

УДК 581.3: 576.3:576.535:577.175.152
DOI: 10.31040/2222-8349-2022-0-3-16-22

К 95-летию со дня рождения чл.-корр. РАН
Т.Б. Батыгиной (1927–2015)

ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ В ЦЕЛЯХ СЕЛЕКЦИИ

© Н.Н. Круглова, О.А. Сельдиминова, А.Е. Зинатуллина

Засуха как неблагоприятное сочетание метеорологических условий, при которых растения испытывают длительный водный дефицит в воздухе и почве, – один из наиболее распространенных абиотических стресс-факторов, действие которого приводит к значительным потерям урожая экономически важных растений, включая хлебные злаки. Одно из перспективных направлений биотехнологической оценки устойчивости уже имеющихся и вновь создаваемых генотипов хлебных злаков к этому абиотическому стресс-фактору в селекционных целях состоит в использовании эмбриокультуры *in vitro*, когда в качестве эксплантов применяются зародыши той или иной стадии развития. Особенно перспективно культивирование *in vitro* незрелых зародышей, находящихся в критической стадии автономности. Такой зародыш не зависит от физиологических факторов материнской особи и способен самостоятельно дать начало полноценному растению-регенеранту в адекватных условиях *in vitro*. В то же время для выявления стадии автономности необходимы комплексные цитофизиологические исследования зародыша в динамике развития от зиготы до зрелой структуры. Эмбриональный анализ необходим и при оценке полученных регенерантов в лабораторных условиях *ex vitro* и особенно в полевых условиях *in vivo*.

В обзорной статье на примере яровой мягкой пшеницы представлены некоторые итоги комплексных исследований сотрудников лаборатории физиологии растений УИБ УФИЦ РАН по использованию цитофизиологических данных для выявления критической стадии автономности эмбриогенеза, а также по применению полученных результатов в разработке биотехнологического приема эмбриокультуры *in vitro*. Совместно с сотрудниками лаборатории селекции и семеноводства яровой пшеницы НИИ СХ УФИЦ РАН показана перспективность применения культуры *in vitro* незрелых автономных зародышей в создании засухоустойчивых гибридных линий пшеницы. Экспериментальные исследования проводились на основе теоретических разработок чл.-корр. РАН Т.Б. Батыгиной, чьей памяти посвящена эта статья.

Ключевые слова: эмбриогенез, эмбриокультура *in vitro*, засухоустойчивость, яровая мягкая пшеница.

Засуха определяется как неблагоприятное сочетание метеорологических условий, при которых растения испытывают длительный водный дефицит в воздухе и почве. Это один из наиболее распространенных абиотических стресс-факторов, приводящий к значительным потерям урожая сельскохозяйственных растений. О чрезвычайной актуальности исследования проблемы устойчивости растений к засухе в условиях современных экстремальных колебаний климата [1] свидетельствует обширнейшая литература (например, некоторые обзоры последних лет [2–8]).

Исследователями активно разрабатываются способы создания засухоустойчивых районированных сортов экономически важных культур и особенно хлебных злаков как основного продовольственного ресурса. Такие сорта должны быть способны сохранять относительно высокий уровень урожайности в условиях дефицита воды.

Как известно, успех адаптивной селекции на засухоустойчивость во многом зависит от правильной оценки этого признака у создаваемых сортов. В то же время такая оценка вызывает определенные трудности. Так, если устой-

КРУГЛОВА Наталья Николаевна – д.б.н., Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН,
e-mail: kruglova@anrb.ru

СЕЛЬДИМИРОВА Оксана Александровна – к.б.н., Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН,
e-mail: seldimirova@anrb.ru

ЗИНАТУЛЛИНА Анна Евгеньевна – к.б.н., Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН,
e-mail: aneta@ufaras.ru

чивость растений к биотическим стрессам в основном определяется моногенными признаками, то устойчивость к абиотическим – мультигенна [9]. Кроме того, в формировании толерантности к неблагоприятным внешним воздействиям у растений задействован ряд транскрипционных факторов, часть из которых принимает участие в контроле развития всего растения или отдельных органов [10], а это значительно усложняет выявление признака устойчивости к конкретному стрессору.

