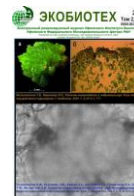




# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



Обзор

## ИННОВАЦИОННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ АНДРОКЛИНОЙ ГАПЛОИДИИ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИХ И ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ

Круглова Н.Н.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального  
исследовательского центра РАН, Уфа  
E-mail: [kruglova@anrb.ru](mailto:kruglova@anrb.ru)

Рассмотрены основные этапы авторской биотехнологии получения гаплоидных регенерантов яровой мягкой пшеницы на основе биологического феномена андроклиной гаплоидии. Особое внимание уделено микроспоровому эмбриоидогенезу как биотехнологически оптимальному пути морфогенеза в культуре пыльников *in vitro*. Подчеркивается важность комплексного использования эмбриологических, физиологических и цитологических данных при решении различных проблем биотехнологии андроклиной гаплоидии растений.

*Ключевые слова:* пыльник, микроспора, культура *in vitro*, пшеница

## INNOVATIVE BIOTECHNOLOGY OF WHEAT ANDROCLYNAL HAPLOIDY ON THE BASIS OF EMBRYOLOGICAL AND CYTOPHYSIOLOGICAL DATA IN COMPLEX

Kruglova N.N.

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of  
the Russian Academy of Sciences, Ufa  
E-mail: [kruglova@anrb.ru](mailto:kruglova@anrb.ru)

The main stages of the author's biotechnology of obtaining haploid regenerants of spring soft wheat based on the biological phenomenon of androclinal haploidy are considered. The special attention is paid to microspore embryoidogenesis as biotechnologically optimal pathway of morphogenesis in anther culture *in vitro*. The importance of integrated use of biological, physiological and cytological data in solving various problems of biotechnology androclinal haploidy in plants is emphasizes.

*Keywords:* anther, microspore, culture *in vitro*, wheat

*Поступила в редакцию:* 1.07.2019

[DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-3-234-245](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-234-245)

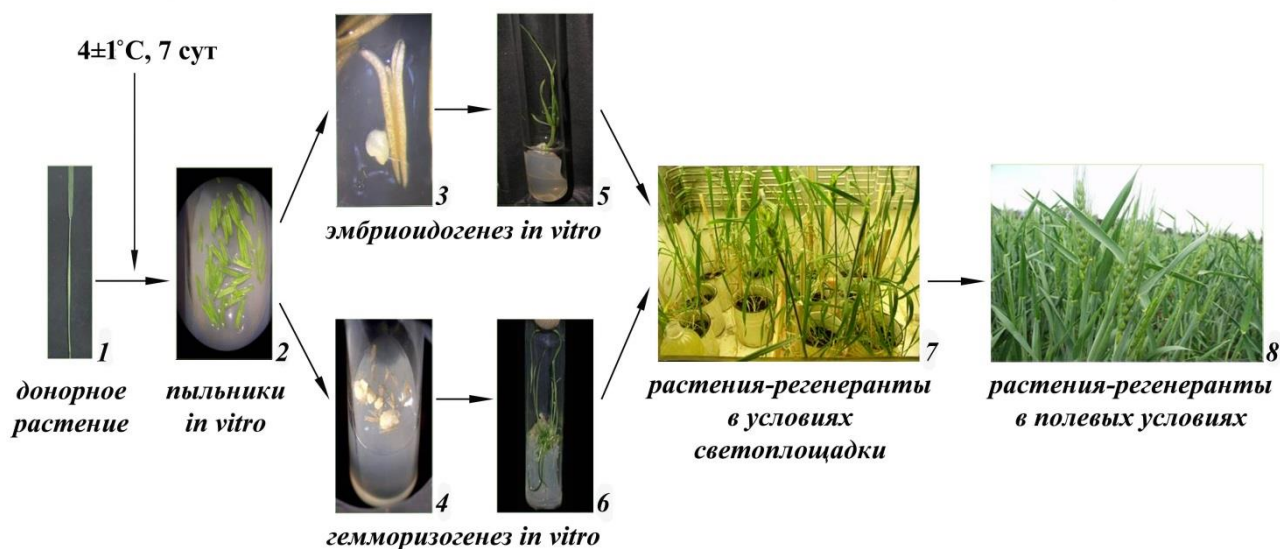
Интереснейший биологический феномен андроклинии состоит в переключении программы развития гаплоидных клеток пыльника с обычного гаметофитного пути, связанного с образованием пыльцевого зерна (мужского гаметофита), на иной путь – спорофитный, состоящий в формировании гаплоидного растения-регенеранта (по [Круглова и др., 2005]). Открытие явления андроклинии у растений [Guha, Maheshwari, 1964] можно охарактеризовать как одно из самых значительных в биологии растений за последние годы.

Андроклиная гаплоидия – эффективный биотехнологический подход, перспективный в современных генетико-селекционных исследованиях растений, имеющий несомненный инновационный характер. Основное преимущество использования гаплоидов в коммерческой селекции состоит в возможности быстрого получения гомозиготных константных гаплоидных гибридов 1-го поколения, сохраняющих в генотипе хозяйственно ценные признаки родительских форм. Использование полученных клонов облегчает отбор фенотипов по качественным и количественным признакам и дает возможность ускорить оценку перспективности полученных гибридов. Перевод гаплоидов в дигаплоидное состояние позволяет получать полноценные семена таких растений. В целом, андроклинные гаплоиды и дигаплоиды активно используются с конца прошлого века при биотехнологических и селекционно-генетических исследованиях хозяйственно ценных растений, в том числе хлебных злаков (обзоры и монографии [Горбунова, 1993; Pollen biotechnology..., 1997; Anther and pollen, 1999; Datta, 2001; Круглова и др., 2005; Advances in

Haploid Production., 2009; Батыгина и др., 2010; Dunwell, 2010; Seguí-Simarro, 2010; Игнатова, 2011; Круглова, Сельдимирова, 2011; Ferrie, Caswell, 2011; Germana, 2011; Сатарова и др., 2013; Soriano et al., 2013; Takahata et al., 2013; Doubled Haploidy ..., 2016; Основы биотехнологии растений., 2017; Ren et al., 2017]).

