

УДК 633.16:57.085.23:57

DOI: 10.31040/2222-8349-2022-0-1-52-59

Обзор

**КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЕ И КАЛЛУСОГЕНЕЗ *IN VITRO* У ЗЛАКОВ:
РОЛЬ ГОРМОНАЛЬНОГО БАЛАНСА**

© Н.Н. Круглова

Сложнейшей фундаментальной проблемой биологии развития растений остается морфогенез как совокупность протекающих в развивающемся организме процессов дифференциации клеток с образованием специализированных тканей и органов. Перспективными экспериментальными системами в этой области исследования служат каллусные культуры *in vitro*. Каллус – интегрированная система, образующаяся как экзогенно (в результате пролиферации поверхностных клеток различных тканей растительного организма), так и эндогенно (в глубине этих тканей); изначально состоит из однородных клеток, постепенно преобразующихся в систему групп гетерогенных клеток, имеющих видоспецифичные морфогенетические потенции, которые реализуются различными путями морфогенеза, часть из которых приводит к формированию растений. Накоплен достаточный эмпирический материал по изучению влияния различных экзогенных факторов (главным образом гормонов) на индукцию формирования каллусов из различных эксплантов и собственно процесс каллусогенеза *in vitro*, однако при этом получены противоречивые результаты. Кроме того, недостаточно изучен важный вопрос о соотношении эндогенных гормонов (в составе экспланта/каллуса), которые играют роль сигналов внутренней среды, и экзогенных гормонов (в составе индукционной/регенерационной среды), играющих роль сигналов из внешней среды, в индукции каллусообразования и каллусогенеза *in vitro*. В данной статье представлен краткий обзор литературных и собственных данных, полученных при исследовании гормональных особенностей как в индукции формирования каллусов, так и каллусогенеза *in vitro* у культурных злаков. Подчеркивается широкий спектр физиологической активности гормонов и достигнутые с их помощью успехи в реализации морфогенетического потенциала каллусных клеток *in vitro*. Показана зависимость между гормональным статусом эксплантов/каллусов и их способностью к морфогенезу *in vitro*. Методологический подход, состоящий в выявлении и использовании оптимального баланса эндогенных (в составе экспланта/каллуса) и экзогенных (в составе индукционной/регенерационной среды) гормонов позволяет сделать процесс каллусогенеза как пути морфогенеза *in vitro* управляемым.

Ключевые слова: морфогенез, культура *in vitro*, каллус, злаки.

Морфогенез определяется как совокупность протекающих в развивающемся организме процессов дифференциации клеток с образованием специализированных тканей и органов [1]. Изучение этого биологического феномена остается сложнейшей фундаментальной проблемой биологии развития растений.

В качестве перспективных экспериментальных систем для исследования морфогенеза растений рассматриваются каллусы, индуцируемые и развивающиеся в условиях *in vitro*. Впервые работы, посвященные получению каллуса *in vitro* из изолированных сегментов мезофилла листа, появились еще в конце XIX–начале XX в. [2], однако однозначного определения каллуса не предложено. В своих исследованиях мы придерживаемся следующих понятий: каллус –

интегрированная система, образующаяся как экзогенно (в результате пролиферации поверхностных клеток различных тканей растительного организма), так и эндогенно (в глубине этих тканей); изначально состоит из однородных клеток, постепенно преобразующихся в систему групп гетерогенных клеток, имеющих видоспецифичные морфогенетические потенции, которые реализуются различными путями морфогенеза [3], часть из которых приводит к формированию растений [2, 4, 5]. Предложено различать процессы формирования каллусов *in vitro* на индукционной среде и каллусогенеза *in vitro* на регенерационной среде [2].

К настоящему времени на примере различных растений вопросы каллусообразования и каллусогенеза *in vitro* хорошо изучены. В то же

время остаются открытыми вопросы, связанные с индукцией формирования каллусов из различных эксплантов и с проявлением в каллусах различных путей морфогенеза *in vitro* после переноса на регенерационную среду, а также о возможности выбора пути морфогенеза в нужном для исследователя направлении. Так, биотехнологов интересуют те пути морфогенеза, которые приведут в дальнейшем к регенерации полноценных растений [6].

Способность к каллусообразованию и каллусогенезу *in vitro* обнаружена у представителей многих семейств растений. Особый интерес биотехнологов вызывают каллусы злаков в силу коммерческой ценности представителей этого семейства.

