



## РЕГЕНЕРАНТЫ ПШЕНИЦЫ В СИСТЕМЕ ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКИ ДЕЙСТВИЯ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА

О.А. Сельдимирова<sup>1\*</sup>, М.В. Безрукова<sup>2</sup>, Н.Н. Круглова<sup>1</sup>, Ф.М. Шакирова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, Россия, 450054 г. Уфа, проспект Октября, 69

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, 450054 г. Уфа, проспект Октября, 71

\*Email: [o\\_seldimirova@mail.ru](mailto:o_seldimirova@mail.ru)

### Резюме

Изучено влияние 24-эпибрассинолида на эффективность формирования регенерантов, полученных из зародышевых каллусов пшеницы контрастных по засухоустойчивости сортов. Показана возможность использования экспериментальной модельной системы «незрелый зародыш – зародышевый каллус – регенерант» в экспресс-оценке действия антистрессовых регуляторов роста растений.

**Ключевые слова:** незрелый зародыш, каллус, регенерант, 24-эпибрассинолид, биотехнология растений, пшеница.

**Цитирование:** Сельдимирова О.А., Безрукова М.В., Круглова Н.Н., Шакирова Ф.М. Регенеранты пшеницы в системе экспресс-оценки действия 24-эпибрассинолида // Биомика. 2020. Т.12(3). С. 394-397.

DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-30

© Авторы

## WHEAT REGENERANTS IN THE SYSTEM OF RAPID ASSESSMENT OF THE EFFECT OF 24-EPIBRASSINOLIDE

O. A. Seldimirova<sup>1\*</sup>, M. V. Bezrukova<sup>2</sup>, N. N. Kruglova<sup>1</sup>, F. M. Shakirova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ufa Institute of Biology of UFRC RAS, pr. Oktyabrya 69, 450054 Ufa, Russia.

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Genetics of UFRC RAS, pr. Oktyabrya 71, 450054 Ufa, Russia.

\*Email: [o\\_seldimirova@mail.ru](mailto:o_seldimirova@mail.ru)

### Resume

The influence of 24-epibrassinolide on the efficiency of regenerants obtained from embryonic callus formation was studied in wheat cultivars contrast for drought resistance. The possibility of using the experimental model system «immature embryo – embryonic callus – regenerant» in the rapid assessment of the effect of antistress plant growth regulators is shown.

**Keywords:** immature embryo, callus, regenerant, 24-epibrassinolide, plant biotechnology, wheat.

**Citation:** Seldimirova O.A., Bezrukova M.V., Kruglova N.N., Shakirova F.M. Wheat regenerants in the system of rapid assessment of the effect of 24-epibrassinolide. *Biomics*. 2020. Vol. 12(3). P. 394-397. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-30 (In Russian)

© The Authors

Каллусы *in vitro* рассматриваются как перспективные экспериментальные системы при исследовании различных аспектов биотехнологии растений [1]. Отдельное направление таких исследований – использование каллусов в качестве тест-систем при оценке стресс-устойчивости [2]. В данной работе анализируется возможность экспресс-оценки действия антистрессовых регуляторов роста растений (PPP) с использованием как регенерационно способных каллусов, так и регенерантов. В такой экспресс-оценке принципиально важно использование каллусов, полученных из зародышей. Действительно, в зародышах отражен весь морфогенетический потенциал взрослого растения [3], и их использование вместо обычных в биотехнологической практике зрелых семян дает определенный выигрыш во времени. Особенно важно использовать каллусы, полученные из незрелых зародышей на стадии начала органогенеза, представленных, по нашим данным, способными к морфогенезу плюрипотентными меристематическими клетками [4].

