ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotex-journal.ru>

ФЕНОМЕН ОБРАЗОВАНИЯ ПЫЛЬЦЕВЫХ ТРУБОК В АНДРОКЛИННЫХ КАЛЛУСАХ ПШЕНИЦЫ *IN VITRO*

Круглова Н.Н.*, Сельдимирова О.А.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН

*E-mail: kruglova@anrb.ru

Андроклинные каллусы, полученные в культуре *in vitro* пыльников пшеницы, исследованы методом сканирующей электронной микроскопии. Обнаружены случаи образования прорастающих пыльцевых трубок среди каллусных клеток. Обсуждаются возможные пути формирования пыльцевых трубок внутри каллуса и физиологические факторы, этому способствующие. Предлагается использование андроклинного каллуса *in vitro* как модельной системы для изучения механизмов формирования пыльцевых трубок, а также взаимоотношений пыльца-пестик.

Ключевые слова: пыльник, пыльцевое зерно, пыльцевая трубка, андроклиния, морфогенез *in vitro*, каллус, пшеница

THE PHENOMENON OF POLLEN TUBES FORMATION IN WHEAT ANDROCLYNIC CALLI *IN VITRO*

Kruglova N.N.*, Seldimirova O.A.

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

*E-mail: kruglova@anrb.ru

Wheat androclonic calli obtained in anther culture *in vitro* were studied by the method of scanning electron microscopy. It has been established the facts of the formation of germinating pollen tubes among callus cells. Possible pathways of the formation of pollen tubes within callus and physiological factors contributed to its formation are discussed. It has been proposed the use of androclonic callus *in vitro* as the model system for studying of mechanisms of pollen tubes formation as well as pollen grain-pistil interactions.

Keywords: anther, pollen grain, pollen tube, androclonia, morphogenesis *in vitro*, callus, wheat

Поступила в редакцию: 17.01.2020

DOI: [10.31163/2618-964X-2020-3-1-1-12](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-1-1-12)

ВВЕДЕНИЕ

Биологический феномен андроклинии состоит в переключении морфогенетической программы развития гаплоидных клеток пыльника под действием внешнего стрессового фактора с обычного гаметофитного пути, связанного с образованием пыльцевого зерна, на иной путь – спорофитный, ведущий к формированию гаплоидного растения-регенеранта. При этом клетки, по аналогии с событиями *in vivo* (обзор: Kalinowska et al., 2018), реализуют свой потенциал различными путями морфогенеза *in vitro*.

Один из путей спорофитного развития микроспор ведет к образованию андроклинного каллуса – интегрированной гетерогенной системы, в данном случае формирующейся в результате пролиферации инициальной микроспоры и изначально состоящей из групп неоднородных клеток, имеющих морфогенетические потенции, которые в условиях *in vitro* реализуются различными путями на регенерационной среде (по: Круглова и др., 2018в; Kruglova et al., 2018b).

Сотрудниками лабораторий экспериментальной эмбриологии растений и физиологии растений УИБ УФИЦ РАН выявлены и с применением комплекса методов изучены такие пути морфогенеза клеток каллуса *in vitro* у пшеницы и ячменя, как эмбриоидогенез/полиэмбриоидогенез (формирование эмбриоида/полиэмбриоида – зародышеподобной структуры), органогенез по типам геммогенеза (формирование почек),

ризогенеза (формирование корней), гемморизогенеза (формирование и почек, и корней), а также гистогенез (формирование различных тканей) (Круглова, Горбунова, 1997; Круглова, 2002, 2012, 2019а,б,в; Круглова и др., 1999, 2001, 2005, 2015, 2017а,б,в, 2018а,б,в, 2019а,б,в,г, 2020; Батыгина и др., 2010; Круглова, Сельдимирова, 2010, 2011, 2013, 2015, 2018; Зайцев и др., 2011, 2013; Круглова, Дубровная, 2011; Сельдимирова и др., 2011, 2015, 2016, 2017а,б,в, 2018а,б, 2019а,б; Круглова, Никонов, 2012, 2018; Сельдимирова, Круглова, 2013, 2014а,б, 2015а,б; Круглова, Зинатуллина, 2014, 2018; Титова и др., 2016; Галин и др., 2018; Галин, Сельдимирова, 2019; Зайцев, Зинатуллина, 2019; Зинатуллина, 2019а,б, 2020; Круглова, 2019а,б,в,г; Круглова и др., 2020а,б; Seldimirova, Kruglova, 2013, 2015; Titova et al., 2016; Kruglova et al., 2017, 2018а,б; Seldimirova et al., 2016а,б,с, 2017а,б, 2019а,б). Полученные данные совпадают с результатами аналогичных исследований других растений, включая хлебные злаки (обзоры: Segui-Simarro, Nuez, 2008; Dunwell, 2010; Segui-Simarro, 2010; Germana, 2011; Soriano et al., 2013; Sugiyama, 2015; Doubled Haploidy ..., 2016; Ren et al., 2017).