В лаборатории экспериментальной эмбриологии растений Уфимского Института биологии УФИЦ РАН (г. Уфа) в творческом содружестве с лабораторией физиологии растений этого института и с лабораторией эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН (г. Санкт-Петербург) на основе феномена андроклинии разработана биотехнология получения гаплоидных регенерантов в культуре *in vitro* изолированных пыльников яровой мягкой пшеницы [Круглова, Батыгина, 2002; Круглова и др., 2005; Круглова, 2009а,б; Батыгина и др., 2010; Круглова, 2011; Круглова, Сельдимирова, 2011; Круглова, 2012; Основы биотехнологии ..., 2017; Круглова, 2019б] (рис.).

### БИОТЕХНОЛОГИЯ АНДРОКЛИННОЙ ГАПЛОИДИИ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ



**Рис. Этапы биотехнологии андроклинной гаплоидии яровой мягкой пшеницы:** 1 – оценка фенотипических критериев донорных растений в полевых условиях; 2 – инокуляция пыльников на питательную среду в условия *in vitro*; 3 – формирование эмбриоида в условиях *in vitro*; 4 – формирование морфогенных каллусов в условиях *in vitro*; 5 – формирование растения-регенеранта из эмбриоида в условиях *in vitro*; 6 – формирование растения-регенеранта из морфогенного каллуса в условиях *in vitro*; 7 – развитие растений-регенерантов в условиях светоплощадки; 8 – развитие растений-регенерантов в полевых условиях (по: [Круглова, 2019б])

Принципиальная особенность данной биотехнологической разработки заключается в комплексном использовании эмбриологических, физиологических и цитологических данных. Такой комплексный подход вполне обоснован, поскольку а) андроклиния – особая гомофазная (по схеме: спорофит → спорофит при отсутствии чередования поколений) система размножения растений, имеющая свои параллели и аналогии с другими системами размножения; б) фитогормоны – ключевые факторы морфогенеза растений *in vitro*; в) клетка – структурная основа всех морфогенетических процессов в растениях *in vitro*.

Цель данной обзорной статьи – анализ биотехнологии получения андроклинных растений яровой мягкой пшеницы с комплексных эмбриологических и цитофизиологических позиций. Основное внимание будет уделено получению андроклинных регенерантов пшеницы через биотехнологически более оптимальный путь формирования эмбриоидов.

Уникальность андроклинии, на наш взгляд, состоит в том, что гаплоидные клетки пыльника, по природе своей предназначенные для образования в природных условиях *in vivo* гаметофитов (пыльцевых зёрен), под действием определенных стрессовых факторов меняют программу развития и в строго контролируемых условиях культуры *in vitro* формируют спорофиты (растения).

Важнейшая проблема в этой области исследования связана с понятием «инициальная клетка андроклинии» – той гаплоидной клетки пыльника, которая даёт начало растению.

Пыльник представляет собой фертильную часть тычинки, в микроспорангиях которой осуществляется микроспорогенез, образуются и созревают пыльцевые зерна-гаметофиты (по: [Батыгина, 1987, 1994; Круглова, 2002; Круглова, Зинатуллина, 2018; Круглова, 2019а]). Спорогенные клетки пыльника пшеницы, берущие начало от клеток археспория, в своём развитии проходят ряд стадий: микроспороциты, претерпевающие мейотическое деление с формированием гаплоидных микроспор, которые митотически делятся, образуя гаметофиты – двуклеточные и трёхклеточные пыльцевые зёрна. Важно подчеркнуть, что в морфогенезе пыльника находит отражение чередование поколений в жизненном цикле растения: внутри пыльника как специализированного органа спорофитного поколения на определенном этапе морфогенеза формируются пыльцевые зёрна – гаметофитное поколение. Поэтому с эмбриологических позиций инициальная клетка андроклинии – это производная клетки спорогенной ткани пыльника, гаплоидной природы (после мейотического деления), находящаяся в критической фазе развития. Такая клетка чувствительна к действию внешних стрессовых факторов-индукторов, иначе говоря, морфогенетически компетентна к переключению программы развития с гаметофитного на спорофитный путь в условиях *in vitro* [Круглова, 2002].

Нами экспериментально установлено, что оптимальная для индукции андроклинии спорогенная клетка пыльника пшеницы находится в фазе сильновакуолизированной микроспоры [Горбунова, Круглова, 1997; Круглова и др., 2000, 2005; Круглова, Батыгина, 2001; Круглова, 2002; Круглова, Куксо, 2006в; Круглова, Сельдимирова, 2011; Kruglova et al., 2017; Зинатуллина, 2019] (согласно периодизации [Круглова, 1999]). О стадии сильновакуолизированной микроспоры как наиболее благоприятной для индукции андроклинии в культуре пыльников сообщается и в других работах, выполненных на примере многих представителей семейства злаков [Liu et al., 2002; Zheng et al., 2001; Zheng, 2003; Daghma et al., 2012; Sanchez-Diaz et al., 2013; Zheng et al., 2015; Noga et al., 2016; Mayakaduwa, Silva, 2017 и др.].

