



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

ПУТИ МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* ИЗОЛИРОВАННЫХ ПЫЛЬНИКОВ ПШЕНИЦЫ: РОЛЬ БАЛАНСА ФИТОГОРМОНОВ

Сельдиминова О.А.*, Галин И.Р., Абрамов С.Н.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

*E-mail: o_seldimirova@mail.ru

Исследование посвящено исследованию особенностей индукции путей морфогенеза *in vitro* морфогенетически компетентных клеток пыльника – микроспор в культуре изолированных пыльников ряда генотипов яровой мягкой пшеницы, рекомендованных к возделыванию в климатических условиях Республики Башкортостан. Проанализировано содержание ИУК в проростках изучаемых генотипов яровой мягкой пшеницы для определения класса генотипа – высоко- или низкоауксинового. Выявлены и изучены такие пути морфогенеза *in vitro*, как эмбриоидогенез, поли-эмбриоидогенез и каллусогенез. Дана морфогистологическая оценка андроклинических структур. Установлено, что индукция определённого пути морфогенеза *in vitro* определяется главным образом балансом между содержанием эндогенного ауксина ИУК в пыльниках перед инокуляцией на питательную среду и концентрацией экзогенного синтетического гормона ауксинового типа действия 2,4-Д в составе питательной среды. Показана принципиальная возможность регуляции путей морфогенеза *in vitro* в культуре изолированных пыльников пшеницы путем подбора для каждого генотипа адекватного для индукции конкретного пути баланса эндогенного и экзогенного ауксинов.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L. ♦ культура пыльников *in vitro* ♦ пути морфогенеза ♦ ИУК ♦ 2,4-Д

MORPHOGENESIS PATHWAYS *IN VITRO* IN ISOLATED ANTHER CULTURE OF WHEAT: THE ROLE OF PHYTOHORMONE BALANCE

Seldimirova O.A.*, Galin I.R., Abramov S.N.

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

*E-mail: o_seldimirova@mail.ru

The study is aimed to the study of the peculiarities of the induction of morphogenesis pathways *in vitro* of morphogenetically competent anther cells - microspores in the isolated anther culture of a number of spring soft wheat genotypes, recommended for cultivation in the climatic conditions of the Republic of Bashkortostan. The content of IAA in seedlings of the studied genotypes of spring soft wheat was analyzed to determine the class of the genotype – characterized by high or low auxin content. Such morphogenesis pathways *in vitro* as embryoidogenesis, polyembryoidogenesis and callusogenesis have been identified and studied. Morphohistological assessment of androclinal structures is given. It was established that the induction of a certain morphogenesis pathway *in vitro* is determined mainly by the balance between the content of endogenous auxin IAA in anthers before inoculation on a nutrient medium and the concentration of exogenous synthetic auxin 2,4-D in the composition of the nutrient medium. The fundamental possibility of regulation of morphogenesis pathways *in vitro* in isolated anther culture of wheat by selecting for each genotype an adequate balance of endogenous and exogenous auxins for the induction of a specific pathway has been shown.

Keywords: *Triticum aestivum* L. ♦ anther culture *in vitro* ♦ morphogenesis pathways ♦ IAA ♦ 2,4-D

Поступила в редакцию: 20.02.2023

[Цитировать | Cite as](#)

DOI: [10.31163/2618-964X-2023-6-1-53-63](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-1-53-63)

EDN: [NXPQOB](https://www.edn.ru/entry/10.31163/2618-964X-2023-6-1-53-63)



ВВЕДЕНИЕ

Одно из приоритетных научных направлений – создание сортов растений с заданными хозяйственно-ценными признаками и адаптированных к различным эколого-климатическим условиям с использованием современных биотехнологических методов. Перспективный экспериментальный подход в этой области – метод культуры *in vitro* пыльников, основанный на феномене андроклиной гаплоидии (От микроспоры..., 2010; Asif, 2013; Humphreys, Knox, 2015; Doubled Haploid..., 2021). Получение растений через культуру пыльников стало

общепризнанным способом коммерческой селекции, в частности зерновых злаков (Biotechnology in..., 2005; От микроспоры..., 2010; Круглова, Сельдимирова, 2011; Humphreys, Knox, 2015; Doubled Haploid..., 2021; Fundamentals of..., 2022; Rutkoski et al., 2022).

Практическую значимость биотехнологического метода андроклиной гаплоидии определяет образование на конечном этапе полноценных фертильных растений-регенерантов. Основная проблема, связанная с разработкой эффективной биотехнологии массового стабильного получения таких растений, состоит в их низком выходе. Решение этой проблемы напрямую связано с выявлением путей морфогенеза *in vitro* морфогенетически компетентных клеток пыльника – микроспор на индукционной питательной среде и возможностью регуляции этих путей в контролируемых экспериментальных условиях *in vitro*.