При, казалось бы, достаточной степени изученности, явление андроклинии продолжает привлекать внимание исследователей своей нетрадиционностью. Так, нами при изучении андроклинных каллусов пшеницы отмечены интересные случаи образования пыльцевых трубок, располагающихся среди каллусных клеток.

Цель данной работы состояла в анализе путей формирования пыльцевых трубок внутри андроклинного каллуса пшеницы в условиях выполненных экспериментов *in vitro* и факторов, способствующих этому феномену.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования послужил сорт яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) Sonalika. Пыльники пшеницы этого сорта, согласно предварительной оценке (Круглова, Сельдимирова, 2011), характеризуются высокой частотой образования андроклинных каллусов. Донорные растения выращивали в полевых условиях научного стационара Уфимского Института биологии УФИЦ РАН (Уфимский район).

Пыльники культивировали согласно методу культуры *in vitro* пыльников яровой мягкой пшеницы, основанного на применении данных эмбриологии растений (Круглова, Сельдимирова, 2011; Основы биотехнологии растений, 2017). При этом андроклинные каллусы получали при концентрации синтетического ауксина 2,4-Д в 1.5 мг/л в составе индукционной питательной среды Potato II.

Андроклинные каллусы исследовали методом сканирующей электронной микроскопии. Фиксацию и подготовку объектов проводили согласно методике, разработанной и любезно предоставленной сотрудниками лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН (г. Санкт-Петербург). Образцы высушивали с помощью прибора “Critical point” (Hitachi, Japan, с напылением золотом в вакууме) и изучали на сканирующем электронном микроскопе (JSM 35, JSM-6390, Jeol, Japan) на базе ЦКП БИН РАН (г. Санкт-Петербург) согласно договору о творческом сотрудничестве.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Андроклинные каллусы появлялись на поверхности пыльников на 28–30 сут культивирования *in vitro*. При анализе данных сканирования поверхности каллусов обнаружены интересные случаи формирования пыльцевых трубок среди каллусных клеток (рис.).

Рис. Образование пыльцевых трубок в андроклином каллусе пшеницы на 28-30 сут культивирования пыльников *in vitro* (по данным сканирующей электронной микроскопии): а) x 48; б) x 240; в) x 100; г) x 240. Условные обозначения: АК – андроклиный каллус, ПТ – пыльцевая трубка

Сведений об образовании пыльцевых трубок среди клеток андроклиных каллусов нами в литературе не встречено.

Как известно, пыльцевая трубка – специализированная структура, в природных условиях *in vivo* обеспечивающая доставку мужских гамет-спермиев от пыльцевого зерна к женским гаметам – яйцеклетке и центральной клетке зародышевого мешка. По своему происхождению это вырост вегетативной клетки пыльцевого зерна (по: Эмбриология цветковых растений, 1994).

Интересен вопрос о путях формирования пыльцевых трубок среди клеток андроклиного каллуса.

Согласно данным эмбриологии растений, спорогенные клетки пыльника в условиях *in vivo* в своем развитии проходят ряд стадий: спорогенная клетка – микроспороцит – микроспора – пыльцевое зерно (сначала двуклеточное, затем трехклеточное); далее на рыльце пестика пыльцевое зерно прорастает в пыльцевую трубку (по: Эмбриология цветковых растений, 1994). При культивировании *in vitro* в эксперимент вводятся пыльники, содержащие спорогенные клетки в той или иной фазе развития, оптимальной для индукции андроклинии. Так, нами (Круглова, 2002; Круглова и др., 2005; Батыгина и др., 2010; Круглова, Сельдимирова, 2011; Основы биотехнологии растений, 2017; Круглова, Никонов, 2018; Круглова, 2019а,б) на примере обширной коллекции из сортов, гибридных форм и гибридов яровой мягкой пшеницы было показано, что инициальными клетками андроклинии

являются сильновакуолизированные микроспоры, согласно периодизации развития пыльника злаков в авторской разработке (Круглова, 1999).

Дальнейшее развитие микроспор в пыльниках *in vitro* проходит различными путями морфогенеза. Один из них, наиболее важный для экспериментатора-биотехнолога, - переключение развития микроспор с обычного гаметофитного пути на принципиально иной – спорофитный путь, ведущий к формированию *in vitro* регенерантов.

Однако на путь морфогенеза *in vitro* по спорофитной программе вступает лишь часть популяции микроспор пыльника. На примере культивируемых пыльников пшеницы, а также озимой ржи ранее нами было показано, что часть микроспор продолжает развитие по гаметофитной программе до фазы зрелого трехклеточного пыльцевого зерна; часть микроспор останавливается в своем развитии в фазе сильновакуолизированной микроспоры; часть микроспор постепенно дегенерирует (Круглова, 2002).

