы как этап разработки экспресс-диагностической биотехнологии получения засухоустойчивых образцов // Пермский аграрный вестник 2014. № 1 (5). С. 38–43.

10. *Круглова Н.Н.* Инновационная биотехнология андроклиной гаплоидии пшеницы на основе комплекса эмбриологических и цитофизиологических данных // *Экобиотех*. 2019. Т. 2. № 3. С. 234–245. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-3-234-245](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-234-245)
11. *Круглова Н.Н., Катасонова А.А.* Незрелый зародыш пшеницы как морфогенетически компетентный эксплант // *Физиология и биохимия культурных растений*. 2009. Т. 41. № 2. С. 124–131.
12. *Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А.* Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
13. *Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А.* Система «зародыш *in planta*–калтус *in vitro*»: цитофизиологические аспекты (на примере пшеницы) // *Биомика*. 2020. Т. 12. № 2. С. 180–189. DOI: [10.31301/2221-6197.bmcs.2020-8](https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2020-8)
14. *Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е.* Калтус 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](https://doi.org/10.7868/S0042132418030067)
15. *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](https://doi.org/10.1134/S0042132419040057)
16. *Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. и др.* Зародыш цветковых растений в критическую стадию относительной автономности эмбриогенеза (на примере злаков) // *Онтогенез*. 2020. Т. 51. № 1. С. 3–18. DOI: [10.31857/S0475145020010024](https://doi.org/10.31857/S0475145020010024)
17. *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](https://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-1-25-124-139)
18. *Кудоярова Г.Р., Холодова В.П., Веселов Д.С.* Современное состояние проблемы водного баланса растений при дефиците воды // *Физиология растений*. 2013. Т. 60. № 2. С. 155–165. DOI: [10.7868/S0015330313020140](https://doi.org/10.7868/S0015330313020140)
19. *Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А.* Физиология растений. М.: Абрис, 2011. 783 с.
20. Основы биотехнологии растений / Б.Р. Кулуев, Н.Н. Круглова, А.А. Зарипова, Р.Г. Фархутдинов. Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. 244 с.
21. *Парфенова Е.С., Шамова М.Г., Набатова Н.А., Псарева Е.А.* Оценка относительной засухоустойчивости сортов озимой ржи способом проращивания на растворе сахарозы // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2018. № 11. Ч. 2. С. 347–351. DOI: [10.17513/mjpf.12503](https://doi.org/10.17513/mjpf.12503)
22. *Пикало С., Демидов О., Юрченко Т. и др.* Методи оцінки посухостійкості селекційного матеріалу пшениці // *Вісник Львівського університету. Серія. біологічна*. 2020. Вип. 82. С. 63–79. DOI: [10.30970/vlubs.2020.82.05](https://doi.org/10.30970/vlubs.2020.82.05)
23. Световой микроскоп как инструмент в биотехнологии растений / Н.Н. Круглова, О.В. Егорова, О.А. Сельдимирова, Д.Ю. Зайцев, А.Е. Зинатуллина. Уфа: Гилем, 2013. 128 с.
24. *Сельдимирова О.А.* Тестирование селективных агентов для оценки яровой мягкой пшеницы на устойчивость к засухе // *Экобиотех*. 2019. Т. 2. № 1. С. 51–62. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-1-51-62](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-51-62)
25. *Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Никонов В.И.* Оценка коллекции генотипов яровой мягкой пшеницы по отзывчивости эксплантов на условия культуры *in vitro* как биотехнологического приёма // *Экобиотех*. 2018. Т. 1. № 2. С. 71–79. DOI: [10.31163/2618-964X-2018-1-2-71-79](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2018-1-2-71-79)

26. Ступко В.Ю., Зобова Н.В., Сидоров А.В., Гаевский Н.А. Перспективные способы оценки яровой мягкой пшеницы на чувствительность к эдафическим стрессам // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33. № 10. С. 45–50. DOI: [10.24411/0235-2451-2019-11010](https://doi.org/10.24411/0235-2451-2019-11010)
27. Терёхин Э.С. Семя и семенное размножение. СПб.: Мир и семья, 1996. 376 с.
28. Челак В.Р. Система размножения пшеницы *Triticum* L. Кишинев: Штиинца, 1991. 320 с.
29. Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3: Системы репродукции / Батыгина Т.Б. (ред.). СПб.: Мир и семья, 2000. 639 с.
30. Blaydes D.F. Interaction of kinetin and various inhibitors in the growth of soybean // *Physiol. Plant.* 1966. V. 19. P. 748–753.
31. Chaichi M., Sanjarian F., Razavi K., Gonzalez-Hernandez J.L. Phenotypic diversity among Iranian bread wheat landraces, as a screening tool for drought tolerance // *Acta Physiologiae Plantarum.* 2019. Vol. 41. DOI: [10.1007/s11738-019-2882-1](https://doi.org/10.1007/s11738-019-2882-1)
32. El-Mowafi H.F., Al Kahtani M.D.F., Abdallah R.M. et al. Combining Ability and Gene Action for Yield Characteristics in Novel Aromatic Cytoplasmic Male Sterile Hybrid Rice under Water-Stress Conditions // *Agriculture.* 2021. V. 11. No. 3: 226. DOI: [10.3390/agriculture11030226](https://doi.org/10.3390/agriculture11030226)
33. Freitas W.C., Medina P.F., Giomoto G.S., Almeida J.A.S. PEG 6000 and sucrose in the control of the direct somatic embryogenesis capacity in *Coffea arabica* L. // *Journal of Global Biosciences.* 2020. V. 9. P. 7364–7376. <https://mutagens.co.in/jgb/vol.09/05/090507.pdf>
34. Jogawat A., Yadav B., Chhaya et al. Crosstalk between phytohormones and secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review // *Physiologia Plantarum.* 2021. DOI: [10.1111/ppl.13328](https://doi.org/10.1111/ppl.13328)
35. 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 Review.* 2018. V. 8. P. 518–526. DOI: [10.1134/S2079086418060063](https://doi.org/10.1134/S2079086418060063)
36. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Structural features and hormonal regulation of the zygotic embryogenesis in cereals // *Biology Bulletin Review.* 2020a. V. 10. P. 115–126. DOI: [10.1134/S2079086420020048](https://doi.org/10.1134/S2079086420020048)
37. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A. et al. Embryo of Flowering Plants as the Critical Stage of Embryogenesis relative Autonomy (by Example of Cereals) // *Russian Journal of Developmental Biology.* 2020b. V. 51. P. 1–15. DOI: [10.1134/S1062360420010026](https://doi.org/10.1134/S1062360420010026)
38. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. № 3. P. 473–497.
39. 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](https://doi.org/10.1155/2013/610721)
40. Sallam A., Alqudah A.M., Dawood M.F. et al. Drought Stress Tolerance in Wheat and Barley: Advances in Physiology, Breeding and Genetics Research // *International Journal of Molecular Science.* 2019. V. 20. DOI: [10.3390/ijms20133137](https://doi.org/10.3390/ijms20133137)
41. 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. V. 3. P. 510–528. DOI: [10.29329/ijjaar.2019.206.16](https://doi.org/10.29329/ijjaar.2019.206.16)
42. Tian R., Paul P., Joshi S. et al. Genetic activity during early plant embryogenesis // *Biochemical Journal.* 2020. V. 477. P. 3743–3767. DOI: [10.1042/BCJ20190161](https://doi.org/10.1042/BCJ20190161)
43. Yadav B., Jogawat A., Rahman M.S., Narayan O.P. Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review // *Gene Reports.* 2021. V. 23. DOI: [10.1016/j.genrep.2021.101040](https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101040)