В литературе накоплен значительный эмпирический материал по изучению влияния экзогенных гормонов на индукцию формирования каллусов и каллусогенеза у злаков *in vitro*, однако при этом получены противоречивые результаты. Кроме того, недостаточно изучен важный вопрос о соотношении эндогенных гормонов (в составе экспланта/каллуса), которые играют роль сигналов внутренней среды, и экзогенных гормонов (в составе индукционной/регенерационной среды), играющих роль сигналов внешней среды, в индукции и регуляции каллусогенеза *in vitro*.

Цель данного краткого обзора – провести анализ литературных и собственных данных, полученных в результате исследования гормональной индукции каллусообразования и каллусогенеза *in vitro* у злаков.

Роль гормонов в индукции формирования каллусов *in vitro* у злаков. В качестве эксплантов для получения каллусов у злаков используют различные части донорных растений. Как правило, это примордии или органы на ранних стадиях развития (апексы побегов, соцветия, колеоптилы, пыльники, семяпочки, зародыши [7–13]), характеризующиеся наличием значительного количества способных к каллусогенезу тотипотентных меристематических клеток [14]. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что индукция формирования каллусов злаков, как и других растений, в значительной степени определяется онтогенетическим и физиологическим статусом экспланта в момент инокуляции на питательную среду [9, 13, 14], а также условиями культивирования, важнейшее среди которых – оптимальная концентрация экзогенных гормонов [15–20]. Подчеркнем, что оптимальная концентрация гормонов расценива-

ется как важнейший фактор, определяющий индукцию иных, помимо каллусогенеза, путей морфогенеза *in vitro* в эксплантах [6, 8].

Морфологические показатели каллусов злаков, появившихся на заключительных этапах их культивирования *in vitro* на индукционной среде и способных к морфогенезу при дальнейшем культивировании на регенерационной среде (морфогенные каллусы), достаточно сходны с аналогичными каллусами растений других семейств: это компактные, узловатые, плотные структуры, как правило, белого цвета [21] (рис., 1).

Согласно данным гистологического анализа, такой каллус представлен главным образом плотно расположенными меристематическими клетками (рис., 2), а также клетками паренхимной ткани, как правило, на поверхности каллуса (рис., 3).

Для злаков и в частности пшеницы накоплен достаточный экспериментальный материал по изучению влияния гормонов на индукцию формирования каллусов в культуре *in vitro* различных эксплантов [15–20]. Установлено, что в ходе культивирования *in vitro* на индукционной среде происходит дедифференциация исходных специализированных или меристематических клеток экспланта с превращением их в каллусные. Этот процесс связан со структурной перестройкой исходных клеток и индукцией в них способности к последовательным делениям с итоговой пролиферацией клеток (по [2, 14]). В целом вопрос репрограммирования клеток каллуса решается в контексте общей проблемы изменчивости генома пшеницы в процессе дедифференциации и каллусообразования *in vitro* [24].

После переноса на регенерационную среду происходят постепенное увеличение размеров морфогенных каллусов злаков и усложнение их организации. В таких каллусах выявлены различные пути морфогенеза *in vitro* их клеток/групп клеток: эмбриогенез/соматический эмбриогенез – формирование эмбриоидов/соматических зародышей (рис., 4–5), гемморизогенез – формирование гемморизогенных структур, представленных почками и корнями (рис., 6–7), геммогенез – формирование почек (рис., 8–9), ризогенез – формирование корней (рис., 10–11), гистогенез – формирование различных тканей (рис., 12–13). Установлено, что в случае органогенеза *in vitro* к формированию растений-регенерантов приводит гемморизогенез, в ряде случаев – геммогенез после гормонального индуцирования ризогенеза в том же самом каллусе, тогда как ризогенез представляет собой «тупик» морфогенеза (по [25]).



Рис. Каллус пшеницы и пути морфогенеза в нем. Индукционная среда *in vitro*: 1 – каллус по морфологическим данным; 2 – продольный срез каллуса; 3 – продольный срез участка меристематической ткани каллуса. Регенерационная среда *in vitro*: 4 – эмбриониды (4, 5), гемморизогенные структуры (6, 7), почки (8, 9), корни (10, 11), проводящая ткань (13), полученные в каллусе. Условные обозначения: К – каллус, Кр – корень, МТк – меристематическая ткань, ПТк – паренхимная ткань, ПрТк – проводящая ткань, Пк – пыльник, Пч – почка, Э – эмбрионид.