Пути развития части микроспор по той или иной программе, остановка в развитии или дегенерация части микроспор определяются, по-видимому, индивидуальными физиолого-биохимическими, архитектурными или иными особенностями этих клеток. Немаловажно и то, что микроспоры, в силу асинхронности развития в пределах пыльника, находятся в различных фазах клеточного цикла. Кроме того, чрезвычайно важно учитывать особенности состояния отдельных тканей стенки гнезда культивируемого пыльника, взаимодействие их как друг с другом, так и с микроспорами (Круглова, Зинатуллина, 2018; Зинатуллина, 2019а).

В целом, данная проблема, тесно связанная с общей проблемой морфогенетической компетентности, плюри- и тотипотентности клеток (обзоры: Feher, 2019; Круглова и др., 2020 и др.), требует дальнейшего исследования. В контексте данной статьи важен тот факт, что часть сильновакуолизированных микроспор в условиях культуры *in vitro* продолжает развиваться по гаметофитной программе до формирования зрелого трехклеточного пыльцевого зерна, в принципе способного прорасти в пыльцевую трубку.

В условиях *in vivo* прорастание пыльцевых зерен зависит от ряда внутренних и внешних факторов. Один из них – обеспечение прорастающих пыльцевых зерен питательными веществами, главным образом углеводами и минеральными солями (по: Голубинский, 1974; Зайцев и др., 2005; Маслова и др., 2005; Круглова, 2009а,б, 2011а,б, 2012а,б; Круглова, Маслова, 2011; Wang et al., 2011; Cerovic et al., 2014; Круглова, 2020). Эти компоненты в достаточном количестве входят в состав примененной нами для культивирования *in vitro* пыльников пшеницы модифицированной питательной среды.

На основании анализа литературных данных, посвященных исследованиям, проведенным при соблюдении соответствующих условий инкубации пыльцы *in vitro* (Impe et al., 2020 и мн. др.) можно заключить, что формированию пыльцевой трубки предшествует активация пыльцевого зерна. Этот процесс включает начальное повышение интенсивности дыхания, активацию митохондрий, использование запасных веществ пыльцевого зерна и развитие мембранной системы диктиосом, участвующих в росте плазматической мембраны и образовании стенки пыльцевой трубки (Shi et al., 2010; Wallace et al., 2011; McDowell et al., 2015). Аналогичные явления отмечены, например, при формировании трихом на листьях подсолнечника (Aschenbrenner et al., 2013).

Условия культивирования *in vitro* пыльников создают необходимые условия для активации пыльцевых зерен, что подтверждается проведенными нами ранее ультраструктурными исследованиями культивируемых пыльников пшеницы, в том числе микроспор (Сельдимирова и др., 2016, 2017в; Seldimirova et al., 2016b, 2017b).

В условиях *in vivo* рост пыльцевой трубки является направленным. На поверхности рыльца пыльцевая трубка растет по направлению к проводниковой ткани, а внутри нее – к завязи, затем к семязпочке. В ходе различных экспериментов был продемонстрирован эффект привлечения пыльцевой трубки рыльцем пестика в виде хемотропизма, при этом фактором привлечения пыльцевой трубки предположительно является кальций, который ускоряет удлинение пыльцевой трубки и необходим для поддержания ориентированного экзоцитоза в кончике пыльцевой трубки (по: Falasca et al., 2008; Williams, 2012; Niu et al., 2013; Vanneste, Friml, 2013; Xu et al., 2014; Rasouli et al., 2019).

В условиях культуры *in vitro* пыльников факторы, обуславливающие направленный рост пыльцевых трубок, также присутствуют. В частности, кальций и органические компоненты присутствуют в составе использованной нами для культивирования пыльников модифицированной питательной среды Potato II.

В целом, согласно литературным данным (Голубинский, 1974; Mahalakshmi et al., 2007; Williams, 2012; Cerovic et al., 2014; Ковалева и др., 2016), в хемотропном привлечении пыльцевых трубок в условиях *in vivo* значительную роль играют генетический фон, содержание питательных веществ в пыльцевом зерне и в проводниковой ткани пестика, а также градиенты определенных веществ в пыльцевом зерне и пестике. Пыльцевые трубки, образовавшиеся среди клеток андроклиных каллусов, могут послужить моделью для изучения сложной проблемы хемотропизма в контролируемых условиях *in vitro*.

Интересен вопрос о том, каков способ формирования пыльцевых трубок среди клеток каллусов. На наш взгляд, каллус, берущий начало от морфогенетически компетентной микроспоры, в ходе своего раннего развития внутри гнезда пыльника среди популяции других микроспор, «захватывает» часть этих микроспор в свой состав и выносит с собой на поверхность пыльника. Внутри каллуса создаются физиологические условия, необходимые и достаточные для развития «захваченных» микроспор до зрелых пыльцевых зерен и прорастания их в пыльцевые трубки.

Несмотря на достижения в разработке и применении метода культуры *in vitro* пыльников как биотехнологического приема, до настоящего времени в этой области исследований не решены многие методологические и методические проблемы. Для их решения необходимо привлечение данных эмбриологии растений. С другой стороны, и культивируемые каллусы могут служить в качестве модельных систем для решения ряда проблем эмбриологии растений, например различных аспектов формирования и прорастания пыльцевых трубок, а также взаимоотношений рыльца-пестик.