Способность сильновакуолизированной микроспоры к переключению программы развития с гаметофитного пути на спорофитный *in vitro* определяется, по нашему мнению, рядом обстоятельств, главное из которых – её определенная структурная организация: наличие крупной вакуоли, крупного ядра, расположенного строго противоположно поре прорастания, что, несомненно, влияет на полярность этой клетки. В этом смысле существует структурное сходство сильновакуолизированной микроспоры и зиготы *in vivo* (в понимании Т.Б. Батыгиной, В.Е. Васильевой [1997]): наличие крупного ядра, хорошо развитой центральной вакуоли, апикально-базальная организация клетки. Возможно, существует принципиальное сходство морфологии инициальных клеток при различных системах репродукции в естественных условиях *in vivo* и в культуре *in vitro* [Батыгина, 2014; Батыгина, Осадчий, 2015]. Немаловажное значение, на наш взгляд, имеет и пограничный статус микроспоры – между спорофитным и гаметофитным поколениями растения.

В то же время в литературе приводятся данные и о других фазах развития микроспор злаков, а также клетках пыльцевых зерен злаков, проявивших свойства инициальных клеток андроклинии. Нельзя исключить и тот вариант, что морфогенетически компетентная фаза развития спорогенной клетки может зависеть и от соотношения морфометрических и архитектурных параметров цветка и соцветия и в целом от биологии цветка [Круглова, Куксо, 2006в].

Во многом реализация потенциала морфогенных микроспор определяется их тотипотентностью (термин предложен G. Haberlandt [1909]; понятие разработано Р.Г. Бутенко [1999] и Т.Б. Батыгиной [1987, 2014]) и меристематичностью, главным образом по наличию крупного ядра [Meristematic tissues ..., 2002]. Тем самым по признаку «меристематичность» микроспора структурно сходна с яйцеклеткой-зиготой, дающими начало половому зародышу при амфимиксисе, и клетками зародышевого мешка, нуцеллуса и интегумента, образующими адвентивные зародыши при апомиксисе (по [Круглова, Батыгина, 2001; Круглова, 2002]). Инициальные клетки андроклинии Т.Б. Батыгиной [Батыгина, Рудский, 2006; Батыгина и др., 2010; Батыгина, 2014; Батыгина, Осадчий, 2015] предложено рассматривать в аспекте проблемы ствольных клеток, поскольку для них характерны свойства ствольности: определенная степень тотипотентности, длительное пребывание в покое (интерфазе) перед переходом к пролиферации и способность к переключению программы развития с гаметофитной на спорофитную, т.е. переключению способа репродукции с полового на бесполой.

Нами выявлены фенотипические критерии выявления донорных растений пшеницы, содержащих в пыльниках сильновакуолизованные микроспоры [Горбунова, Круглова, 1997; Круглова, Батыгина, 2002; Круглова, Никонов, 2018]. Такие фенотипические признаки, для каждого генотипа пшеницы свои, служат морфологическими маркерами для экспресс-диагностики донорных растений в полевых условиях.

Важный этап биотехнологии – стрессовое воздействие *in situ* на пыльники, содержащие микроспоры [Круглова, Горбунова, 2001; Круглова, Куксо, 2006а; Дьячук и др., 2019]. Мы используем удобное в практике воздействие холодом в эмпирически выявленном оптимальном режиме 4<sup>0</sup>С, 7 сут [Круглова, Горбунова, 2001; Круглова, Батыгина, 2002; Круглова и др., 2005; Круглова, Сельдиминова, 2011]. В ходе цитологических исследований нами установлено, что стрессовое воздействие холодом провоцирует «отрыв» микроспор от стенки пыльника, что приводит к нарушению целостности пыльника как системы и тем самым нарушению морфогенетических корреляций между тканями стенки пыльника и микроспорами. Кроме того, холодовое воздействие приводит к изменению структурной организации микроспор (нарушению полярности). В «оторвавшихся» микроспорах подавляется экспрессия гаметофитной программы развития, нарушается детерминация нормального развития трехклеточного пыльцевого зерна (гаметофита). Отрыв микроспор от стенки пыльника нарушает интегрированность и целостность всей системы пыльника. Кроме того, микроспоры отрываются и от своего «источника питания» - клеток тапетума и тем самым испытывают, кроме холодового воздействия, дополнительный стресс в виде «голода». Таким образом, стрессовое воздействие холодом в определенном режиме является триггером спорофитного пути морфогенеза *in vitro* микроспор.

После холодовой предобработки пыльники инокулируют *in vitro* на индукционную питательную среду. Попав в условия культивирования, микроспоры получают питательные вещества из культуральной среды, тем самым получая возможность развиваться далее по спорофитной программе. В результате многократных митотических делений каждой из

клеток образовавшейся двуклеточной структуры формируется многоклеточная структура – группа клеток, располагающихся в пределах одной неповрежденной оболочки инициальной клетки андроклинии. Многоклеточная структура – обязательный этап формирования эмбриоидов при культивировании пыльников *in vitro* [Круглова, Куксо, 2006б].

Нами выявлено, что физиологически индукция формирования эмбриоида определяется балансом экзогенного ауксина 2,4-Д в индукционной питательной среде и эндогенного ауксина ИУК в пыльнике, содержащем микроспоры [Круглова и др., 2005; Батыгина и др., 2010; Круглова, Сельдимирова, 2011; Сельдимирова, Круглова, 2015а]. Для каждого генотипа пшеницы этот баланс будет своим. Такой методический подход позволяет управлять процессом морфогенеза микроспоры по спорофитной программе *in vitro* по нужному биотехнологу эмбриоидогенному пути.