По: [22, 23], с дополнениями.

Роль гормонов в регуляции морфогенеза *in vitro* в каллусах злаков. Как свидетельствуют многочисленные экспериментальные данные, индукция конкретного пути морфогенеза *in vitro* в каллусах злаков во многом детерминирована физиологическим статусом каллуса и условиями культивирования, главным образом, оптимальной концентрацией гормонов [15–23, 26, 27].

Предприняты попытки найти место гормонов в прохождении различных путей морфогенеза в каллусах различных растений *in vitro*. Еще в 1957 г. Ф. Скуг и К. Миллер [28], изучив влияние экзогенных фитогормонов на морфогенез в каллусе, полученном из сердцевинной паренхимы стебля табака, предложили концепцию, согласно которой морфогенетические реакции тканей и органов регулируются соотно-

шением концентраций ауксинов и цитокининов. Данная концепция доминирует в области культивирования *in vitro* до настоящего времени. Таким образом, согласно этой концепции, переход клетки к организованному развитию рассматривается как результат количественных соотношений между экзогенными ауксинами и цитокининами.

Однако ставшая классической концепция Скуга-Миллера рядом авторов оценивается скорее как эмпирическая закономерность. Кроме того, эта концепция, разработанная на примере табака, не всегда «работает» на других видах растений. Выявлено, например, что морфогенез *in vitro* в каллусах ряда злаков зависит от концентрации иных, помимо ауксинов и цитокининов, экзогенных гормонов, например,

абсцизовой кислоты [20]. Для растений других семейств показана активная роль в этом процессе синтетического гормона тидиазурина ([29] и мн. др).

Абсолютное большинство исследователей для определения оптимального гормонального состава питательной среды как для индукции формирования каллуса, так и для индукции конкретного пути морфогенеза *in vitro* в нем используют эмпирический перебор широкого диапазона различных комбинаций и концентраций гормонов. В результате подбор оптимальной концентрации гормонов оказывается достаточно трудоемким и дорогостоящим. Ведется поиск надежного подхода к прогнозированию этого параметра на основе эндогенных физиологических показателей эксплантов и каллусов, в частности, уровня содержания в них гормонов.

В литературе вопрос о соотношении эндогенных гормонов (в составе экспланта/каллуса) и экзогенных гормонов (в составе индукционной/регенерационной питательной среды) в индукции формирования каллусов и регуляции путей морфогенеза *in vitro* в них для злаков поставлен достаточно давно (например [30]), однако исследований на эту тему выполнено немного [31, 32]. Основная причина этого – сложность и трудоемкость традиционных методов определения содержания эндогенных гормонов в эксплантах/каллусах.

Избежать этих трудностей возможно применив метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) растительных образцов [33] для предварительного анализа эксплантов/каллусов. Так, с использованием этого метода показана возможность регуляции путей морфогенеза *in vitro* в каллусах пшеницы путем выявления для каждого низко- и высокоауксинового сорта адекватного баланса между содержанием эндогенного гормона – ауксина индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в инокулируемых каллусах и концентрацией экзогенного ауксина ИУК в составе регенерационной среды [6, 27, 34–35]. Приведем в качестве примера индуцирование такого важного в биотехнологическом отношении пути морфогенеза в каллусах, как органогенез по типу гемморизогенеза. Выявлено, что к гемморизогенезу в каллусах высокоауксиновых сортов приводило использование концентрации экзогенной ИУК в 0.5 мг/л, а в каллусах низкоауксиновых сортов – втрое выше, 1.5 мг/л (по [25]). Другими словами, анализ экспериментальных данных свидетельству-

ют о том, что баланс между содержанием эндогенного ауксина ИУК в каллусе и концентрацией экзогенного ауксина ИУК для индукции органогенеза *in vitro* состоит в обратной зависимости между этими показателями. Тем самым показана принципиальная возможность регуляции путей морфогенеза *in vitro* клеток каллусов пшеницы путем подбора адекватного для индукции желаемого пути баланса между эндогенным содержанием ауксина ИУК в каллусе и концентрацией экзогенно внесенного ауксина ИУК в питательной среде. На наш взгляд, определяющую роль в таком балансе играет генотип низко- и высокоауксинового донорного растения, детерминирующий признак «уровень эндогенных гормонов в каллусе». Кроме того, эти данные еще раз подтверждают важнейшую роль гормонов в индукции и координации процессов морфогенеза в условиях культуры *in vitro*.