Авторы выражают искреннюю благодарность заведующей лабораторией эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН (г. Санкт-Петербург) к.б.н. Г.Е. Титовой за большую помощь в проведении работ по сканированию поверхности каллусов пшеницы.

В работе использована приборная база ЦКП БИН РАН (г. Санкт-Петербург) и ЦКП “Агидель” УФИЦ РАН (г. Уфа).

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. От микроспоры – к сорту. М.: Наука, 2010. 174 с.
2. 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.bmcs.2018-17](https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2018-17)
3. Галин И.Р., Сельдимирова О.А. Распределение эндогенной ИУК в полиэмбриоидах *in vitro* у пшеницы на разных этапах развития: данные иммуногистохимического анализа // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 1. С. 63-74. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-1-63-74](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-63-74)
 4. Голубинский И.Н. Биология прорастания пыльцы. Киев: Наукова думка, 1974. 368 с.
 5. Зайцев Д.Ю., Зинатуллина А.Е. Гормональная регуляция морфогенеза *in vitro* в андроклиных каллусах злаков: обзор проблемы // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 2. С. 143-156. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-2-143-156](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-2-143-156)
 6. Зайцев Д.Ю., Зинатуллина А.Е., Маслова Н.В. Оценка жизнеспособности пыльцевых зерен в условиях *in vivo* и *in vitro* по прижизненной кислотности // Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия. Тез. докл. междунар. конф. Вологда, 2005. С. 67.
 7. Зайцев Д.Ю., Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Морфогенез в культуре андроклиных каллусов пшеницы *in vitro*: начальный этап // Известия Уфимского научного центра РАН. 2011. № 2. С. 32-35.
 8. Зайцев Д.Ю., Сельдимирова О.А., Галин И.Р., Круглова Н.Н. Иммунолокализация цитокининов в клетках корней, формирующихся в каллусах пшеницы зародышевого происхождения // Известия Самарского научного центра РАН. 2013. Т. 15. № 3(5). С. 1606-1609.
 9. Зинатуллина А.Е. Перемещения ядер и клеток в развивающихся пыльцевых зернах при органогенезе пыльника злаков как интегрированной системы // Экобиотех. 2019а. Т. 2. № 1. С. 1-18. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-1-1-18](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-1-18)
 10. Зинатуллина А.Е. Феномен гемморизогенеза как типа органогенеза *in vitro* в биотехнологических исследованиях хлебных злаков // Экобиотех. 2019б. Т. 2. № 2. С. 116-127. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-2-116-127](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-2-116-127)
 11. Зинатуллина А.Е. Цитофизиологические особенности контрастных типов каллусов *in vitro* // Успехи современной биологии. 2020. Т. 140. № 2. С. 1-12. DOI: [10.31857/S0042132420020040](https://doi.org/10.31857/S0042132420020040)
 12. Ковалева Л.В., Воронков А.С., Захарова Е.В., Минкина Ю.В., Тимофеева Г.В., Андреев И.М. Экзогенные ИУК и АБК стимулируют прорастание мужского гаметофита петунии, активируя Ca^{2+} -зависимые K^{+} -каналы и модулируя активность H^{+} -атфазы плазмалеммы и актинового цитоскелета // Онтогенез. 2016. Т. 47. № 3. С. 138-151. DOI: [10.7868/S0475145016030034](https://doi.org/10.7868/S0475145016030034)
 13. Круглова А.Е. Эмбриологический подход к проблеме сохранения редкого и исчезающего эндемика Южного Урала остролодочника сходного // Аграрная Россия. 2009а. № S1. С. 111-112.
 14. Круглова А.Е. Эмбриология редкого вида Южного Урала остролодочника сходного: морфогенез пыльника // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009б. № 6 (100). С. 172-173.
 15. Круглова А.Е. Оценка качества пыльцевых зерен в зрелых пыльниках остролодочника сходного в условиях интродукции // Вестник Удмуртского ун-та. Серия Биология. Науки о Земле. 2011а. № 1. С. 67-74.
 16. Круглова А.Е. Периодизация морфогенеза пыльника растений рода Остролодочник *Oxytropis* DC. (Fabaceae) // Известия Самарского научного центра РАН. 2011б. Т. 13. № 5-3. С. 55-58.