Как правило, регенерация растений *in vitro* обычно осуществляется посредством прямого эмбриоидогенеза (соматического эмбриогенеза) непосредственно из инициальной клетки – микроспоры, или в каллусной культуре посредством непрямого эмбриоидогенеза или гемморизогенеза (образования *de novo* побегов и корней) (От микроспоры..., 2010; Батыгина, 2014; Сельдимирова и др., 2016; Kruglova et al., 2018; Круглова и др., 2019; Зинатуллина, 2020). Регенерация посредством гемморизогенеза в каллусах *in vitro* рассматривается как биотехнологически более выгодная, так как индуцировать органогенез сравнительно проще и надежнее, чем эмбриоидогенез, как прямой, так и не прямой. В то же время индукция обоих типов эмбриоидогенеза, особенно прямого, предполагает работу с генетически однородным материалом, что необходимо при разработке биотехнологий клонирования хозяйственно ценных генотипов (От микроспоры..., 2010; Seldimirova, Kruglova, 2013; *In vitro* embryogenesis..., 2016; Somatic Embryogenesis..., 2016, 2022).

Пшеница, как и все злаки, относится к группе гормонзависимых объектов культивирования *in vitro*. Подбор оптимальной концентрации определенных гормонов, вводимых в состав питательной среды – один из ключевых этапов в работе с культурой *in vitro*. Как правило, подбор оптимальной концентрации гормональных компонентов питательной среды для индукции того или иного пути морфогенеза *in vitro* носит достаточно случайный характер: исследователь проводит перебор довольно широкого диапазона концентраций различных гормонов и их сочетаний друг с другом. В результате подбор оптимальной концентрации гормона оказывается достаточно трудоемким и дорогостоящим процессом (обзоры: Круглова, 2021, 2022 и ссылки из них). Также остаются открытыми вопросы о возможности выбора пути морфогенеза в нужном для исследователя направлении. Поэтому поиск надежного подхода к прогнозированию этого параметра на основе определенных физиологических параметров эксплантов, инокулируемых на питательную среду, актуален.

Фитогормоны играют роль основных регуляторов морфогенеза, как в естественных условиях, так и в условиях культуры *in vitro*. Учитывая большое значение баланса эндогенных фитогормонов в определении тотипотентности (Бутенко, 1999; Круглова и др., 2017; Круглова, 2022), естественно предположить, что компетентность клеток к регенерации в значительной степени обусловлена количеством эндогенных фитогормонов.

Хорошо установлено, что обязательными участниками координации процессов морфогенеза являются ауксины, в частности индолил-3-уксусная кислота (ИУК), оказывающая влияние на деление, растяжение и дифференциацию клеток, т.е. процессов, которые лежат в основе морфогенеза (Medvedev, 2012; Polar auxin..., 2013; Nic-Can, Loyola-Vargas, 2016). Рядом исследователей (Gorbunova et al., 2001; От микроспоры..., 2010) предложен надежный критерий, позволяющий прогнозировать частоту индукции андроклинных структур в культуре изолированных пыльников пшеницы на основании гормональных показателей пыльника донорного растения. В связи с этим цель исследования состояла в экспериментальной разработке биотехнологического подхода для индукции определенного пути морфогенеза *in vitro* в культуре изолированных пыльников яровой мягкой пшеницы на основании анализа баланса концентраций эндогенной ИУК (в пыльнике) и экзогенной 2,4-D (в индукционной питательной среде).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили сорта (Экада 70, Экада 113, Жница, Кинельская юбилейная, Башкирская 26, Салават Юлаев, Башкирская 28, Ватан, Омская 36, Екатерина, Архат) и гибридная линия Фотос яровой мягкой пшеницы, семена которых были любезно предоставлены Башкирским НИИСХ УФИЦ РАН.

Для определения принадлежности генотипов к высоко- или низкоауксиновым использовали подход, предложенный в работе (Gorbunova et al., 2001). Для экспериментов использовали 7-суточные проростки. Для их получения семена обрабатывали 40%-ным раствором коммерческого препарата «Белизна», промывали проточной водой в течение 10 минут, проращивали на влажной фильтровальной бумаге в темном термостате при температуре 26°C в течение суток. Проросшие семена выращивали методом гидропоники с дистиллированной водой при освещении 250 мкмоль·с⁻¹·м⁻² при 16-часовом световом периоде. Содержание ИУК в листьях и корнях оценивали с использованием метода твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) (Veselov et al., 1992).

Донорные растения для культивирования *in vitro* изолированных пыльников выращивали в полевых условиях научного стационара Уфимского Института биологии УФИЦ РАН. Пыльники культивировали *in vitro* согласно авторской разработке (Круглова, Батыгина, 2002). Для индукции формирования андроклинных структур пыльники инокулировали на питательную среду Potato II (Chuang, Quyang, 1978), дополненную кинетином в концентрации 0.2 мг/л и 2,4-Д в концентрации 0.0, 0.1 мг/л и далее в концентрации 0.25-3.0 мг/л с шагом в 0.25 мг/л. Морфо-гистологическую оценку полученных андроклинных структур проводили через 4 недели после инокуляции пыльников. Идентификацию полученных структур проводили с помощью стереомикроскопа Technival 2 (Carl Zeiss, Jena, Германия). Прижизненную съемку образцов проводили с применением цифровой камеры Olympus Camedia C-4000 (Olympus Optical Co., LTD, Япония). Изученные образцы использовались для получения постоянных препаратов (Круглова и др., 2013). Полученные постоянные препараты просматривали и документировали с использованием микроскопа проходящего света Axio Imager (Carl Zeiss,

Јена, Германия), оснащенного цифровой камерой AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Јена, Германия).