Важнейший фактор эффективного индукционного действия гормона – наличие в растительной ткани экспланта/каллуса специфических компетентных таргетных клеток-мишеней, восприимчивых к действию этого гормона, что нашло отражение в концепции клеток-мишеней [36]. Иначе говоря, для эффективного воздействия экзогенных гормонов на клетки эксплантов/каллусов в их составе должны находиться специфические клетки-мишени, компетентные к восприятию и воздействию того или иного гормона. В качестве компетентных клеток-мишеней предложено рассматривать меристематические клетки экспланта/каллуса: участие этих клеток в морфогенезе растений хорошо известно (по [2, 14]).

Однако вопрос о том, какая именно меристематическая клетка/группа клеток экспланта или каллуса вступит на путь каллусообразования/каллусогенеза *in vitro* и даст начало тому или иному органу (почке, корню) или зародышеподобной структуре, остается открытым. Большую роль в данном случае может играть так называемый позиционный контроль морфогенеза [37]. Нами для оценки событий каллусогенеза высказано предположение [23], что именно расположение (позиция) инициальной меристематической клетки в структуре каллуса, а также межклеточные взаимодействия в развивающемся каллусе играют определяющую роль в индукции развития этой клетки по пути морфогенеза *in vitro*. Благодаря позиционному контролю среди каллусных клеток создаются самые

различные трофические и гормональные ситуации, часть которых способствует реализации морфогенетического потенциала компетентных клеток. Это предположение подтверждается, например, сопоставлением данных по иммуногистохимии эндогенных цитокининов и ауксинов в клетках каллусов пшеницы с результатами их гистологического анализа. Установлено, что гормоны локализируются преимущественно в клетках так называемых морфогенетических очагов [16], тем самым, возможно, участвуя в создании позиционных сигналов для возникновения органов в определенных клеточных «нишах» каллусов. В целом, концепции позиционного контроля может сыграть положительную роль в попытках понять пространственно-временную организацию морфогенеза, т.е. вопроса о том, из каких именно клеток/групп клеток, в каком месте и в какой конкретно форме образуется тот или иной орган в системе целостного организма, в том числе в условиях *in vitro*.

Взаимодействие эндогенных и экзогенных гормонов в культуре клеток, тканей и органов *in vitro* до настоящего времени остается на уровне констатации феномена. Это можно объяснить и множественным действием на клетки и ткани одного и того же гормона, поэтому очень трудно связать воедино механизм действия гормона и клеточный/тканевой ответ на него. Тем не менее, на примере пшеницы убедительно показано, что подход предварительного выявления для каждого сорта адекватного баланса между содержанием эндогенных гормонов в каллусах при инокуляции на регенерационную питательную среду и концентрацией экзогенных гормонов в составе этой среды позволяет практически оптимизировать биотехнологии тиражирования регенерантов злаков на основе индукции органогенеза *in vitro* в каллусах, как правило, по типу гемморизогенеза [25]. В целом широкий спектр физиологической активности гормонов и достигнутые с их помощью успехи в реализации морфогенетического потенциала каллусных клеток позволяют считать именно баланс эндогенных и экзогенных гормонов основным фактором управления морфогенезом *in vitro*. Методологический подход, состоящий в выявлении и использовании оптимального баланса эндогенных (в составе каллусов) и экзогенных (в составе питательной среды) гормонов позволяет сделать процесс орга-

ногенеза *in vitro* управляемым, по крайней мере, для пшеницы.

В то же время морфогенетические потенциалы клеток экспланта/каллуса могут меняться в зависимости от характера связей между группами клеток, что обусловлено формой, размерами экспланта/каллуса и иными факторами. На наш взгляд, при анализе, например, путей морфогенеза *in vitro* клеток каллуса применима и концепция эпигенетической изменчивости растений [38]. Вполне вероятно, что при этом происходит реализация эпигеномных подпрограмм развития компетентных к морфогенезу *in vitro* клеток каллуса.