17. Круглова А.Е. Эмбриология растений семейства *Fabaceae* Lindl. (обзор проблемы) // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012а. № 3. С. 26-34.
18. Круглова А.Е. Эмбриология редкого эндемика Южного Урала *Oxytropis baschkirensis* Knjasev (*Fabaceae* Lindl.) в условиях интродукции: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2012б. 24 с.
19. Круглова А.Е., Маслова Н.В. Сопряженность морфогенеза генеративных органов в цветках растений остролодочника *Oxytropis* DC. (*Fabaceae* Lindl.) // Известия Самарского научного центра РАН. 2011. Т. 13. № 5(3). С. 59-64.
20. Круглова Н.Н. Периодизация развития пыльника злаков как методологический аспект изучения андрогенеза *in vitro* // Известия РАН. Серия биол. 1999. № 3. С. 275-281.
21. Круглова Н.Н. Микроспора злаков как модельная система для изучения путей морфогенеза: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 2002. 48 с.
22. Круглова Н.Н. Оптимизация биотехнологии получения растений пшеницы в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 3. С. 57-61.
23. Круглова Н.Н. К проблеме унификации терминологии при разработке инновационной биотехнологии андроклиной гаплоидии (на примере яровой мягкой пшеницы) // Экобиотех. 2019а. Т. 2. № 2. С. 190-194.
24. Круглова Н.Н. Инновационная биотехнология андроклиной гаплоидии пшеницы на основе комплекса эмбриологических и цитофизиологических данных // Экобиотех. 2019б. 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)
25. Круглова Н.Н. Органогенез злаков на ранних этапах онтогенеза *in vivo* как структурная основа экспериментальных исследований *in vitro* // Экобиотех. 2019в. Т. 2. № 1. С. 36-50. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-1-36-50](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-36-50)
26. Круглова Н.Н. Оценка качества пыльцевых зерен цветковых растений (обзор) // Бюлл. ГНБС. 2020. В печати.
27. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. Каллусогенез как путь морфогенеза в культуре изолированных пыльников злаков // Успехи современной биологии. 1997. Т. 117. Вып. 1. С. 83-94.
28. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Куксо П.А. Морфогенез в культуре изолированных пыльников: роль фитогормонов // Успехи современной биологии. 1999. Т. 119. Вып. 6. С. 567-577.
29. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Абрамов С.Н., Сельдиминова О.А. Андрогенные эмбриониды и каллусы пшеницы: данные сканирующей электронной микроскопии // Известия РАН. Серия биол. 2001. № 2. С. 191-197.
30. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. Эмбриологические основы андроклинии пшеницы. М.: Наука, 2005. 99 с.
31. Круглова Н.Н., Дубровная О.В. Морфогенез андроклиных каллусов злаков *in vitro* // Физиология и биохимия культурных растений. 2011. Т. 43. № 1. С. 15-25.
32. Круглова Н.Н., Зинатуллина А.Е. Разработка экспресс-диагностической биотехнологии получения засухоустойчивых растений пшеницы на основе эмбриокультуры *in vitro* // Сборник статей междунар. научн. конф. «Биотехнологические приемы в сохранении биоразнообразия и селекции растений». Минск, 2014. С. 136-139.
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](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2018-1-3-143-160)
34. Круглова Н.Н., Никонов В.И. Оценка экспланта для биотехнологических разработок в

- целях адаптационной селекции яровой мягкой пшеницы в засушливых условиях Южного Урала // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 3. С. 15-18.
35. Круглова Н.Н., Никонов В.И. Морфометрический критерий оптимальной стадии развития пыльника при биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 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)
36. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А. Морфогенез в андроклиных каллусах злаков: цитогистологические особенности // Успехи современной биологии. 2010. Т. 130. № 3. С. 247-257.
37. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
38. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А. Пути морфогенеза *in vitro* клеток андроклиного каллуса пшеницы // Физиология растений и генетика. 2013. Т. 45. № 5. С. 382-389.
39. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А. Сравнительная оценка частоты образования андроклиных эмбриоидов у родительских сортов, гибридов F1 и дигаметоидных линий гибридов F1 яровой мягкой пшеницы // Пермский аграрный вестник. 2015. № 2(10). С. 66-71.
40. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А. Потенциально морфогенный каллус пшеницы в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра 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)
41. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зайцев Д.Ю., Галин И.Р., Зинатуллина А.Е. Биотехнология получения растений яровой мягкой пшеницы на основе феномена андроклиной эмбриоидогении *in vitro* // Сборник статей междунар. научно-практ. конф. «Биотехнология и общество в XXI веке». Барнаул, 2015. С. 366-370.
42. Круглова Н.Н., Сельдиминова 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.
43. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зайцев Д.Ю., Галин И.Р., Зинатуллина А.Е., Анохина Н.С. Развитие андроклиных регенерантов пшеницы в лабораторных условиях *in vitro* и *ex vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017б. № 3. С. 21-25.
44. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зайцев Д.Ю., Галин И.Р., Зинатуллина А.Е., Анохина Н.С. Развитие андроклиных регенерантов пшеницы в полевых условиях *in vivo* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017в. № 3. С. 26-30.
45. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для исследования стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам (на примере злаков) // Успехи современной биологии. 2018а. Т. 138. № 3. С. 283-293. DOI: [10.7868/S0042132418030067](https://doi.org/10.7868/S0042132418030067)
46. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е., Веселов Д.С. Абсцизовая кислота в системах культуры *in vitro* эксплантов // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018б. № 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)
47. Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А. Каллусогенез как путь морфогенеза *in vitro* у злаков // Онтогенез. 2018в. Т. 49. № 5. С. 273-288. DOI: [10.1134/S0475145018050038](https://doi.org/10.1134/S0475145018050038)
48. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е. Гистологический статус зародыша пшеницы в стадии органогенеза *in vivo*, оптимальной для получения морфогенного каллуса *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2019а. №