Статистическую обработку полученных результатов вели с применением программы Microsoft Office Excel 2010, учитывая основные статистические параметры. На графике представлены средние арифметические значения и ошибки средних.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным данным твердофазного иммуноферментного анализа содержание ИУК в корнях у исследованных генотипов пшеницы значительно не отличается. В то же время, по содержанию ИУК в побегах изученные генотипы можно четко разделить на 2 группы: с относительно высоким и относительно низким содержанием ИУК (рис. 1).

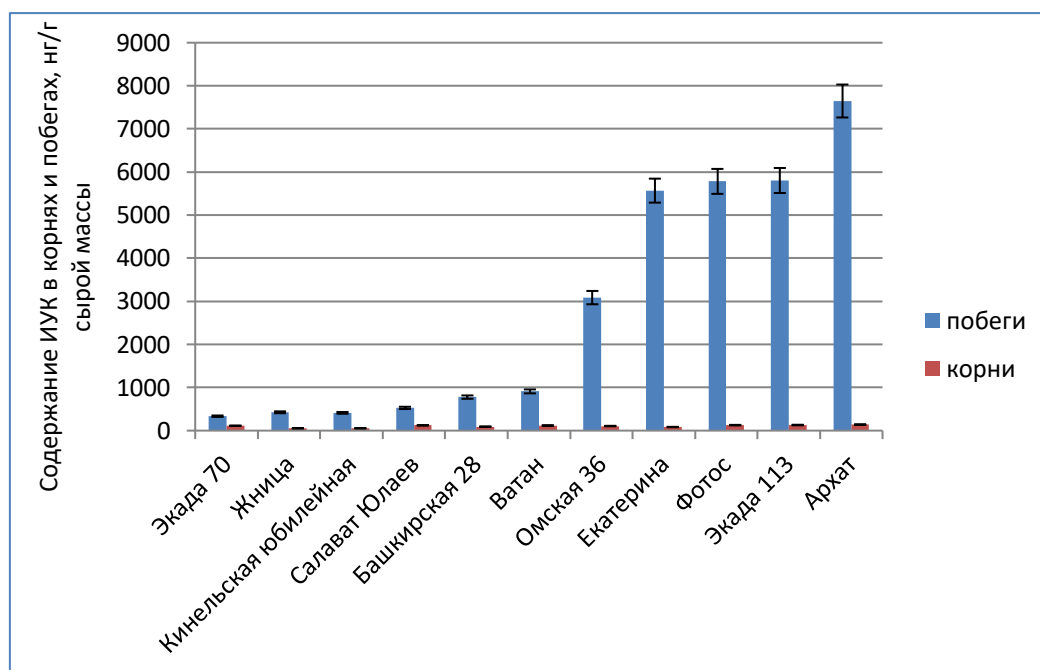


Рис. 1. Содержание ИУК в побегах и корнях изученных 7-суточных проростков у изученных генотипов яровой мягкой пшеницы

При культивировании *in vitro* пыльников как высоко-, так и низкоауксиновых генотипов пшеницы отмечены такие пути морфогенеза, как эмбриоидогенез и каллусогенез, связанные с формированием андроклинных структур – эмбриоидов и каллусов, соответственно. Однако морфогенез *in vitro* в пыльниках каждого из изученных генотипов характеризуется своими особенностями. Рассмотрим особенности морфогенеза на примере двух генотипов – высокоауксинового сорта Архат и низкоауксинового сорта Жница (все иллюстрации приведены для сорта Жница).

При культивировании пыльников низкоауксинового сорта Жница формирования андроклинных структур на безгормональной среде не происходило вовсе. Эмбриоидогенез, состоящий в формировании эмбриоидов – зародышеподобных биполярных структур (рис. 2), имеющих все характерные для зародышей злаков органы и дающих начало растениям, отмечен при концентрации 2,4-Д в 0.25 мг/, оптимальная же концентрация для индукции формирования максимального количества эмбриоидов составляла 0.5 мг/л.