Заключение. В современной литературе быстро накапливается информация о результатах гормональных исследований каллусообразования и каллусогенеза *in vitro*. В этой области исследования накоплен большой эмпирический материал. Хорошо установлено, что индукция формирования каллусов и конкретного пути морфогенеза *in vitro* в каллусах во многом детерминирована как физиологическим (гормональным) статусом экспланта/каллуса, так и условиями культивирования, главным образом, оптимальным балансом эндогенных и экзогенных гормонов. Однако морфогенетические потенциалы клеток экспланта/каллуса могут меняться в зависимости от характера связей между группами клеток, что, в свою очередь, обусловлено формой и размером (критической массой) экспланта/каллуса и иными факторами. В результате даже соблюдение баланса экзогенных и эндогенных гормонов не всегда приводит к индукции формирования каллуса и морфогенеза *in vitro* в каллусах. Перспективные направления в этой области исследования – экспериментальная регуляция активности генов на различных этапах морфогенеза в каллусах *in vitro*, а также изучение пространственно-временной ко-экспрессии генов во время морфогенетических процессов. Безусловно, перспективно также и решение вопроса о клеточных и тканевых механизмах действия эндогенных гормонов в процессе морфогенеза *in vitro* в каллусах.

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

Литература

1. Журавлев Ю.Н., Омелько А.М. Морфогенез у растений *in vitro* // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 5. С. 643–664.
2. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A. Callusogenesis as an *in vitro* Morphogenesis Pathway in Cereals // Russ. J. Dev. Biol. 2018. V. 49. P. 245–259.
3. Батыгина Т.Б. Биология развития растений. СПб.: ДЕАН, 2014. 764 с.
4. Круглова Н.Н. Каллус как модель для изучения формирования структуры высшего растения // Известия Уфимского научного центра РАН. 2011. № 3. С. 17–22.
5. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Потенциально морфогенный каллус пшеницы в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. № 2. С. 61–65.
6. Круглова Н.Н. Оптимизация биотехнологии получения растений пшеницы в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 3. С. 57–61.
7. Катасонова А.А., Круглова Н.Н. Зародыш пшеницы как компетентный эксплант для получения морфогенных каллусов *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2011. № 2. С. 27–31.
8. Кулуев Б.Р., Круглова Н.Н., Зарипова А.А., Фархутдинов Р.Г. Основы биотехнологии растений Уфа: БашГУ, 2017. 244 с.
9. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Гистологический статус зародыша пшеницы в стадии органогенеза *in vivo*, оптимальной для получения морфогенного каллуса *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2019. № 1. С. 25–29.
10. Круглова Н.Н. Инновационная биотехнология андроклиновой гаплоидии пшеницы на основе комплекса эмбриологических и цитофизиологических данных // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 3. С. 232–243.
11. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Система «зародыш *in planta*–каллус *in vitro*»: цитофизиологические аспекты (на примере пшеницы) // Биомика. 2020. Т. 12. № 2. С. 180–189.
12. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Cytophysiological features of the Cereal-based Experimental System “Embryo *In Vivo* – Callus *In Vitro*” // Russ. J. Dev. Biol. 2021. V. 52. P. 199–214.
13. Зинатуллина А.Е. Структурные особенности клеток эксплантов *in vivo* и формирование морфогенных каллусов *in vitro* (обзор) // Биомика. 2021. Т. 13. № 1. С. 8–19.
14. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
15. Seldimirova O.A., Kudoyarova G.R., Kruglova N.N., Zaytsev D.Yu., Veselov S.Yu. Changes in distribution of cytokinins and auxins in cell during callus induction and organogenesis *in vitro* in immature embryo culture of wheat // *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*. 2016. V. 52. P. 251–264.
16. 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 физиология. 2017. Т. 3. № 1. С. 8–13.
17. 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. 2017. Т. 9. № 4. С. 289–297.
18. Сельдимирова 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. 2017. Т. 9. № 4. С. 298–303.
19. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е., Веселов Д.С. Абсцизовая кислота в системах культуры *in vitro* эксплантов // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. № 2. С. 55–60.
20. Зинатуллина А.Е. Цитофизиологические особенности контрастных типов каллусов *in vitro* // Успехи современной биологии. 2020. Т. 140. № 2. С. 183–194.
21. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Пути морфогенеза *in vitro* клеток андроклинного каллуса пшеницы // Физиология растений и генетика. 2013. Т. 45. № 5. С. 382–389.
22. Круглова Н.Н. Пути морфогенеза *in vitro* клеток андроклинных каллусов растений: возможная роль позиционного расположения таргетных клеток и действия эпигенетических факторов // Известия Уфимского научного центра РАН. 2021. № 2. С. 64–73.
23. Дубровная О.В., Бавол А.В. Изменчивость генома пшеницы в культуре *in vitro* // Цитология и генетика. 2011. Т. 45. № 5. С. 76–84.
24. Зинатуллина А.Е. Феномен гемморизогенеза как типа органогенеза *in vitro* в биотехнологических исследованиях хлебных злаков // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 2. С. 116–127.
25. 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. 2016. Т. 2. С. 3–8.
26. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Баланс эндогенных и экзогенных гормонов и пути морфогенеза в андроклинных каллусах пшеницы *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2015. № 1. С. 33–39.
27. Skoog F., Miller C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro* // Symp. Soc. Exp. Biol. 1957. V. 11. P. 118.
28. Erland L.A.E., Giebelhaus R.T., Victor J.M.R. et al. The Morphoregulatory Role of Thidiazuron: Metabolomics-Guided Hypothesis Generation for Mechanisms of Activity // Biomolecules. 2020. V. 10. doi: 10.3390/biom10091253
29. Jimenez V.M., Bangerth F. Endogenous hormone concentrations and embryogenic callus develop-