Эмбриоид – биполярная зародышеподобная структура, образующаяся асексуально; зачаток нового растительного организма. Термин предложен I. Vasil, A.C. Hildebrandt [1966] для обозначения зародышеподобных структур, возникающих как *in vivo* («нуцеллярные» и «фолиарные» зародыши), так и *in vitro*. В разработанной Т.Б. Батыгиной концепции репродукции [1997, 2000] эмбриоид рассматривается как одна из структурных единиц бесполого размножения цветковых растений в условиях *in vivo* и *in vitro*. Исследователь выделяет эмбриоидогенный тип репродукции, рассматривает эмбриоидогению как особый способ образования нового индивидуума, а эмбриоидогенез – как оригинальный способ образования спорофита при гомофазном (спорофит → спорофит) воспроизведении. Эмбриоид, аналогично зиготическому зародышу, характеризуется сопряженным развитием апексов побега и корня, развиваясь как отдельная (от материнского организма или каллуса) единая система с закрытым радикулярным полюсом. Эмбриоидогения оценивается как тип бесполого размножения растений.

Эмбриоиды могут возникать на разных органах растения и на разных стадиях онтогенеза (обзоры [Круглова и др., 1995; Сельдимирова, Круглова, 2014а]). В наших исследованиях пшеницы – это пыльники, содержащие сильновакуолизованные микроспоры [Круглова, 2002; Круглова и др., 2005; Батыгина и др., 2010; Круглова, Сельдимирова, 2011; Сельдимирова, Круглова, 2013; Сельдимирова и др., 2017в; Seldimirova et al., 2017].

На основании детальных цитологических исследований нами установлены основные этапы морфогенеза *in vitro* инициальной микроспоры до сформированного эмбриоида на индукционной среде. Важно подчеркнуть применение нами ещё одного эмбриологического подхода: сравнение всех этапов развития микроспорового эмбриоида как соматического зародыша с развитием зиготического зародыша пшеницы. Полученные нами с помощью световой, сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии данные свидетельствуют о принципиальном сходстве морфологии микроспорового эмбриоида и зиготического зародыша пшеницы на всех этапах развития [Сельдимирова и др., 2013, 2016, 2017в; Seldimirova et al., 2017].

Кроме того, у пшеницы нами выявлен и детально исследован особый тип эмбриоидов с множественными, часто слившимися в той или иной степени, органами – полиэмбриоидов, связанный с особым путём морфогенеза *in vitro* – прямым полиэмбриоидогенезом [Сельдимирова, 2009; Сельдимирова, Галин, 2013; Сельдимирова, Круглова, 2014б; Титова и др., 2015, 2016; Titova et al., 2016]. Основная проблема биотехнологии получения гаплоидов посредством эмбриоидогенеза состоит в низком выходе растений-регенерантов. Использование полиэмбриоидов – один из способов решения этой проблемы. Одноклеточное

происхождение полиэмбриоидов пшеницы [Сельдимирова, Галин, 2013] гарантирует генетическую однородность получаемого селекционного материала, что позволяет рассматривать получение полиэмбриоидов как метод клональной селекции, направленный на тиражирование хозяйственно ценных генотипов пшеницы [Сельдимирова, Круглова, 2014б; Основы биотехнологии ..., 2017].

В процессе культивирования микроспора пшеницы реализуется, в зависимости от условий культивирования (главным образом гормональных [Горбунова и др., 2001; Gorbunova et al., 2001; Seldimirova et al., 2016а; Круглова и др., 2017а; Галин и др., 2018; Круглова и др., 2018а,в]), два пути морфогенеза *in vitro*: прямой эмбриоидогенез/полиэмбриоидогенез и органогенез (по типам: непрямой эмбриоидогенез, геммогенез, ризогенез, гемморизогенез, гистогенез), через этап образования эмбриоида и каллуса, соответственно [Круглова и др., 1995; Круглова, Горбунова, 1997; Горбунова и др., 2001; Gorbunova et al., 2001; Круглова, 2002; Круглова, Сельдимирова, 2010, 2011, 2013, 2015; Сельдимирова, Круглова, 2013, 2014а, 2015а,б; Seldimirova, Kruglova, 2013; Сельдимирова и др., 2013, 2015, 2016, 2017а,б; Seldimirova et al., 2016а,б,с; Круглова, Сельдимирова, 2018; Круглова и др., 2018б, 2019; Сельдимирова и др., 2019; Seldimirova et al., 2019].

Нами разработан лабораторный образец биотехнологии получения андроклиных регенерантов пшеницы на основе эмбриоидогенеза/полиэмбриоидогенеза *in vitro* сильновакуолизованной микроспоры [Круглова, Сельдимирова, 2015; Круглова и др., 2017б,в; Основы биотехнологии ..., 2017]. Стабильное получение с помощью этой биотехнологии конкурентно способных гибридов пшеницы с хозяйственно ценными признаками, перспективными в климатических условиях Южного Урала, подтверждено в ходе совместных исследований с лабораторией селекции и семеноводства яровой пшеницы Селекционного центра по растениеводству Башкирского НИИ СХ УФИЦ РАН (г. Уфа) [Круглова, Никонов, 2012, 2018; Сельдимирова и др., 2018].

В целом, полученные нами комплексные данные указывают на то, что андроклиния – это детерминированный процесс. Морфогенетически компетентной является микроспора в критической сильновакуолизованной фазе развития *in vivo*. Под действием стрессового (холодового) фактора индукции *in situ* в этой клетке «снимается» нормальная гаметофитная детерминация. В условиях *in vitro* на индукционной среде соответствующего состава (главным образом, с учетом баланса эндогенных и экзогенных фитогормонов) происходит переключение развития микроспоры с гаметофитного на спорофитный путь развития. В условиях культуры на регенерационной среде *in vitro* такая клетка дает начало растению-регенеранту. Таким образом, с эмбриологических позиций андроклиния – биологический феномен, который начинается *in vivo* и заканчивается *in vitro*. Физиологический подход позволяет управлять этим процессом в нужном биотехнологу оптимальном направлении, а цитологический подход – приблизиться к пониманию клеточных механизмов андроклинии.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батыгина Т.Б. Хлебное зерно: атлас. Л.: Наука, 1987. 103 с.