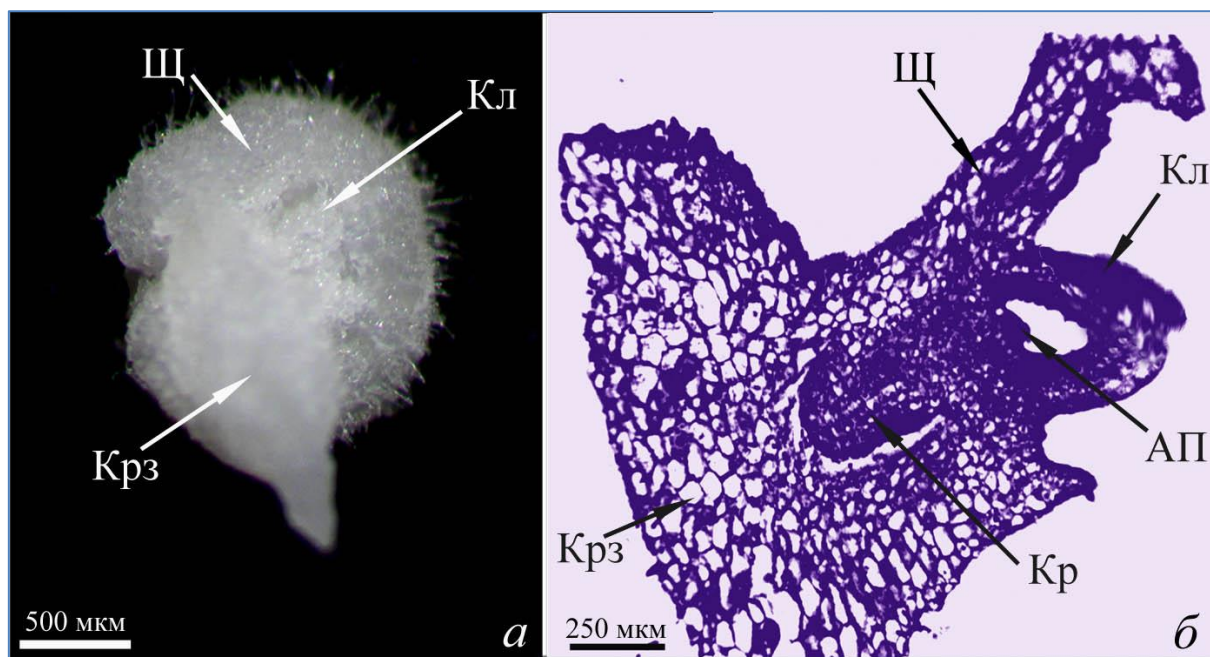


Рис. 2. Сформированный андроклиный эмбрионд.

а – прижизненная съемка, **б** – постоянный препарат образца, изображенного на **а**.

Условные обозначения: АП – апекс побега, Кл – колеоптиль, Кр – корень, Крз – колеориза, Щ – щиток

При повышении концентрации 2,4-Д в среде наряду со снижением количества эмбриондов начинается формирование полиэмбриондов. Полиэмбрионды также представляют собой зародышеподобные структуры, но имеющие, в отличие от эмбриондов, множественные, часто сросшиеся щитки и апексы побегов, объединенные одним корневым апексом (рис.3). Максимальный процент образования полиэмбриондов отмечался при концентрации 2,4-Д в 1.0 мг/л.

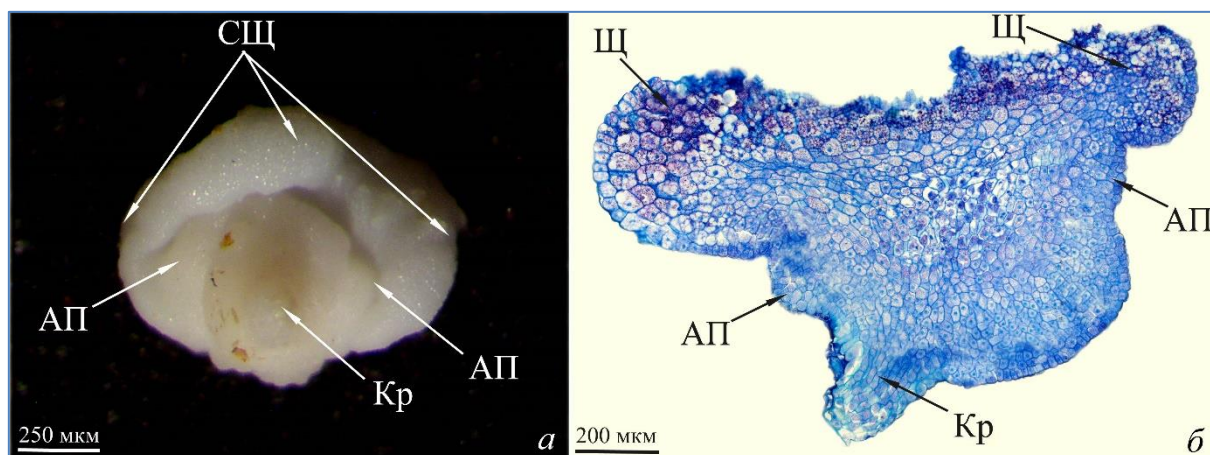


Рис. 3. Андроклиный полиэмбрионд.

а – прижизненная съемка, **б** – постоянный препарат образца, изображенного на **а**.

Условные обозначения: АП – апекс побега, Кр – корень, СЩ – сросшиеся щитки, Щ – щиток

Дальнейшее повышение концентрации приводило к снижению количества полиэмбриондов и началу формирования морфогенных каллусов – плотных компактных структур белого цвета, содержащих группы меристематических клеток, которые способны к дальнейшему развитию с формированием растений (рис. 4). Образование максимального количества морфогенных каллусов происходило при концентрации в 1.5 мг/л.