ment in wheat // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2001. V. 67. P. 37–46.

31. Huang W.-L., Lee C.-H., Chen Y.-R. Levels of endogenous abscisic acid and indole-3-acetic acid influence shoot organogenesis in callus cultures of rice subjected to osmotic stress // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2012. V. 108. P. 257–263.

32. Hisano H., Matsuura T., Mori I.C. Endogenous hormone levels affect the regeneration ability of callus derived from different organs in barley // *Plant Physiol. Biochem.* 2016. V. 99. P. 66–72.

33. Иммуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии / под ред. Г.П. Кудояровой. Уфа: АН РБ, 2000. 223 с.

34. Gorbunova V.Yu., Kruglova N.N., Abramov S.N. The induction of androgenesis *in vitro* in spring soft wheat. Balance of endogenous and exogenous phytohormones // *Biology Bulletin.* 2001. V. 28. No 1. P. 25–30.

35. 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.* 2016. Т. 2. № 1(7). С. 3–8.

36. Osborne D., McManus M. Hormones, Signals and Target Cells in Plant Development. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2009. 268 p.

37. Wolpert L. Positional information and Pattern Formation // *Curr. Top. Dev. Biol.* 2016. V. 117. P. 597–608.

38. Чураев Р.Н. Контуры неканонической теории наследственности: от генов к эпигенам // *Журнал общей биологии.* 2005. Т. 66. № 1. С. 13–36.

References

1. Zhuravlev Ju.N., Omelko A.M. Morfogenes u rastenii *in vitro* // *Fiziologija rastenii*, 2008, vol. 55, no. 5, pp. 643–664.

2. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A. Callusogenesis as an *in vitro* Morphogenesis Pathway in Cereals // *Russ. J. Dev. Biol.*, 2018, vol. 49, pp. 245–259.

3. Batygina T.B. *Biologija razvitija rastenij.* SPb.: DEAN, 2014. 764 p.

4. Kruglova N.N. Kallus kak model dlja izuchenija formirovaniya struktury vysshego rastenija // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2011, no. 3, pp. 17–22.

5. Kruglova N.N., Seldimirova O.A. Potencialno morfogennyi kallus pshenicy v kulture *in vitro* // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2018, no. 2, pp. 61–65.

6. Kruglova N.N. Optimizacija biotahnologii poluchenija rastenii pshenicy v kulture *in vitro* // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2012, no. 3, pp. 57–61.

7. Katasonova A.A., Kruglova N.N. Zarodysh pshenicy kak kompetentnyj jeksplant dlya polucheniya morfogennyh kallusov *in vitro* // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2011, no. 2, pp. 27–31.