В последние годы исследователи обращают самое пристальное внимание на анализ засухоустойчивости хлебных злаков в селективных экспериментальных условиях культуры *in vitro* [2; 4; 6–8; 11–14]. Отдельное направление оценки стресс-устойчивости растений в условиях *in vitro* связано с использованием эмбриокультуры *in vitro* – культивированием разновозрастных зародышей. Перспективность этого направления определяется, по нашему мнению, тем, что зародыш обладает всеми морфогенетическими потенциями взрослого организма, как это подчеркивалось Т.Б. Батыгиной (обобщение [15]), в том числе способностью противостоять различным стрессам. Особенно перспективно культивирование *in vitro* незрелых зародышей, находящихся в критической стадии автономности.

Сотрудниками УИБ УФИЦ РАН проводятся комплексные исследования по использованию эмбриологических данных для выявления критической стадии автономности эмбриогенеза яровой мягкой пшеницы и применения полученных результатов в биотехнологии эмбриокультуры *in vitro* в селекционных целях по созданию засухоустойчивых гибридных линий. Исследования проводятся с использованием теоретических разработок чл.-корр. РАН Т.Б. Батыгиной, чьей памяти посвящена эта статья.

Цель статьи – подвести некоторые итоги применения эмбриологических данных в разработке биотехнологии получения засухоустойчивых регенерантов пшеницы в селекционных целях.

Выявление критической стадии автономности эмбриогенеза пшеницы. Разрабатывая общую концепцию критических стадий эмбриогенеза цветковых растений, Т.Б. Батыгина особое внимание обращала на стадию автономности зародыша [15], рассматривая автономность как особое структурно-функциональное и морфофизиологическое состояние развивающе-

гося зародыша, отражающее его способность к саморегуляции, независимость от окружающих тканей и проявляющееся в способности завершить нормальный эмбриогенез вне материнского организма и развиваться в нормальное растение. Т.Б. Батыгиной с соавт. [16] на примере лотоса был разработан экспериментальный способ выявления стадии автономности зародыша – по способности разновозрастных изолированных зародышей к завершению эмбриогенеза и формированию нормального проростка на безгормональной среде *in vitro*. Использование данного подхода вполне оправдано. Действительно, с одной стороны, именно культура *in vitro* позволяет создать условия для наиболее полной реализации морфогенетических программ (в том числе потенциальных) развития зародыша, а значит, и особи в целом, поскольку зародыш обладает всеми потенциями взрослого организма. С другой стороны, именно в культуре *in vitro* экспериментатор может моделировать условия материнского организма и выявить ту стадию эмбриогенеза *in vivo*, когда незрелый зародыш способен к дальнейшей дифференциации и прорастанию в нормальное растение при отсутствии экзогенных гормонов питательной среды [17].

Позднее нами для пшеницы было предложено давать оценку автономности зародыша не только по признаку формирования нормального проростка на безгормональной среде *in vitro*, но и по более жесткому критерию – формированию из проростка полноценного растения далее, в лабораторных почвенных условиях *ex vitro* [18; 19]. Экспериментальными исследованиями обширной коллекции сортов и гибридных комбинаций яровой пшеницы на основе этого критерия было выявлено, что автономность их зародышей приходится на стадию сформированного зародыша (согласно периодизации: [20–22]). Это соответствует 15–17 сут после опыления, когда в зародышах представлены все органы [23; 24]. Экспериментально показано, что именно незрелые сформированные зародыши на безгормональной среде *in vitro* формировали проростки, а далее в почвенных условиях *ex vitro* – растения с зерновками [25]. Свой вывод авторы подтвердили как результатами, полученными с применением световой и электронной микроскопии [26], так и данными по содержанию и локализации эндогенных гормонов (АБК и ИУК) в зародышах пшеницы и ячменя на этой стадии [27–30].