2. Батыгина Т.Б. Пыльник как модель изучения морфогенетических потенций и путей морфогенеза // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 1. Генеративные органы цветка. СПб.: Мир и семья, 1994. С. 120-121.
3. Батыгина Т.Б. Эмбрионид // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2. Семя. СПб.: Мир и семья, 1997. С. 624-628.
4. Батыгина Т.Б. Воспроизведение, размножение и возобновление растений // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 3. Системы репродукции. СПб.: Мир и семья, 2000. С. 35–39.
5. Батыгина Т.Б. Биология развития растений. Симфония жизни. СПб.: ДЕАН, 2014. 764 с.
6. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Зигота // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2. Семя. СПб.: Мир и семья, 1997. С. 307-321.
7. Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. От микроспоры – к сорту. М.: Наука. 2010. 178 с.
8. Батыгина Т.Б., Осадчий Я.В. Выявление гомологии клеточных элементов репродуктивных и формообразовательных структур // Успехи соврем. биол. 2015. Т. 135. С. 337–345.
9. Батыгина Т.Б., Рудский И.В. Роль ствольных клеток в морфогенезе растений // ДАН. 2006. Т. 410. № 5. С. 1–3.
10. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
11. Галин И.Р., Зайцев Д.Ю., Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н. Участие цитокининов в начальных этапах эмбриогенеза *in vitro* в зародышевых каллусах яровой мягкой пшеницы // Биомика. 2018. Т. 10. № 2. С. 141-145. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs2018-17
12. Горбунова В.Ю. Генетические предпосылки спорофитного пути развития микроспор злаков в условиях *in vitro*. Уфа, 1993. 104 с.
13. Горбунова В.Ю., Круглова Н.Н. Индукция андрогенеза *in vitro* у яровой мягкой пшеницы. Оптимальная фаза микроспорогенеза // Известия РАН. Серия биол. 1997. № 6. С. 668–676.
14. Горбунова В.Ю., Круглова Н.Н., Абрамов С.Н. Индукция андрогенеза *in vitro* у яровой мягкой пшеницы. Баланс эндогенных и экзогенных фитогормонов // Известия РАН. Серия биол. 2001. № 1. С. 31-36.
15. Дьячук Т.И., Хомякова О.В., Акинина В.Н., Кибкало И.А., Полинов А.В. Микроспоровый эмбриогенез *in vitro* – роль стрессов // Вавилов. журн. генет. и селек. 2019. Т. 23. № 1. С. 86 –94. DOI: 10.18695/VJ19.466
16. Зинатуллина А.Е. Перемещения ядер и клеток в развивающихся пыльцевых зернах при органогенезе пыльника злаков как интегрированной системы // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 1. С. 1-18. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-1-1-18
17. Игнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*. Одесса: Астропринт. 2011. 224 с.
18. Круглова Н.Н. Периодизация развития пыльника злаков как методологический аспект изучения андрогенеза *in vitro* // Известия РАН. Серия биол. 1999. № 3. С. 275-281.
19. Круглова Н.Н. Микроспора злаков как модельная система для изучения путей морфогенеза: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 2002. 48 с.
20. Круглова Н.Н. Инновационная биотехнология андроклиной гаплоидии яровой мягкой пшеницы: эмбриологический подход // Аграрная Россия. 2009а. № 1. С. 34–38.

21. Круглова Н.Н. Унификация терминологии при разработке инновационной биотехнологии андроклиной гаплоидии *in vitro*: постановка проблемы // Физиол. и биохим. культ. раст. 2009б. Т. 41. № 6. С. 476-486.
22. Круглова Н.Н. К проблеме унификации терминологии при разработке инновационной биотехнологии андроклиной гаплоидии // Известия УНЦ РАН. 2011. № 3. С. 37-42.
23. Круглова Н.Н. Оптимизация биотехнологии получения растений пшеницы в культуре *in vitro* // Известия УНЦ РАН. 2012. № 3. С. 57-61.
24. Круглова Н.Н. Органогенез злаков на ранних этапах онтогенеза *in vivo* как структурная основа экспериментальных исследований *in vitro* // Экобиотех. 2019а. Т. 2. № 1. С. 36-50. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-1-36-50
25. Круглова Н.Н. К проблеме унификации терминологии при разработке инновационной биотехнологии андроклиной гаплоидии (на примере яровой мягкой пшеницы) // Экобиотех. 2019б. Т. 2. № 2. С. 110-115. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-2-110-115
26. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б. Стресс как фактор индукции андроклинии у злаков. Компетентный объект стрессового воздействия // Успехи соврем. биол. 2001. Т. 121. № 1. С. 67-78.
27. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б. Методические рекомендации по использованию морфогенетического потенциала пыльника в биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы. Уфа, 2002. 39 с.
28. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. Эмбриологические основы андроклинии пшеницы. М.: Наука. 2005. 99 с.
29. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б., Сельдиминова О.А. Морфогенетический потенциал спорогенных клеток пыльника злаков // Успехи соврем. биол. 2000. Т. 120. № 5. С. 490-501.
30. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. Каллусогенез как путь как путь морфогенеза в культуре пыльников злаков // Успехи соврем. биол. 1997. Т. 117. Вып. 1. С. 83-94.
31. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. Стресс как фактор индукции андроклинии у злаков. Стресс-реакция *in situ* морфогенных спорогенных клеток пыльника // Успехи соврем. биол. 2001. Т. 121. № 4. С. 378-387.
32. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Батыгина Т.Б. Эмбриоидогенез как путь морфогенеза в культуре изолированных пыльников злаков // Успехи соврем. биол. 1995. Т. 115. Вып. 6. С. 692-705.
33. Круглова Н.Н., Зинатуллина А.Е. Системный подход к органогенезу пыльника *in vivo* как методологическая основа экспериментальных исследований *in vitro* (на примере злаковых и бобовых) // Экобиотех. 2018. Т. 1. № 3. С. 143-160. DOI: 10.31163/2618-964X-2018-1-3-143-160
34. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Стрессовая индукция андроклинии // Успехи соврем. биол. 2006а. Т. 126. № 3. С. 275-285.
35. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Начальный этап андроклинии // Успехи соврем. биол. 2006б. Т. 126. № 5. С. 462-471.
36. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Инициальная клетка андроклинии // Физиол. и биохим. культ. раст. 2006в. Т. 38. № 4. С. 279-291.
37. Круглова Н.Н., Никонов В.И. Оценка экспланта для биотехнологических разработок в целях адаптационной селекции яровой мягкой пшеницы в засушливых условиях Южного Урала // Известия УНЦ РАН. 2012. № 3. С. 15-18.