1. С. 25-29. DOI: [10.31040/2222-8349-2019-0-1-25-29](https://doi.org/10.31040/2222-8349-2019-0-1-25-29)
49. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для изучения органогенеза растений // Известия Уфимского научного центра РАН. 2019б. № 2. С. 44-54. DOI: [10.31040/2222-8349-2019-2-44-54](https://doi.org/10.31040/2222-8349-2019-2-44-54).
50. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е. Структурные особенности и гормональная регуляция зиготического эмбриогенеза злаков // Успехи современной биологии. 2019в. Т. 139. № 4. С. 326-337. DOI: [10.1134/S0042132419040057](https://doi.org/10.1134/S0042132419040057)
51. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е., Никонов В.И. Выявление засухоустойчивых генотипов пшеницы в культуре незрелых зародышей *in vitro* // Вестник БГАУ. 2019г. Т. 52. № 4. С. 37-41. DOI: [10.31563/1684-7628-2019-52-4-37-41](https://doi.org/10.31563/1684-7628-2019-52-4-37-41)
52. Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е. 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)
53. Маслова Н.В., Круглова Н.Н., Зинатуллина А.Е. Семенная продуктивность *Oxytropis uralenses* (L.) DC. в местах естественного произрастания // Популяции в пространстве и времени. Сборник материалов VIII Всеросс. популяц. семинара. Нижний Новгород, 2005. С. 231-232.
54. Основы биотехнологии растений / Б.Р. Кулуев, Н.Н. Круглова, А.А. Зарипова, Р.Г. Фархутдинов. Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. 244 с.
55. Сельдиминова О.А., Катасонова А.А., Круглова Н.Н. Формирование морфогенетического очага как начальный этап морфогенеза *in vitro* в каллусах различного происхождения у пшеницы // Физиология и биохимия культурных растений. 2011. Т. 43. № 4. С. 297-306.
56. Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н. Особенности начальных этапов эмбриогенеза *in vitro* в каллусах различного происхождения // Известия РАН. Серия биологическая. 2013. № 5. С. 565-573. DOI: [10.7868/S0002332913050159](https://doi.org/10.7868/S0002332913050159)
57. Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н. Андроклиный эмбриогенез *in vitro* злаков // Успехи современной биологии. 2014а. Т. 134. № 5. С. 476-487.
58. Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н. Эмбриогенез *in vitro* как биотехнологический подход к сохранению биоразнообразия // Сборник статей междунар. конф. «Биотехнологические приемы в сохранении биоразнообразия и селекции растений». Минск, 2014б. С. 218-220.
59. Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н. Баланс эндогенных и экзогенных гормонов и пути морфогенеза в андроклиных каллусах пшеницы *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2015а. № 1. С. 33-39.
60. Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н. Комплексный цито-физиологический подход к изучению андроклиного эмбриогенеза // Современные проблемы науки и образования. 2015б. № 3. С. 541.
61. Сельдиминова О.А., Титова Г.Е., Круглова Н.Н. Андроклинные «сиамские зародыши» пшеницы *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2015. № 4-1. С. 137-142.
62. Сельдиминова 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.
63. Сельдиминова 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 // Физиология растений. 2017а. Т. 64. № 6. С. 461-472. DOI: [10.1134/S1021443717060085](https://doi.org/10.1134/S1021443717060085)
64. Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н., Веселов Д.С., Яновская А.А. Оптимизация состава питательной среды для индукции каллусообразования у ячменя сорта Septoe и его АБК-дефицитного мутанта AZ34 // Биомика. 2017б. Т. 9. № 4. С. 298-303.
65. Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Батыгина Т.Б. Сравнительный ультраструктурный анализ формирующихся микроспориальных эмбрионидов *in vitro* и зиготических зародышей *in vivo* пшеницы как основа понимания цитофизиологических аспектов их развития // Онтогенез. 2017в. Т. 48. № 3. С. 220-233. DOI: [10.7868/S0475145017030119](https://doi.org/10.7868/S0475145017030119)
66. Сельдиминова О.А., Галин И.Р., Круглова Н.Н., Веселов Д.С. Эмбриоидогенная способность каллусов пшеницы и ячменя *in vitro* определяется балансом содержания эндогенных фитогормонов // Биомика. 2018а. Т. 10. № 4. С. 381-386. DOI: [10.31301/2221-6197.bmcs.2018-49](https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2018-49)
67. Сельдиминова 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. 2018б. 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)
68. Сельдиминова О.А., Кудоярова Г.Р., Галин И.Р., Веселов Д.С. Круглова Н.Н. Влияние ингибиторов синтеза АБК и транспорта ауксинов на морфогенез в культуре *in vitro* и активность пероксидаз у дефицитного по АБК мутанта ячменя и его исходного генотипа // Биомика. 2019а. Т. 11. № 4. С. 386-393. DOI: [10.31301/2221-6197.bmcs.2019-30](https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2019-30)
69. Сельдиминова 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. 2019б. Т. 50. № 3. С. 181-193. DOI [10.1134/S0475145019030054](https://doi.org/10.1134/S0475145019030054)
70. Титова Г.Е., Сельдиминова О.А., Круглова Н.Н., Галин И.Р., Батыгина Т.Б. Феномен «сиамские зародыши» у злаков *in vivo* и *in vitro*: кливажная полиэмбриогения и фасциации // Онтогенез. 2016. Т. 47. № 3. С. 152–169. DOI: [10.7868/S047514501603006X](https://doi.org/10.7868/S047514501603006X)
71. Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 1. Генеративные органы цветка / Т.Б. Батыгина (ред.). СПб.: Мир и семья, 1994. 508 с.
72. Aschenbrenner A.-K., Horakh S., Spring O. Linear glandular trihomes of *Helianthus* (Asteraceae): morphology, localization, metabolism activity and occurrence // AoB Plants. 2013. 5: plt028. DOI: [10.1093/aobpla/plt028](https://doi.org/10.1093/aobpla/plt028)
73. Cerovic R., Pajic Z., Filipovic M., Fotiric-Aksic M., Radicevic S., Nikolic D., Dordevic M. Pollen germination and pollen tube growth in ZP maize lines // Genetika. 2014. V. 46. P. 935-948. DOI: [10.2298/GENSR1403935C](https://doi.org/10.2298/GENSR1403935C)
74. Doubled Haploidy in Model and Recalcitrant Species / J.M. Segui-Simarro (ed.). 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)
75. 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)
76. Falasca G., Capitani F., Della Rovere F., Zaghi D., Franchin C., Biondi S., Altamura M.M. Oligogalacturonides enhance cytokinin-induced vegetative shoot formation in tobacco explants, inhibit polyamine biosynthetic gene expression, and promote long-term remobilisation of cell calcium // Planta. 2008. V. 227. P. 835–852.