Оценка засухоустойчивости гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы в селективной эмбриокультуре *in vitro* автономных зародышей и оценка лабораторной всхожести зрелых зерновок регенерантов R1. Разработанные методические подходы позволили провести оценку засухоустойчивости с использованием метода селективной эмбриокультуры *in vitro* автономных зародышей 10 гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы, полученных сотрудниками лаборатории селекции и семеноводства яровой пшеницы Башкирского НИИ СХ УФИЦ и оцененных как перспективные по устойчивости к засухе.

При этом учитывались предложенные нами нюансы: 1. Гибридная комбинация считалась засухоустойчивой, если автономные зародыши в селективной эмбриокультуре *in vitro* формировали нормальные проростки, которые далее в лабораторных почвенных условиях *ex vitro* развивались в полноценные растения в фазе полной спелости (поколение R1); 2. В качестве имитатора засухи в состав селективной питательной среды для инокуляции автономных зародышей следует вводить маннит в концентрации 8%, согласно проведенным предварительно экспериментам [31]; 3. Дополнительный этап оценки засухоустойчивости гибридных комбинаций состоит в оценке лабораторной всхожести зрелых зерновок регенерантов поколения R1 в чашках Петри с обработкой 8%-м маннитом, а также гистологическом анализе апекса побега.

Согласно полученным данным [32; 33], незрелые автономные зародыши всех 10-ти исследованных гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы формировали нормальные проростки в селективных условиях, хотя количество проростков в процентах от инокулированных зародышей было различным. Зрелые зерновки регенерантов всех 10 гибридных комбинаций прорастали к третьим суткам в 8%-м манните, хотя и в различном количестве и до разной степени развитости у каждого гибрида.

Оценка в полевых условиях *in vivo* эмбриогенеза растений поколения R2, полученных из зрелых зерновок растений поколения R1. Важно проанализировать показатели полученных регенерантов следующего поколения R2 полевых условиях. Особенно важно исследовать в поле эмбриональные показатели засухоустойчивых регенерантов, поскольку хорошо известно

(например, [15]), что в основе формирования качественных семян лежит нормальное прохождение зародышем всех стадий эмбриогенеза.

Такие исследования были проведены нами на экспериментальных участках научного стационара (Уфимский р-н) в 2021 г. Этот год по данным Башкирского управления по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды характеризовался как засушливый, на основании показателей индексов осадков и испаряемости. Среднемесячные показатели температуры воздуха при прохождении эмбриогенеза (+21.9°C в июле, +20.7°C в августе) были выше физиологического оптимума (+19.0°C). На примере засухоустойчивых регенерантов гибридной комбинации Л42938×Салават Юлаев поколения R2 (отобран по средним среди исследованных генотипов показателям засухоустойчивости, см [32; 33]) установлено, что воздействие повышенной температуры воздуха не оказало влияния на ход эмбриогенеза и структуру развивающихся зародышей от зиготы до зрелой структуры; зрелые зародыши содержали типичные для злаков органы [34].

Заключение. Анализ данных, полученных нами в лабораторных и полевых исследованиях различными методами, а также принципиальное сходство результатов с результатами полевой оценки селекционеров позволяет рекомендовать разработанный нами метод селективной эмбриокультуры *in vitro* автономных зародышей и полученные засухоустойчивые регенеранты к использованию в селекционных программах, направленных на создание засухоустойчивых районированных сортов яровой мягкой пшеницы.