38. Круглова Н.Н., Никонов В.И. Морфометрический критерий оптимальной стадии развития пыльника при биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы // Вестник БГАУ. 2018. № 4 (48). С. 34-39. DOI: [10.31563/1684-7628-2018-48-4-34-39](https://doi.org/10.31563/1684-7628-2018-48-4-34-39)
39. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Морфогенез в андроклиных каллусах злаков: цитогистологические особенности // Успехи соврем. биол. 2010. Т. 130. № 3. С. 247–257.
40. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
41. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Пути морфогенеза *in vitro* клеток андроклиного каллуса пшеницы // Физиол. раст. и генет. 2013. Т. 45. С. 382–389.
42. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Сравнительная оценка частоты образования андроклиных эмбриоидов у родительских сортов, гибридов F1 и дигаплоидных линий гибридов F1 яровой мягкой пшеницы // Пермский агр. вестник. 2015. № 2(10). С. 66-71.
43. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Потенциально морфогенный каллус пшеницы в культуре *in vitro* // Известия УНЦ РАН. 2018. № 2. С. 61-65. DOI: [10.31040/2222-8349-2018-0-2-61-65](https://doi.org/10.31040/2222-8349-2018-0-2-61-65)
44. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Веселов Д.С. К вопросу об участии ауксинов в индукции и регуляции морфогенеза в модельной каллусной системе *in vitro* (на примере злаков) // Биомика. 2017а. Т. 9. № 4. С. 289-297.
45. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зайцев Д.Ю., Галин И.Р., Зинатуллина А.Е., Анохина Н.С. Развитие андроклиных растений пшеницы в лабораторных условиях *in vitro* и *ex vitro* // Известия УНЦ РАН. 2017б. № 3. С. 21-25.
46. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зайцев Д.Ю., Галин И.Р., Зинатуллина А.Е., Анохина Н.С. Развитие андроклиных растений пшеницы в полевых условиях *in vivo* // Известия УНЦ РАН. 2017в. № 3. С. 26-30.
47. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для изучения органогенеза растений // Известия УНЦ РАН. 2019. № 2. С. 44-54. DOI: [10.31040/2222-8349-2019-2-44-54](https://doi.org/10.31040/2222-8349-2019-2-44-54)
48. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е., Веселов Д.С. Абсцизовая кислота в системах культуры *in vitro* эксплантов // Известия УНЦ РАН. 2018а. № 2. С. 55-60. DOI: [10.31040/2222-8349-2018-0-2-55-60](https://doi.org/10.31040/2222-8349-2018-0-2-55-60)
49. Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. Каллусогенез как путь морфогенеза *in vitro* у злаков // Онтогенез. 2018б. Т. 49. № 5. С. 273-288. DOI: [10.1134/S0475145018050038](https://doi.org/10.1134/S0475145018050038)
50. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е., Веселов Д.С. Участие абсцизовой кислоты в стимулировании соматического эмбриогенеза растений *in vitro* // Успехи соврем. биол. 2018в. Т. 138. № 5. С. 516-528. DOI: [10.7868/S0042132418050083](https://doi.org/10.7868/S0042132418050083)
51. Основы биотехнологии растений / Б.Р. Кулуев, Н.Н. Круглова, А.А. Зарипова, Р.Г. Фархутдинов. Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. 244 с.
52. Сатарова Т.Н., Черчель В.Ю., Черенков А.В. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспекты гаплоидии. Днепропетровск: Новая идеология, 2013. 552 с.
53. Сельдимирова О.А. Формирование полиэмбриоидов в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Физиол. и биохим. культ. раст. 2009. Т. 41. № 6. С. 531-538.
54. Сельдимирова О.А., Безрукова М.В., Галин И.Р., Лубянова А.Р., Шакирова Ф.М., Круглова Н.Н. Влияние 24-эпибрассинолида на формирование, ростовые показатели и регенерационную способность каллусов *in vitro* контрастных по засухоустойчивости сортов пшеницы // Физиол. раст. 2017а. Т. 64. № 6. С. 461-472. DOI: [10.1134/S1021443717060085](https://doi.org/10.1134/S1021443717060085)