8. Kuluev B.R., Kruglova N.N., Zaripova A.A., Farkhutdinov R.G. *Osnovy biotekhnologii rastenii.* Ufa: BashGU, 2017, 244 p.

9. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Gistologicheskii status zarodysha pshenicy v stadii organigenesa *in vivo*, optimalnoi dlja poluchenija morfogenno kallusa *in vitro* // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2019, no. 1, pp. 25–29.

10. Kruglova N.N. Innovacionnaja biotekhnologija androklinoj gaploidii pshenicy na osnove kompleksa embriologicheskikh i citofiziologicheskikh dannyh // *Экобиотех*, 2019, vol. 2, no. 3, pp. 232–243.

12. Kruglova N.N., Seldimirova O.A. Sistema “zarodysh *in planta*–kallus *in vitro*”: citofiziologicheskie aspekty (na primere pshenicy) // *Biomics*, 2020, vol. 12, no. 2, pp. 180–189.

13. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Cytophysiological features of the Cereal-based Experimental System “Embryo In Vivo – Callus In Vitro” // *Russ. J. Dev. Biol.*, 2021, vol. 52, pp. 199–214.

14. Zinatullina A.E. Strukturnye osobennosti kletok eksplantov *in vivo* i formirovanie morfogenno kallusov *in vitro* (obzor) // *Biomics*, 2021, vol. 13, no. 1, pp. 8–19.

15. Kruglova N.N., Seldimirova O.A. Regeneracija pshenicy *in vitro* i *ex vitro*. Ufa: Gilem, 2011, 124 p.

16. Seldimirova O.A., Kudoyarova G.R., Kruglova N.N., Zaytsev D.Yu., Veselov S.Yu. Changes in distribution of cytokinins and auxins in cell during callus induction and organogenesis *in vitro* in immature embryo culture of wheat // *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*, 2016, vol. 52, pp. 251–264.

17. Seldimirova O.A., Kruglova N.N., Zinatullina A.E. Rol fitogormonov v indukcii kallusogeneza i reguljacii putei morfogeneza kallusov zlakov *in vitro* // *Nauchnyi rezultat. Serija fiziologija*, 2017, vol. 3, no. 1, pp. 8–13.

18. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Veselov D.S. K voprosu ob uchastii auksinov v indukcii i reguljacii morfogeneza v modelnoi kallusnoi sisteme *in vitro* (na primere zlakov) // *Biomics*, 2017, vol. 9, no. 4, pp. 289–297.

19. Seldimirova O.A., Kruglova N.N., Veselov D.S., Janovskaja A.A. Optimizacija sostava pitatelnoi sredy dlja indukcii kallusoobrazovanija u jachmenja sorta Septoe i ego ABK-deficitnogo mutanta AZ34 // *Biomics*, 2017, vol. 9, no. 4, pp. 298–303.

20. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E., Veselov D.S. Abscizovaja kislota v sistemah kultury *in vitro* eksplantov // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2018, no. 2, pp. 55–60.

21. Zinatullina A.E. Citofiziologicheskie osobennosti kontrastnyh tipov kallusov *in vitro* // *Uspekhi sovremennoi biologii*, 2020, vol. 140, no. 2, pp. 183–194.

22. Kruglova N.N., Seldimirova O.A. Puti morfogeneza *in vitro* kletok androklinoj kallusa pshenicy // *Fiziologija rastenii i genetika*, 2013, vol. 45, no. 5, pp. 382–389.

23. Kruglova N.N. Puti morfogeneza *in vitro* kletok androklinoj kallusov rastenii: vozmozhnaja rol pozicionnogo raspolzhenija targetnyh kletok i deistviya epigeneticheskikh faktorov // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2021, no. 2, pp. 64–73.