Для достоверного выявления признака засухоустойчивости у вновь созданных гибридных комбинаций пшеницы необходимо комплексное привлечение различных методов и подходов. В то же время применение селективной эмбриокультуры *in vitro* автономных зародышей, при относительности полученных результатов, дает возможность провести быструю первичную оценку степени засухоустойчивости новых селекционных форм пшеницы на самых ранних этапах онтогенеза, уже через 15–17 сут после их получения методом гибридизации. Это приводит к существенному выигрышу во времени в сравнении с оценкой засухоустойчивости селекционных образцов традиционными полевыми методами.

Особенно важен, по нашему мнению, тот факт, что нами экспериментально подтверждено разработанное Т.Б. Батыгиной [15] теоретическое положение о том, что в зародыше заложены все морфогенетические потенции взрослой особи.

Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией селекции и семеноводства яровой пшеницы Башкирского НИИ СХ УФИЦ РАН к.с.-х.н. В.И. Никонову за материал для исследований, предоставленный согласно договору о сотрудничестве между институтами на 2018–2023 гг.

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

Литература

1. Plant life under changing environment: responses and management / Ed. by Tripathi D.K. Academic Press (Elsevier), 2020. 1020 p.
2. 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 // Biol. Bull. Rev. 2018. V. 8. P. 518–526.
3. Sattar S., Afzal R., Bashir I., Shahid A. Biochemical, molecular and morpho-physiological attributes of wheat to upgrade grain production and compete with water stress // Int. J. Innov. Appr. Agricult. Res. 2019. V. 3. P. 510–528.
4. Зинатуллина А.Е. Модельная система «зародыш-зародышевый каллус» в экспресс-оценке стрессовых и антистрессовых воздействий (на примере злаков) // Экобиотех. 2020. Т. 3. № 1. С. 38–50.
5. Yadav B., Jogawat A., Rahman M.S., Narayan O.P. Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review // Gene Rep. 2021. V. 23. doi: 10.1016/j.genrep.2021.101040
6. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллусные культуры *in vitro* в экспериментальной оценке засухоустойчивости хлебных злаков // ТВАН. 2021. № 1(25). С. 124–139.
7. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Эмбриокультура *in vitro* в экспериментальной оценке засухоустойчивости хлебных злаков // ТВАН. 2021. № 2(26). С. 127–144.
8. Kruglova N.N., Zinatullina A.E. In Vitro Culture of Autonomous Embryos as a Model System for the Study of Plant Stress Tolerance to Abiotic Factors (on the Example of Cereals) // Biol. Bull. Rev. 2022. № 2. P. 201–211.
9. Sallam A., Alqudah A.M., Dawood M.F., Baenziger P.S., Borner A. Drought Stress Tolerance in Wheat and Barley: Advances in Physiology, Breeding and Genetics Research // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. doi: 10.3390/ijms20133137
10. Baillo E.H., Kimotho R.N., Zhang Z., Xu P. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement // Genes. 2019. V. 10. doi: 10.3390/genes10100771
11. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A. Callusogenesis as a *in vitro* Morphogenesis Pathway in Cereals // Russ. J. Dev. Biol. 2018. V. 49. P. 245–259.
12. Pykalo S., Demydov O., Yurchenko T., Prokopik N., Kharchenko M. Comparative assessment of methods for evaluation of drought tolerance in winter bread wheat varieties // ScienceRise: Biol. Sci. 2019. № 4(19). doi: 10.15587/2519-8025.2019.186813
13. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М. Модельная система «зародыш-каллус-регенерант» пшеницы для экспресс-оценки действия 24-эпибрассинолида // Экобиотех. 2020. Т. 3. № 3. С. 331–336.
14. 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.
15. Батыгина Т.Б. Биология развития растений. СПб.: ДЕАН, 2014. 764 с.
16. Васильева В.Е., Батыгина Т.Б. Автономность зародыша // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2. Семья. СПб.: Мир и семья, 1997. С. 579–588.
17. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E., Veselov D.S. Embryo of Flowering Plants at the Critical Stage of Embryogenesis Relative Autonomy // Rus. J. Dev. Biol. 2020. V. 51. P. 1–15.
18. Круглова Н.Н. Оптимизация биотехнологии получения растений пшеницы в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 3. С. 57–61.
19. Круглова Н.Н. Выявление критической стадии автономности зародыша пшеницы в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2013. № 1. С. 42–45.
20. Круглова Н.Н. Периодизация развития зародыша пшеницы как методологический аспект биотехнологических разработок // Известия Уфимского научного центра РАН. 2012. № 2. С. 21–24.
21. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Structural features and hormonal regulation of the zygotic embryogenesis in cereals // Biol. Bull. Rev. 2020. V. 10. P. 115–126.
22. Зинатуллина А.Е. Периодизации эмбриогенеза злаков *in planta* и их использование в биотехнологических исследованиях *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2022. № 1. С. 60–69.
23. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е., Веселов Д.С. Критическая стадия автономности зародыша пшеницы *in planta* // Биомика. 2018. Т. 10. № 1. С. 1–6.

24. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е., Никонов В.И. Выявление относительной автономности *in planta* зиготических зародышей яровой мягкой пшеницы для оптимизации биотехнологических исследований // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. № 3. С. 28–33.

25. 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 приема // Экобиотех. 2018. Т. 1. № 2. С. 71–79.

26. 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. 2017. V. 48. P. 185–197.

27. 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.

28. Сельдиминова О.А., Галин И.Р., Круглова Н.Н., Веселов Д.С. Распределение ИУК и АБК в развивающихся зародышах пшеницы *in vivo* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 3(1). С. 114–118.

29. Сельдиминова О.А., Галин И.Р., Кудоярова Г.Р., Круглова Н.Н., Веселов Д.С. Влияние АБК на созревание зародышей ячменя *in vivo*: результаты изучения дефицитного по АБК мутанта // Экобиотех. 2018. Т. 1. № 4. С. 203–211.

30. 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. 2019. V. 29. P. 1–9.

31. Сельдиминова О.А. Тестирование селективных агентов для оценки яровой мягкой пшеницы на устойчивость к засухе // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 1. С. 51–62.

32. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е., Никонов В.И. Выявление засухоустойчивых генотипов пшеницы в культуре незрелых зародышей *in vitro* // Вестник БГАУ. 2019. Т. 52. № 4. С. 37–41.

33. Зинатуллина А.Е., Никонов В.И. Лабораторная оценка регенерантов гибридных комбинаций пшеницы в условиях *in vitro* и *ex vitro* // Экобиотех. 2021. Т. 4. № 2. С. 81–88.

34. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А. Эмбриогенез *in vivo* засухоустойчивых регенерантов яровой мягкой пшеницы, полученных в эмбриокультуре *in vitro* // ТВАН. 2022. № 1(29). С. 65–78.

References

1. Plant life under changing environment: responses and management / Ed. by Tripathi D.K. Academic Press (Elsevier), 2020, 1020 p.

2. 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 // Biol. Bull. Rev., 2018, vol. 8, pp. 518–526.

3. Sattar S., Afzal R., Bashir I., Shahid A. Biochemical, molecular and morpho-physiological attributes of wheat to upgrade grain production and compete with water stress // Int. J. Innov. Appr. Agricult. Res., 2019, vol. 3, pp. 510–528.

4. Zinatullina A.E. Modelnaja sistema "zarodysh-zaridyshyevyi kallus" v jekspress-ocenke stressovyh i antistressovyh vozdeystvii (na primere zlakov) // Экобиотех, 2020, vol. 3, pp. 38–50.

5. Yadav B., Jogawat A., Rahman M.S., Narayan O.P. Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review // Gene Reports, 2021, vol. 23, doi: 10.1016/j.genrep.2021.101040

6. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Kallusnye kultury *in vitro* v jeksperimentalnoi ocenke zasukhoustoichivosti chlebhyh zlakov // TVAN, 2021, no. 1(25), pp. 124–139.

7. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Embriokultura *in vitro* v jeksperimentalnoi ocenke zasukhoustoichivosti chlebhyh zlakov // TVAN, 2021, no. 2(26), pp. 127–144.

8. Kruglova N.N., Zinatullina A.E. In Vitro Culture of Autonomous Embryos as a Model System for the Study of Plant Stress Tolerance to Abiotic Factors (on the Example of Cereals) // Biol. Bull. Rev., 2022, no. 2, pp. 201–211.

9. Sallam A., Alqudah A.M., Dawood M.F., Baenziger P.S., Borner A. Drought Stress Tolerance in Wheat and Barley: Advances in Physiology, Breeding and Genetics Research // Int. J. Mol. Sci., 2019, vol. 20, doi: 10.3390/ijms20133137

10. Baillo E.H., Kimotho R.N., Zhang Z., Xu P. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement // Genes, 2019, vol. 10, doi: 10.3390/genes10100771

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

12. Pykalo S., Demydov O., Yurchenko T., Prokopik N., Kharchenko M. Comparative assessment of methods for evaluation of drought tolerance in winter bread wheat varieties // ScienceRise: Biol. Sci., 2019, no. 4(19), doi: 10.15587/2519-8025.2019.186813

13. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Bezrukova M.V., Shakirova F.M. Modelnaja sistema "zarodysh-kallus-regenerant" pshenitcy dlja jekspress-ocenki deystvija 24-epibrassinolida // Экобиотех, 2020, vol. 3, pp. 331–336.

14. 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.
15. Batygina T.B. *Biologija razvitija rastenij*. SPb.: DEAN, 2014. 764 p.
16. Vasiljeva V.E., Batygina T.B. Avtonomnost zarodysha // *Embriologija cvetkovyh rastenii. Terminologija i koncepcii*, 1997, vol. 2, pp. 579–588.
17. Kruglova N.N., Titova G.E., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E., Veselov D.S. Embryo of Flowering Plants at the Critical Stage of Embryogenesis Relative Autonomy // *Rus. J. Dev. Biol.*, 2020, vol. 51, pp. 1–15.
18. Kruglova N.N. Optimizacija biotekhnologii poluchenija rastenii pshenicy v kulture *in vitro* // *Izvestija Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2012, no. 3, pp. 57–61.
19. Kruglova N.N. Vyjavlenie kriticheskoj stadii avtonomnosti zarodysha pshenicy v culture *in vitro* // *Izvestija Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2013, no. 1, pp. 42–45.
20. Kruglova N.N. Periodizacija razvitija zarodysha pshenicy kak metodologicheskii aspekt biotekhnologicheskikh razrabotok // *Izvestija Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2012, no. 2, pp. 21–24.
21. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Structural features and hormonal regulation of the zygotic embryogenesis in cereals // *Biol. Bull. Rev.*, 2020, vol. 10, pp. 115–126.
22. Zinatullina A.E. Periodizacii embriogeneza zlakov *in planta* i ih ispolzovanie v biotekhnologicheskikh issledovanijah *in vitro* // *Izvestija Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2022, no. 1, pp. 60–69.
23. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E., Veselov D.S. Kriticheskaja stadija avtonomnosti zarodysha pshenicy *in planta* // *Biomics*, 2018, vol. 10, no. 1, pp. 1–6.
24. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E., Nikonov V.I. Vyjavlenie avtonomnosti *in planta* zigoticheskikh zarodyshei jarovoi mjadkoi pshenicy dlja optimizacii biotekhnologicheskikh issledovanii // *Izvestija Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2018, no. 3, pp. 28–33.
25. Seldimirova O.A., Kruglova N.N., Nikonov V.I. Ocenka kolekcii genotipov jarovoi mjadkoi pshenicy po otzyvchivosti jeksplantov na uslovija kulture *in vitro* kak biotekhnologicheskogo prijema // *Экобиотех*, 2018, vol. 1, no. 2, pp. 71–79.
26. 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.*, 2017, vol. 48, pp. 185–197.
27. 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.
28. Seldimirova O.A., Galin I.R., Kruglova N.N., Veselov D.S. Raspredelenije IUK i ABK v razvivajuschisjsja zarodyshah pshenicy *in vivo* // *Izvestija Ufimskogo nauchnogo centra RAS*, 2017, no. 3(1), pp. 114–118.
29. Seldimirova O.A., Galin I.R., Kudoyarova G.R., Kruglova N.N., Veselov D.S. Vlijanie ABK na sozrevanie zarodyshei jachmenja *in vivo*: rezultaty izuchenija deficitnogo po ABK mutanta // *Экобиотех*, 2018, vol. 1, no. 4, pp. 203–211.
30. 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.*, 2019, vol. 29, pp. 1–9.
31. Seldimirova O.A. Testirovanije selektivnyh agentov dlya ocenki jarovoi mjadkoi pshenicy na ustoichivost k zasuhe // *Экобиотех*, 2019, vol. 2, no. 1, pp. 51–62.
32. Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E., Nikonov V.I. Vyjavlenie zasuhoustoichivyh genotipov pshenicy v culture nezrelyh zarodyshei *in vitro* // *Vestnik BGAU*, 2019, vol. 52, no. 4, pp. 37–41.
33. Zinatullina A.E., Nikonov V.I. Laboratornaya ocenka regenerantov gibridnyh kombinacii pshenicy v uslovijah *in vitro* i *ex vitro* // *Экобиотех*, 2021, vol. 4, no. 2, pp. 81–88.
34. Kruglova N.N., Seldimirova O.A. Embriogenes *in vivo* zasuhoustoichivuh regenerantov jarovoi mjadkoi pshenicy, poluchennyh v embriokulture *in vitro* // *TVAN*, 2022, no. 1(29), pp. 65–78.