55. Сельдимирова О.А., Галин И.Р. Цито-гистологический анализ особенностей морфогенеза полиэмбриоидов в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Вестник БГАУ. 2013. № 1 (25). С. 39-41.
56. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Особенности начальных этапов эмбриогенеза *in vitro* в каллусах различного происхождения // Известия РАН. Серия биол. 2013. Т. 40. № 5. С. 565-573. DOI: [10.1134/S1062359013050154](https://doi.org/10.1134/S1062359013050154)
57. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Андроклинный эмбриогенез *in vitro* у злаков // Успехи соврем. биол. 2014а. Т. 134. № 5. С. 476–487.
58. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Формирование полиэмбриоидов в культуре *in vitro* как этап биотехнологии клонирования пшеницы // Известия УНЦ РАН. 2014б. № 1. С. 22-26.
59. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Баланс эндогенных и экзогенных гормонов и пути морфогенеза в андроклинных каллусах пшеницы *in vitro* // Известия УНЦ РАН. 2015а. № 1. С. 35-39.
60. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Комплексный цито-физиологический подход к изучению андроклинного эмбриогенеза // Соврем. проблемы науки и образования. 2015б. № 3. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17413>
61. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Зинатуллина А.Е. Роль фитогормонов в индукции каллусогенеза и регуляции путей морфогенеза каллусов злаков *in vitro* // Научный результат. Серия физиол. 2017б. Т. 3. № 1. С. 8-13. DOI: [10.18413/2409-0298-2017-3-1-8-13](https://doi.org/10.18413/2409-0298-2017-3-1-8-13)
62. 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. 2017в. Т. 48. № 3. С. 220-233. DOI: [10.1134/S1062360417030109](https://doi.org/10.1134/S1062360417030109)
63. 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. 10. № 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)
64. 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](https://doi.org/10.1134/S0475145019030054)
65. Сельдимирова О.А., Титова Г.Е., Галин И.Р., Круглова Н.Н. Структурные механизмы становления симметрии у микроспориальных эмбриоидов пшеницы: данные сканирующей электронной микроскопии // Известия СамНЦ РАН. 2013. Т. 15. № 3(5). С. 1676–1679.
66. Сельдимирова О.А., Титова Г.Е., Круглова Н.Н. Андроклинные «сиамские зародыши» пшеницы *in vitro* // Известия УНЦ РАН. 2015. № 4(1). С. 137-142.
67. Сельдимирова О.А., Титова Г.Е., Круглова Н.Н. Комплексный морфолого-гистологический подход к изучению морфогенных структур в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Известия РАН. Серия биол. 2016. Т. 43. № 2. С. 155-161.
68. Титова Г.Е., Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Галин И.Р., Батыгина Т.Б. Феномен «сиамских зародышей» у злаков *in vivo* и *in vitro*: кливажная полиэмбриония и фасциации // Онтогенез. 2016. Т. 47. № 3. С. 152-169. DOI: [10.7868/S047514501603006X](https://doi.org/10.7868/S047514501603006X)

69. Advances in Haploid Production in Higher Plants / Eds A. Touraev, B.P. Forster, S.M. Jain. Springer Netherlands, 2009. 348 p. DOI: [10.1007/978-1-4020-8854-4](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8854-4)
70. Anther and pollen. From biology to biotechnology. Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1999. 318 p.
71. Daghma D., Kumlehn J., Hensel G., Rutten T., Melzer M. Timelapse imaging of the initiation of pollen embryogenesis in barley (*Hordeum vulgare* L.) // J. Exp. Bot. 2012. V. 63. P. 6017–6021. DOI: [10.1093/jxb/ers254](https://doi.org/10.1093/jxb/ers254)
72. Datta S.K. Androgenesis in cereals // Current trends in the embryology of Angiosperms / Eds S.S. Bhojwani, W.Y. Soh Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad. Publ, 2001. P. 471-488. DOI: [10.1007/978-94-017-1203-3\\_19](https://doi.org/10.1007/978-94-017-1203-3_19)
73. Doubled Haploidy in Model and Recalcitrant Species / Ed. J.M. Segui-Simarro Front. Plant Sci. 2016. V. 6: 413. DOI: [10.3389/978-2-88919-783-5](https://doi.org/10.3389/978-2-88919-783-5)
74. Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation // Plant Biotechn. J. 2010. V. 8. P. 377–424. DOI: [10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x)
75. Ferrie A.M.R., Caswell K.L. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2011. V. 104. P. 301-309. DOI: [10.1007/s11240-010-9800-y](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9800-y)
76. Germana M.A. Anther culture for haploid and doubled haploid production // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2011. V. 104. P. 283-300. DOI: [10.1007/s11240-010-9852-z](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9852-z)
77. Gorbunova V.Yu., Kruglova N.N., Abramov S.N. The Induction of Androgenesis *in vitro* in Spring Soft Wheat. Balance of Exogenous and Endogenous Phytohormones // Biol. Bull. 2001. V. 28. P. 25–30. DOI: [10.1023/A:1026602603527](https://doi.org/10.1023/A:1026602603527)
78. Guha S., Maheshwari S. *In vitro* production of embryos from anther of *Datura* // Nature. 1964. V. 204. P. 497. DOI: [10.1038/204497a0](https://doi.org/10.1038/204497a0)
79. Haberlandt G. Physiologische Pflanzenanatomie. Leipzig: Engelmann, 1909. 650 S.
80. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Morphogenic microspore as a initial cell of androgenesis *in vitro*: the review of problem // Научный результат. Серия физиол. 2017. Т. 3. № 1. С. 3-7.
81. Liu W.G., Zheng M.Y., Polle E., Konzak C.F. Highly Efficient Doubled-Haploid Production in Wheat (*Triticum aestivum* L.) via Induced Microspore Embryogenesis // Crop Sci. 2002. V. 42. P. 686-692. DOI: [10.2135/cropsci2002.0686](https://doi.org/10.2135/cropsci2002.0686)
82. Mayakaduwa D.M.R.G., Silva T.D. A cytological indicator allows rapid assessment of microspore maturity, leading to improved *in vitro* anther response in Indica rice (*Oryza sativa* L.) // In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant. 2017. V. 53. P. 591-597. DOI: [10.1007/s11627-017-9855-0](https://doi.org/10.1007/s11627-017-9855-0)
83. Meristematic tissues in plant growth and development / Eds M.T. McManus, B. Veit. Sheffield: Sheffield Acad. Press, 2002. 301 p.
84. Noga A., Skrzypek E., Warchoł M. et al. Conversion of oat (*Avena sativa* L.) haploid embryos into plants in relation to embryo developmental stage and regeneration media // In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant. 2016. V. 52. P. 590-597. DOI: [10.1007/s11627-016-9788-z](https://doi.org/10.1007/s11627-016-9788-z)
85. Pollen biotechnology for crop production and improvement / Eds K.R. Shivanna, V.K. Sawhney. Cambridge: Cambridge Univ. press, 1997. 464 p.
86. Ren J., Wu P., Trampe B. et al. Novel technologies in doubled haploid line development // Plant Biotechnol. J. 2017. DOI: [10.1111/pbi.12805](https://doi.org/10.1111/pbi.12805)
87. Sanchez-Diaz R.A., Castillo A.M., Valles M.-P. Microspore embryogenesis in wheat: New markers genes for early, middle and late stages of embryo development // Plant Reprod. 2013. V. 26. P. 287-296. DOI: [10.1007/s00497-013-0225-8](https://doi.org/10.1007/s00497-013-0225-8)