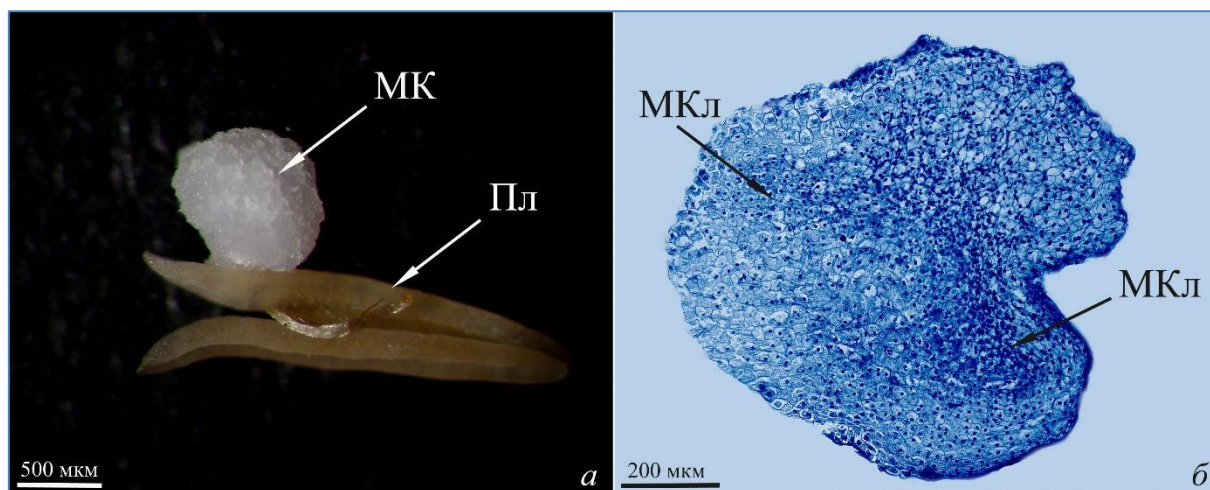


Рис. 4. Морфогенный андроклиный каллус.

***а* – прижизненная съемка, *б* – постоянный препарат образца, изображенного на *а*.**

Условные обозначения: МК – морфогенный каллус, МКЛ – меристематические клетки, Пл – пыльник

При концентрации 2,4-Д в 2.0. мг/л наблюдалось образование только неморфогенных каллусов, представляющих собой рыхлые водянистые структуры желтоватого цвета, состоящие из сильновакуолизированных клеток (рис. 5) и не способные к дальнейшему развитию и к формированию растений.

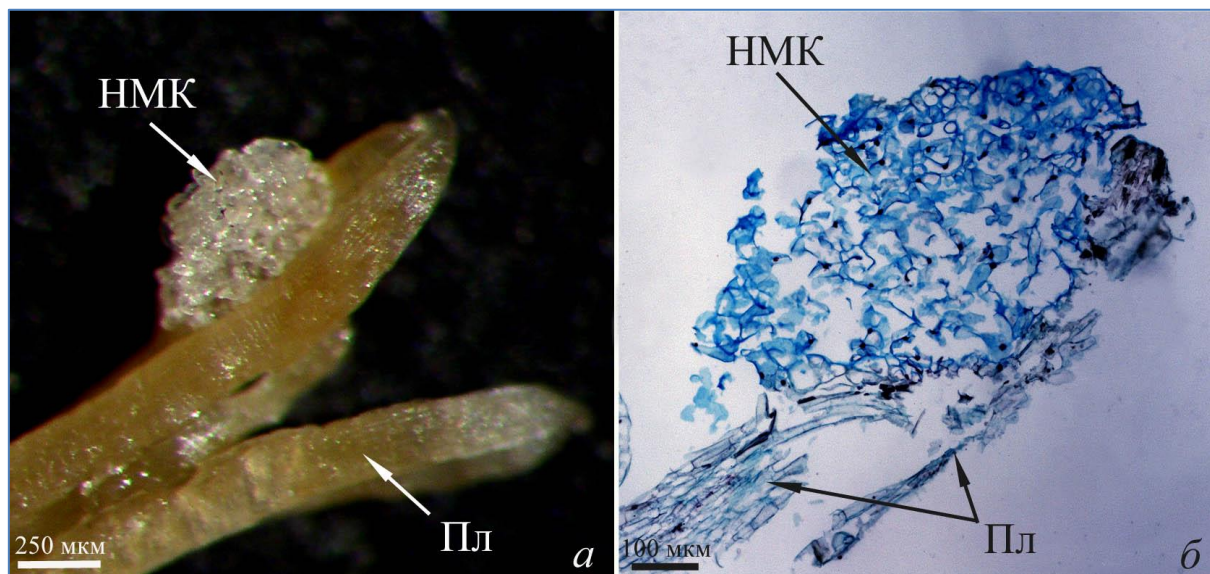


Рис. 5. Неморфогенный андроклиный каллус.

***а* – прижизненная съемка, *б* – постоянный препарат образца, изображенного на *а*.**

Условные обозначения: НМК – неморфогенный каллус, Пл – пыльник

Дальнейшее повышение концентрации 2,4-Д не приводило к формированию андроклиных структур.

У высокоауксинового сорта Архат формирование эмбриоидов начиналось уже на безгормональной среде. Максимальное количество эмбриоидов наблюдалось при концентрации 2,4-Д в 0.1 мг/л.

Максимальный процент образования полиэмбриоидов был отмечен при концентрации 2,4-Д в 0.5 мг/л.

Формирование максимального количества морфогенных каллусов наблюдалось при концентрации 2,4-Д в 2.0 мг/л.

При повышении концентрации 2,4-Д до 2.5 мг/л отмечалось формирование неморфогенных каллусов, не содержащих меристематических клеток. Дальнейшее повышение концентрации 2,4-Д не приводило к формированию в пыльниках этого сорта пшеницы ни одной из выявленных андроклинных структур.

При сопоставлении полученных результатов выявляется следующая закономерность: независимо от содержания эндогенной ИУК индукция путей морфогенеза при постепенном повышении концентрации экзогенной 2,4-Д всегда характеризуется определенной последовательностью: формирование эмбриоидов – формирование полиэмбриоидов – формирование морфогенного каллуса – формирование неморфогенного каллуса.