**EMBRYONIC DATA IN BIOTECHNOLOGICAL STUDIES
OF WHEAT DROUGHT RESISTANCE FOR BREEDING PURPOSES**

© N.N. Kruglova, O.A. Seldimirova, A.E. Zinatullina

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

Drought as an unfavorable combination of meteorological conditions under which plants experience a prolonged water shortage in the air and soil is one of the most common abiotic stress factors, the effect of which leads to significant crop losses of economically important plants, including cereals. One of the promising directions of biotechnological assessment of the resistance of existing and newly created genotypes of cereals to this abiotic stress factor for breeding purposes is the use of embryo culture *in vitro*, when embryos of the particular stage of development are used as explants. Especially promising is the *in vitro* cultivation of immature embryos that are at the critical stage of autonomy. Such embryo does not depend on the physiological factors of the maternal individual and is able to independently give rise to a full-fledged regenerant under adequate *in vitro* conditions. At the same time, to identify the stage of autonomy, complex cytophysiological studies of the embryo in the dynamics of development from the zygote to the mature structure are necessary. Embryonic analysis is also necessary during evaluation of the obtained regenerants in the laboratory *ex vitro* and especially in the field *in vivo* conditions.

The review article, using the example of spring soft wheat, presents some results of comprehensive investigation by the researchers of the plant physiology laboratory UIB UFRC RAS on the use of cytophysiological data to identify the critical stage of embryo autonomy, as well as on the application of the obtained results in the elaboration of biotechnology of embryo culture *in vitro*. Together with the researchers of the laboratory of breeding and seed production of spring wheat of the RIAS UFRC RAS, the prospects of using culture *in vitro* of immature autonomous embryos in the creation of drought-resistant hybrid wheat lines are shown. Experimental studies were conducted on the basis of theoretical formulation by RAS corresponding member T.B. Batygina, whose memory this article is dedicated to.

Keywords: embryogenesis, embryo culture *in vitro*, drought resistance, spring soft wheat.