77. Feher A. Callus, Dedifferentiation, Totipotency, Somatic Embryogenesis: What These Terms Mean in the Era of Molecular Plant Biology? // *Front. Plant Sci.* 2019. DOI: [10.3389/fpls.2019.00536](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00536)
78. Germana M.A. Anther culture for haploid and doubled haploid production // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2011. V. 104. P. 283-300. DOI: [10.1007/s11240-010-9852-z](https://doi.org/10.1007/s11240-010-9852-z)
79. Impe D., Reitz J., Kopnick C., Rolletschek H., Borner A., Senula A., Nagel M. Assessment of Pollen Viability for Wheat // *Front. Plant Sci.* 2020. DOI: [10.3389/fpls.2019.01588](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01588)
80. Kalinowska K., Chamas S., Unkel K., Demidov D., Lermontova I., Dresselhaus Th., Kumlehn J., Dunemann F., Houben A. State-of-the-art and novel development of in vivo haploid technologies // *Theor. Appl. Genetics.* 2018. DOI: [10.1007/s00122-018-3261-9](https://doi.org/10.1007/s00122-018-3261-9)
81. 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 физиология. 2017. Т. 3. № 1. С. 3-7. DOI: [10.18413/2409-0298-2017-3-1-3-7](https://doi.org/10.18413/2409-0298-2017-3-1-3-7)
82. 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) // *Biol. Bull. Rev.* 2018a. V. 8. P. 518-526. DOI: [10.1134/S2079086418060063](https://doi.org/10.1134/S2079086418060063)
83. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A. Callusogenesis as an in vitro Morphogenesis Pathway in Cereals // *Russ. J. Dev. Biol.* 2018b. V. 49. P. 245-259. DOI: [10.1134/S106236041805003X](https://doi.org/10.1134/S106236041805003X)
84. Mahalakshmi A., Singla B., Khurana J.P., Khurana P. (2007) Role of calcium-calmodulin in auxin-induced somatic embryogenesis in leaf base cultures of wheat (*Triticum aestivum* var. HD 2329) // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2007. V. 88. P. 167–174.
85. McDowell S.C., Lopez-Marques R.L., Cohen T., Brown E., Rosenberg A., Palmgren M.G., Harper J.F. Loss of the *Arabidopsis thaliana* P4-ATPases ALA6 and ALA7 impairs pollen fitness and alters the pollen tube plasma membrane // *Front. Plant Sci.* 2015. DOI: [10.3389/fpls.2015.00197](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00197)
86. Niu Q.K., Liang Y., Zhou J.J., Dou X.Y., Gao S.C., Chen L.Q., Zhang X.Q., Ye D. Pollen-Expressed Transcription Factor 2 Encodes a Novel Plant-Specific TFIIB-Related Protein that Is Required for Pollen Germination and Embryogenesis in *Arabidopsis* // *Mol. Plant.* 2013. V. 6. P. 1091-1108. DOI: [10.1093/mp/sst083](https://doi.org/10.1093/mp/sst083)
87. Rasouli M., Qarahlar B., Karimi R. The Effect of Pollen Type of Some Walnut Genotypes on Fruit Set and Fruit Quantitative Characteristics of MSG₁₅, MKG₂₃ and MKG₂₄ as seed Parents // *Plant Prod.* 2019. V. 42. P. 307-320. DOI: [10.22055/ppd.2019.22840.1498](https://doi.org/10.22055/ppd.2019.22840.1498)
88. Ren J., Wu P., Trampe B., Tian X. Novel technologies in doubled haploid line development // *Plant Biotechn. J.* 2017. V. 15. DOI: [10.1111/pbi.12805](https://doi.org/10.1111/pbi.12805)
89. 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)
90. Segui-Simarro J.M., Nuez F. How microspores transform into haploid embryos: changes associated with embryogenesis induction and microspore-derived embryogenesis // *Physiol. Plant.* 2008. V. 134. P. 1–12. DOI: [10.1111/j.1399-3054.2008.01113.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01113.x)