24. Dubrovnaia O.V., Baval A.V. Izmenchivost' genoma pshenicy v kulture *in vitro* // Citologija i genetic, 2011, vol. 45, no. 5, pp. 76–84.
25. Zinatullina A.E. Fenomen gemmorizogenesa kak tipa organogenesa *in vitro* v biotehnologicheskikh issledovaniyah hlevnyh zlakov // Ecobiotech, 2019, vol. 2, no. 2, pp. 116–127.
26. 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, 2016, vol. 2, pp. 3–8.
27. Seldimirova O.A., Kruglova N.N. Balans endogennyh i eksogenykh gormonov i puti morfogenesa v androklennykh kallusah pshenicy *in vitro* // Izvestiya Ufinskogo nauchnogo centra RAS, 2015, no. 1, pp. 33–39.
28. Skoog F., Miller C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro* // Symp. Soc. Exp. Biol., 1957, vol. 11, 118 p.
29. Erland L.A.E., Giebelhaus R.T., Victor J.M.R. et al. The Morphoregulatory Role of Thidiazuron: Metabolomics-Guided Hypothesis Generation for Mechanisms of Activity // Biomolecules, 2020, vol. 10, doi: 10.3390/biom10091253
30. Jimenez V.M., Bangerth F. Endogenous hormone concentrations and embryogenic callus development in wheat // Plant Cell Tiss. Org. Cult., 2001, vol. 67, pp. 37–46.
31. Huang W.-L., Lee C.-H., Chen Y.-R. Levels of endogenous abscisic acid and indole-3-acetic acid influence shoot organogenesis in callus cultures of rice subjected to osmotic stress // Plant Cell Tiss. Org. Cult., 2012, vol. 108, pp. 257–263.
32. Hisano H., Matsuura T., Mori I.C. Endogenous hormone levels affect the regeneration ability of callus derived from different organs in barley // Plant Physiol. Biochem., 2016, vol. 99, pp. 66–72.
33. Immunoanaliz reguljatorov rosta v reshenii problem fiziologii rastenii, rastenievodstva i biotehnologii / Pod red. G.R. Kudojarovoi. Ufa: AN RB, 2000. 223 s.
34. Gorbunova V.Yu., Kruglova N.N., Abramov S.N. The induction of androgenesis *in vitro* in spring soft wheat. Balance of endogenous and exogenous phytohormones // Biology Bulletin., 2001, vol. 28, no. 1, pp. 25–30.
35. 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, 2016, vol. 2, no. 1(7), pp. 3–8.
36. Osborne D., McManus M. Hormones, Signals and Target Cells in Plant Development. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2009, 268 p.
37. Wolpert L. Positional information and Pattern Formation // Curr. Top. Dev. Biol., 2016, vol. 117, pp. 597–608.
38. Churaev R.N. Kontury nekanonicheskoi teorii nasledstvennosti: ot genov k epigenam // Zhurnal obshei biologii, 2005, vol. 66, no. 1, pp. 13–36.

CALLUS FORMATION AND CALLUSOGENESIS *IN VITRO* IN CEREALS: THE ROLE OF HORMONAL BALANCE (REVIEW)

© N.N. Kruglova

Ufa Institute of biology – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
69, prospect Oktyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation

The most difficult fundamental problem of plant development biology remains morphogenesis as the totality of cell differentiation processes occurring in a developing organism with the formation of specialized tissues and organs. Prospective experimental systems in this field of research are callus cultures *in vitro*. The callus is an integrated system formed both exogenously (as a result of the proliferation of surface cells of various tissues of the plant organism) and endogenously (in the depth of these tissues); initially consists of homogeneous cells, gradually transformed into a system of groups of heterogeneous cells with species-specific morphogenetic potencies, which are realized by various ways of morphogenesis, some of which leads to the formation of plants. Sufficient empirical material has been accumulated to study the effect of various exogenous factors (mainly hormones) on the induction of callus formation from different explants and the callusogenesis *in vitro*, however, contradictory results have been obtained. In addition, the important question of the ratio of endogenous hormones (as part of the explant/callus), which play the role of signals from the internal environment, and exogenous hormones (as part of the inductive/regenerative medium), which play the role of signals from the external environment, in the induction of callus formation and callusogenesis *in vitro*, has not been sufficiently studied. This article presents the brief overview of the literature and own data obtained in the study of hormonal features both in callus formation induction and callusogenesis *in vitro* in cereals. The wide range of physiological activity of hormones and the successes achieved with their help in realizing the morphogenetic potential of callus cells *in vitro* are emphasized. The relationship between the hormonal status of explants/calli and their ability to morphogenesis *in vitro* is shown. The methodological approach consisting in the identification and use of the optimal balance of endogenous (as part of the explant/callus) and exogenous (as part of the inductive/regenerative medium) hormones makes it possible to make the process of callusogenesis *in vitro* controllable.

Key words: morphogenesis, culture *in vitro*, callus, cereals.