Таким образом, различный гормональный статус пыльников изученных генотипов пшеницы обуславливает их различную способность к образованию андроклинных структур на питательных средах с различной концентрацией 2,4-Д. Индукция определенного пути морфогенеза *in vitro* в пыльниках зависит от содержания эндогенной ИУК (в пыльнике) и от концентрации экзогенной 2,4-Д (в составе питательной среды).

Проанализируем индукцию образования каждой из андроклинных структур.

Известно, что ауксины - обязательные участники координации процессов морфогенеза, оказывающие влияние на деление, рост и дифференциацию клеток, т.е. процессы, которые лежат в основе морфогенеза (Medvedev, 2012; Polar Auxin., 2013; Nic-Can et al., 2016). Ауксины представляют собой слабые липофильные кислоты, которые диссоциируют в водных растворах. Это означает, что с уменьшением pH раствора увеличивается доля недиссоциированных молекул ауксина. Обычно pH цитоплазмы значительно превышает pH внеклеточного раствора. В этих условиях недиссоциированные молекулы ауксина диффундируют через плазмалемму внутрь клеток и диссоциируют там, в соответствии с pH цитоплазмы, поддерживая тем самым градиент концентраций и поток нейтральных молекул в цитоплазму. Вследствие низкой проницаемости диссоциированных молекул ауксинов они накапливаются в клетке (Plant Hormones., 2010).

В культуре *in vitro* синтетический ауксин 2,4-Д, по-видимому, диффундирует по градиенту концентрации из питательной среды в микроспоры через плазмалемму.

Согласно цитологическим наблюдениям, в культивируемых пыльниках высокоауксиновой линии Архат на безгормональной среде и среде с низким (0.1 мг/л) содержанием 2,4-Д отмечено формирование эмбриоидов. Ранее нами было показано, что андроклинные эмбриоиды пшеницы развиваются аналогично зиготическим зародышам и имеют одинаковое с ними строение (Сельдимова и др., 2004; От микроспоры..., 2010). Высказано предположение (Fischer, Neuhaus, 1996; Medvedev, 2012), что в становлении симметрии зародыша главную роль играет неомогенное распределение ауксина (градиенты ауксина); потоки ауксина, создавая позиционную информацию, действуют как мощнейший морфогенетический фактор и определяют дифференциацию органов зародыша. Формирование эмбриоидов на безгормональной среде и максимальное формирование эмбриоидов на среде с самой низкой из исследованных вариантов концентрацией 2,4-Д, позволяет предположить, что количества ИУК, поступающей в микроспоры из тканей пыльника (своего рода полярный транспорт), достаточно для развития их в условиях *in vitro* по пути эмбриоидогенеза. По-видимому, пыльники с высоким содержанием эндогенного

ауксина способны саморегулировать морфогенные процессы даже при отсутствии экзогенных стимуляторов.

Низкоауксиновому сорту Жница, микроспоры которого формируют эмбриониды только в присутствии экзогенной 2,4-Д, по-видимому, недостаточно эндогенного ауксина для индукции и поддержания морфогенеза, поэтому микроспорам для этого требуется экзогенный ауксин. Массовые митотические деления микроспор, ведущие к формированию эмбрионидов, отмечены в пыльниках этого сорта пшеницы при концентрации 2,4-Д в 0.5 мг/л.

Формирование полиэмбрионидов при повышении концентрации 2,4-Д в среде объясняется, по-видимому, накоплением 2,4-Д в клетках этих андроклинных структур. Согласно полученным ранее гистологическим данным (Titova et al., 2016), начальные стадии развития эмбрионидов и полиэмбрионидов (до органогенеза) сходны. Различия начинают проявляться с момента заложения апексов побега. В работе (Fischer et al., 1997) было выявлено, что в недифференцированном зиготическом зародыше пшеницы место возникновения апекса побега строго не детерминировано и вокруг апикальной части зародыша существует кольцо клеток, компетентное к формированию меристемы побега. В естественных условиях *in vivo* ауксин из базальной части зародыша транспортируется полярно в двух направлениях – к месту дифференциации апекса побега и к месту дифференциации семядоли (щитка) – и недоступен для других групп клеток зародыша. Однако при нарушении транспорта ауксин может накапливаться в клетках, в которых обычно его содержание низко. Авторы предположили, что эти клетки могут быть уже морфогенетически компетентными к приобретению меристематичности, либо же им для этого требуется импульс в виде потока ауксина. В результате формируются дополнительные меристемы побега и формируются полиэмбрионы. Это предположение согласуется с мнением, изложенным в работе (Нассиус, 1955), в которой впервые изучалось индуцированное образование полиэмбрионов под действием 2,4-Д. Автор считает, что недифференцированный зародыш уже обладает «апикальным доминированием». При действии ростовыми веществами, вероятно, повреждается группа клеток, из которой позднее возникнет апекс побега и которая подавляет формирование других апексов. При этом действие клеток будущего апекса прекращается, а клетки, которые в норме должны давать начало семядолям, дают начало новым апексам. Так как в культуре *in vitro* контроль поступления экзогенного ауксина в клетки не осуществляется, то, по-видимому, в нашем случае полиэмбриониды формируются в результате накопления 2,4-Д в эмбриоидах (вследствие непроницаемости плазмалеммы для диссоциированных молекул этого ауксина) и диффузного распределения его избыточного количества.