91. 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)
92. Seldimirova O.A., Kruglova N.N. Androclinic embryoidogenesis *in vitro* in cereals // *Biol. Bull. Rev.* 2015. V. 5. P. 156-165. DOI: [10.1134/S2079086415020073](https://doi.org/10.1134/S2079086415020073)
93. 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 Cell. Dev. Biol. – Plant. 2016a. V. 52. P. 251-264. DOI: [10.1007/s11627-016-9767-4](https://doi.org/10.1007/s11627-016-9767-4)
94. 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)
95. 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 физиология. 2016c. Т. 2. № 1(7). 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)
96. Seldimirova O.A., Bezrukova M.V., Galin I.R., Iubyanova A.R., Shakirova F.M., Kruglova N.N. 24-Epibrassinolide Effect on *in vitro* Callus Tissue formation, Growth, and Regeneration in Wheat Varieties with Contrasting Drought Resistance // Russ. J. Plant Physiol. 2017a. V. 64. P. 919-929. DOI: [10.1134/S1021443717060085](https://doi.org/10.1134/S1021443717060085)
97. 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. Dev. Biol. 2017b. V. 48. P. 185–197. DOI: [10.1134/S1062360417030109](https://doi.org/10.1134/S1062360417030109)
98. Seldimirova O.A., Kudoyarova G.R., Katsuhara M., Galin I.R., Zaitsev D.Yu., Kruglova N.N., Veselov D.S., Veselov S.Yu. Dynamics of the contents and distribution of ABA, auxins and aquaporins in developing caryopses of an ABA-deficient barley mutant and its parental cultivar // Seed Sci. Res. 2019a. DOI: [10.1017/S0960258519000229](https://doi.org/10.1017/S0960258519000229)
99. 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 Indolylacetic and abscisic Acids // Russ. J. Dev. Biol. 2019b. V. 50. P. 124-135. DOI: [10.1134/S1062360419030056](https://doi.org/10.1134/S1062360419030056)
100. Shi D.Q., Yang W.C. Pollen Germination and Tube Growth // Plant Developmental Biology – Biotechnological Perspectives / E. Pua, M.Davey (eds). Springer, Berlin, Heidelberg, 2010. P. 245-282.
101. 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)
102. Sugiyama M. Historical review of research on plant cell dedifferentiation // J. Plant Research. 2015. V. 128. P. 349–359. DOI: [10.1007/s10265-015-0706-y](https://doi.org/10.1007/s10265-015-0706-y)
103. 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. Dev. Biol. 2016. V. 47. P. 122-137. DOI: [10.1134/S10623604160300x61](https://doi.org/10.1134/S10623604160300x61)
104. Vanneste S., Friml J. Calcium: the missing link in auxin action // Planta. 2013. V. 2. P. 650–675.
105. Wallace S., Fleming A., Wellman C.H., Beerling D.J. Evolutionary development of the plant spore and pollen wall // AoB Plants. 2011. plr027. DOI: [10.1093/aobpla/plr027](https://doi.org/10.1093/aobpla/plr027)
106. Wang C., Lentini Z., Tabares E., Quintero M., Ceballos H., Dedicova B., Sautter C., Olaya C., Zhang P. Microsporogenesis and pollen formation in *Cassava* // Biol. Plant. 2011. V. 55. P. 469-478.
107. Williams J.H. The evolution of pollen germination timing in flowering plants // AoB Plants. 2012. pls010. DOI: [10.1093/aobpla/pls010](https://doi.org/10.1093/aobpla/pls010)
108. Xu J., Liu Q., Jia M., Liu Y., Li B., Shi Y. Generation of reactive oxygen species during cryopreservation may improve *Lilium* × *siberia* pollen viability // In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. 2014. V. 50. P. 369-375. DOI: [10.1007/s11627-014-9615-3](https://doi.org/10.1007/s11627-014-9615-3)