88. Segui-Simarro J.M. Androgenesis Revisited // *Bot. Rev.* 2010. V. 76. P. 377-404. DOI: [10.1007/s12229-010-9056-6](https://doi.org/10.1007/s12229-010-9056-6)
89. Seldimirova O.A., Kruglova N.N. Properties of the initial stages of embryoidogenesis *in vitro* in wheat calli of various origin // *Biol. Bull.* 2013. V. 40. P. 447–454. DOI: [10.1134/S1062359013050154](https://doi.org/10.1134/S1062359013050154)
90. 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 // *Russ. J. Develop. Biol.* 2017. V. 48. P. 185–197. DOI: [10.1134/S1062360417030109](https://doi.org/10.1134/S1062360417030109)
91. 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 and Developmental Biology – Plant.* 2016a. V. 52. P. 251-264. DOI: [10.1007/s11627-016-9767-4](https://doi.org/10.1007/s11627-016-9767-4)
92. Seldimirova O.A., Kudoyarova G.R., Kruglova N.N., Galin I.R., Veselov D.S. Somatic Embryogenesis in Wheat and Barley Callus *in vitro* is Determined by the Level of Indolilacetic and Abscisis Acids // *Russ. J. Develop. Biol.* 2019. V. 50. P. 124–135. DOI: [10.1134/S1062360419030056](https://doi.org/10.1134/S1062360419030056)
93. Seldimirova O.A., Titova G.E., Kruglova N.N. A complex morpho-histological approach to the *in vitro* study of morphogenic structures in a wheat anther culture // *Biol. Bull.* 2016b. V. 43. P. 121–126. DOI: [10.1134/S1062359016020084](https://doi.org/10.1134/S1062359016020084)
94. Seldimirova O.A., Zaytsev D.Yu., Galin I.R., Kruglova N.N. Phytohormonal regulation of *in vitro* formation of wheat androgenic structures // *Научный результат. Серия физиол.* 2016с. Т. 2. С. 3-8. DOI: [10.18413/2409-0298-2016-2-1-3-8](https://doi.org/10.18413/2409-0298-2016-2-1-3-8)
95. Soriano M., Li H., Boutilier K. Microspore embryogenesis: establishment of embryo identity and pattern in culture // *Plant Reprod.* 2013. V. 26. P. 181-196. DOI: [10.1007/s00497-013-0226-7](https://doi.org/10.1007/s00497-013-0226-7)
96. Takahata V., Takahashi Y., Tsuwamoto R. Microspore Culture and Doubled Haploid Technology. Chapter 4 // *Biotechnology of Crucifers* / Ed. S.K. Gupta. NY: Springer, 2013. P. 45–62. DOI: [10.1007/978-1-4614-7795-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7795-2_4)
97. Titova G.E., Seldimirova O.A., Kruglova N.N., Galin I.R., Batygina T.B. Phenomenon of “Siamese embryos” in cereals *in vivo* and *in vitro*: Cleavage polyembryony and fasciations // *Russ. J. Develop. Biol.* 2016. V. 47. P. 122–137. DOI: [10.1134/S1062360416030061](https://doi.org/10.1134/S1062360416030061)
98. Vasil I., Hildebrandt A.C. Variations of morphogenetic behavior in plant tissue cultures. I. *Cichorium endivia* // *Amer. J. Bot.* 1966. V. 53. P. 869-874.
99. Zheng M.Y. Microspore Culture in Wheat (*Triticum aestivum*)—Double Haploid Production via Induced Embryogenesis // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2003. V. 73. P. 213-230. DOI: [10.1023/A:1023076213639](https://doi.org/10.1023/A:1023076213639)
100. Zheng M.Y., Bieren K., Griggs R. Developmental Dynamics of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Microspores under Culture // *Adv. Biosci. Biotechnol.* 2015. V. 6. P. 693-701. DOI: [10.4236/abb.2015.612072](https://doi.org/10.4236/abb.2015.612072)
101. Zheng M.Y., Liu W., Weng Y., Polle E., Konzak C.F. Culture of Freshly Isolated Wheat (*Triticum aestivum* L.) Microspores Treated with Inducer Chemicals // *Plant Cell Reports.* 2001. V. 20. P. 685-690. DOI: [10.1007/s00299-001-0393-0](https://doi.org/10.1007/s00299-001-0393-0)