Образование морфогенных каллусов при повышенной концентрации 2,4-Д можно объяснить следующим образом. Согласно полученным цитологическим данным, начальным этапом формирования каллусов является формирование многоклеточных структур (МКС) за счет множественных митотических делений микроспор (От микроспоры..., 2010; Круглова, сельдиминова, 2011). Учитывая, что метаболизм синтетического ауксина 2,4-Д, по-видимому, осуществляется ферментами, которые в микроспорах предназначены для других целей (например, детоксикации ксенобиотиков (Гамбург и др., 1990)), можно полагать, что метаболизм 2,4-Д в данном случае осуществляется медленно, т.е. концентрация

этого ауксина в клетках МКС высока. В свою очередь, это приводит к пролиферации МКС и образованию каллуса. Со временем происходит снижение к МКС концентрации 2,4-Д, что ведет к дифференциации в массе каллуса групп меристематических клеток.

Образование неморфогенных каллусов при высоких концентрациях экзогенной 2,4-Д можно объяснить тем, что в ходе культивирования *in vitro* (которое по мнению Р.Г. Бутенко (1999) само по себе является стрессовым фактором) в пыльниках постепенно накапливается значительное количество гормона стресса - абсцизовой кислоты (АБК), что приводит к подавлению дифференциации продуктов митотических делений микроспор.

При концентрациях 2,4-Д выше 3.0 мг/л индукция морфогенеза не осуществлялась ни у одного генотипа. Возможно, это следствие токсичности высоких концентраций продуктов окисления 2,4-Д (Гамбург и др., 1990).

Таким образом, полученные данные подтверждают принципиальную возможность регуляции путей морфогенеза в культуре *in vitro* пыльников путем подбора адекватного для индукции желаемого пути баланса содержания эндогенного ауксина ИУК в пыльнике донорного растения и экзогенного ауксина 2,4-Д в питательной среде. Такой подход делает сложные процессы морфогенеза микроспоры пшеницы в культуре *in vitro* управляемыми – в зависимости от целей исследователей.

В работе использована приборная база Центра коллективного пользования “Агидель” УФИЦ РАН.

Работа выполнена по теме № 123020800002-2 в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № 075-01134-23-00.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
2. Гамбург К.З., Рекославская Н.И., Швецов С.Г. Ауксины в культурах тканей и клеток растений. Новосибирск: Наука, 1990. 243 с.
3. Круглова Н.Н. Каллусообразование и каллусогенез *in vitro* у злаков: роль гормонального баланса // Известия Уфимского научного центра РАН. 2022. № 1. С. 52–59. DOI: 10.31040/2222-8349-2022-0-1-52-59
4. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б. Методические рекомендации по использованию морфогенетического потенциала пыльника в биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы. Уфа: ИБ УНЦ РАН. 2002. 32 с.
5. Круглова Н.Н., Егорова О.В., Сельдиминова О.А., Зайцев Д.Ю., Зинатуллина А.Е. Световой микроскоп как инструмент в биотехнологии растений. Уфа: Гилем, Башк. энцикл., 2013. 128 с.
6. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: «Гилем», 2011. 124 с.
7. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для изучения органогенеза растений Известия Уфимского НЦ РАН. 2019. № 2. С. 44–54.
8. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е., Веселов Д.С. Участие абсцизовой кислоты в стимулировании соматического эмбриогенеза растений *in vitro* //

- Успехи современной биологии. 2018. Т. 138. № 5. С. 516–528. DOI: [10.7868/S0042132418050083](https://doi.org/10.7868/S0042132418050083)
9. От микроспоры – к сорту / Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. М.: Наука, 2010. 177 с.
 10. Сельдиминова О.А., Абрамов С.Н., Круглова Н.Н. Развитие микроспориальных эмбрионов в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. 2004. Т. 36. № 4. С. 320–326.
 11. Asif M. Progress and Opportunities of Doubled Haploid Production. Cham: Springer, 2013. 75 p. DOI: [10.1007/978-3-319-00732-8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-00732-8)
 12. Biotechnology in Agriculture and Forestry. V. 56: Haploids in Crop Improvement II / Eds Palmer C.E., Keller W.A., Kasha K.J. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2005. 318 p. DOI: [10.1007/b138240](https://doi.org/10.1007/b138240)
 13. Chuang Ch.-Ch., Ouyang T.-W. A set of potato media for wheat anther culture // Sympos. on Plant Tissue Culture: Proceed. Peking: Sci. Press., 1978. P. 52–56.
 14. Doubled Haploid Technology. Volume 1: General Topics, Alliaceae, Cereals // Methods in Molecular Biology / Ed. Segui-Simmaro J.M. New York: Humana, 2021. V. 2287/ 363 p. DOI: [10.1007/978-1-0716-1315-3](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1315-3)
 15. Fischer C., Neuhaus G. Influence of auxin on the establishment of bilateral symmetry in monocots // The Plant J. 1996. Vv. 9, № 5. P. 659 – 669. DOI: [10.1046/j.1365-313X.1996.9050659.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1996.9050659.x)
 16. Fischer C., Speth V., Fleig-Eberenz S., Neuhaus G. Induction of zygotic polyembryos in wheat: influence of auxin polar transport // The Plant Cell. 1997. V. 9. № 10. P. 1767 – 1780. DOI: [10.1105/tpc.9.10.1767](https://doi.org/10.1105/tpc.9.10.1767)
 17. Fundamentals of Field Crop Breeding / Yadava D.K., Dikshit H.K., Mishra G.P., Tripathi S. Springer Singapore, 2022. 1389 p. DOI: [10.1007/978-981-16-9257-4](https://doi.org/10.1007/978-981-16-9257-4)
 18. Gorbunova V.Y., Kруглова N.N., Abramov S.N. The Induction of Androgenesis *in vitro* in Spring Soft Wheat. Balance of Exogenous and Endogenous Phytohormones // Biology Bulletin. 2001. V. 28. № 1. P. 25–30. DOI: [10.1023/A:1026602603527](https://doi.org/10.1023/A:1026602603527)
 19. Haccius B. Experimentally induced twinning in plants // Nature. 1955. V. 176. № 4477. P. 355 – 356. DOI: [10.1038/176355a0](https://doi.org/10.1038/176355a0)
 20. *In Vitro* Embryogenesis in Higher Plants / Eds Germana M.A., Lambardi M. New York: Humana, 2016. 558 p. DOI: [10.1007/978-1-4939-3061-6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3061-6)
 21. Kруглова N.N., Seldimirova O.A., Veselov D.S. To the question about the involvement of auxins in induction and regulation of morphogenesis in callus model system *in vitro* (on the example of cereals) // Biomics. 2017. V. 9. № 4. P. 289–297.
 22. Kруглова N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A. Callusogenesis as an *in vitro* Morphogenesis Pathway in Cereals // Russ. J. Dev. Biol. 2018. V. 49. № 5. P. 245–249. DOI: [10.1134/S106236041805003X](https://doi.org/10.1134/S106236041805003X)
 23. Medvedev S.S. Mechanisms and physiological role of polarity in plants // Russ J Plant Physiol. 2012. V. 59. № 4. P. 502–514. DOI: [10.1134/S1021443712040085](https://doi.org/10.1134/S1021443712040085)
 24. Nic-Can G.I., Loyola-Vargas V.M. The Role of the Auxins During Somatic Embryogenesis // Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications / Eds Loyola-Vargas V.M., Ochoa-Alejo N. Cham: Springer, 2016. P. 171–182. DOI: [10.1007/978-3-319-33705-0_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0_10)
 25. Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action / Ed. Davies P.J. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: 2010. 802 p. DOI: [10.1007/978-1-4020-2686-7](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2686-7)

26. Polar Auxin Transport / Eds Chen R., Baluška F. Berlin, Heidelberg: Springer, 2013. 343 p. DOI: [10.1007/978-3-642-35299-7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-35299-7)
27. Rutkoski J.E., Krause M.R., Sorrells M.E. Breeding Methods: Line Development // Wheat Improvement / Eds Reynolds M.P., Braun HJ. Cham: Springer, 2022. P. 69–82. DOI: [10.1007/978-3-030-90673-3_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-90673-3_5)
28. Seldimirova O.A., Kruglova N.N. Properties of the initial stages of embryoidogenesis *in vitro* in wheat calli of various origin // Biology Bulletin. 2013. V. 40. № 5. P. 447–454. DOI: [10.1134/S1062359013050154](https://doi.org/10.1134/S1062359013050154)
29. Seldimirova O.A., Kruglova N.N., Titova G.E. A complex morpho-histological approach to the *in vitro* study of morphogenic structures in a wheat anther culture // Biology Bulletin. 2016. V. 43. № 2. P. 121–126. DOI: [10.1134/S1062359016020084](https://doi.org/10.1134/S1062359016020084)
30. Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications / Eds Loyola-Vargas V.M., Ochoa-Alejo N. Cham: Springer, 2016. 506 p. DOI: [10.1007/978-3-319-33705-10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-10)
31. Somatic Embryogenesis. Methods and Protocols / Ed. Ramírez-Mosqueda M.A. New York: Humana, 2022. 276 p. DOI: [10.1007/978-1-0716-2485-2](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2485-2)
32. 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 // Russian Journal of Developmental Biology. 2016. V. 47, № 3. P. 122–137. DOI: [10.1134/S10623604160300x61](https://doi.org/10.1134/S10623604160300x61)
33. Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R., Egutkin N.L., Gyuli-Zade V.Z., Mustafina A.R., Kof E.M. Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole-3-acetic acid // Physiologia Plantarum. 1992. V. 86. № 1. P. 93–96. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1992.tb01316.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb01316.x)

Цитировать как

Сельдимирова О.А., Галин И.Р., Абрамов С.Н.
Пути морфогенеза в культуре *in vitro* изолированных
пыльников пшеницы: роль баланса фитогормонов
// Экобиотех, 2023. Т. 6 (1). С. 53-63. DOI: [10.31163/2618-964X-2023-6-1-53-63](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-1-53-63). EDN: NXPQOB

Cited as

Seldimirova O.A., Galin I.R., Abramov S.N. Morphogenesis
pathways *in vitro* in isolated anther culture of wheat: the role of
phytohormone balance. *Ekobiotech*. 2023. V. 6 (1). P. 53-63.
DOI: [10.31163/2618-964X-2023-6-1-53-63](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-1-53-63). EDN: NXPQOB
(In Rus.)