Перспективное направление таких исследований – оценка в тест-системах «незрелый зародыш – зародышевый каллус – регенерант» засухоустойчивого действия различных PPP, поскольку именно засуха – один из наиболее распространенных негативных факторов среды. Большое внимание в этой связи мы уделяем гормону 24-эпибрасинолид (24-ЭБ), проявившему протекторные свойства при исследовании засухоустойчивости пшеницы [5]. Ранее нами [6] были получены данные о влиянии внесения 24-ЭБ в индукционную среду на формирование из незрелых зародышей у устойчивого и не устойчивого к засухе сортов пшеницы зародышевых каллусов, их ростовые показатели, содержание АБК и цитокининов, морфо- и гистологические параметры, а также регенерационную способность. Было установлено, что устойчивый сорт характеризовался существенно большей частотой образования каллусов, более высоким приростом сырой и сухой массы, повышенным содержанием эндогенных цитокининов, а также большим количеством инициальных морфогенетических очагов в каллусах; у этого сорта отмечены и максимальные показатели способности к регенерации и формированию регенерантов одним каллусом. В то же время важно выявить влияние 24-ЭБ не только на формирование и свойства зародышевых каллусов, но и проанализировать влияние этого гормона на регенеранты, развивающиеся на регенерационной среде.

Цель данной работы – выявить влияние 24-ЭБ на эффективность формирования регенерантов из

зародышевых каллусов у контрастных по засухоустойчивости сортов пшеницы. Объектом исследования послужили каллусы и регенеранты пшеницы засухоустойчивого сорта Башкирская 26 (Б 26) (селекция БНИИ СХ УФИЦ РАН, г. Уфа) и неустойчивого к засухе сорта Салават Юлаев (СЮ) (селекция БГАУ, г. Уфа). Использовали методы исследования, подробно изложенные в работе [6]. Индукционной средой служила агаризованная среда Мурасиге-Скуга (МС): 1) вариант, содержащий 2.0 мг/л 2,4-Д и 0.2 мг/л кинетина, и 2) вариант, в котором кинетин заменен на 24-ЭБ в концентрации 0.2 мг/л. В качестве регенерационной среды использовали среду МС: 1) вариант, содержащий 0.2 мг/л ИУК и 0.2 мг/л кинетина, и 2) вариант, в котором кинетин заменен на 24-ЭБ в концентрации 0.2 мг/л. Статистическую обработку полученных результатов вели с применением программы Microsoft Office Excel 2010.

Максимальная регенерационная способность каллусов у обоих сортов (85.5% у СЮ и 95.6% у Б 26) отмечена при индукции каллусогенеза с применением варианта среды 2,4-Д + 24-ЭБ и последующем культивировании каллусов на регенерационной среде в варианте ИУК + 24-ЭБ. При этом у устойчивого сорта Б 26 значения регенерационной способности каллусов при различных комбинациях вариантов индукционной и регенерационной сред сопоставимы, тогда как у неустойчивого сорта СЮ регенерационная способность каллусов заметно выше в комбинации вариантов индукционной и регенерационной сред, в которых вместо кинетина использовался 24-ЭБ.

Известно, что ключевые PPP при формировании регенерантов – цитокинины (ЦК), участвующие в формировании в каллусе морфогенетических очагов и регенерации из них побегов, и АБК – гормон стресса, роль которого велика в условиях культуры *in vitro*, когда среды содержат нефизиологические концентрации PPP и других компонентов [1]. Поэтому следующий этап работы был посвящен оценке содержания эндогенных PPP в регенерантах, полученных на различных вариантах регенерационной среды (рис. 1, 2). Согласно рис. 1, содержание ЦК в корнях регенерантов обоих сортов на всех вариантах сред сопоставимо, тогда как в побегах устойчивого сорта Б 26 содержание ЦК выше, чем у неустойчивого сорта СЮ. Это может быть связано с более интенсивными ростообразовательными процессами у Б 26, приводящими к более высокой частоте регенерации. Кроме того, у обоих сортов содержание ЦК выше на варианте регенерационной среды, дополненной 24-ЭБ, что может быть обусловлено усилением синтеза эндогенных ЦК под действием 24-ЭБ, как это было выявлено нами ранее [6].

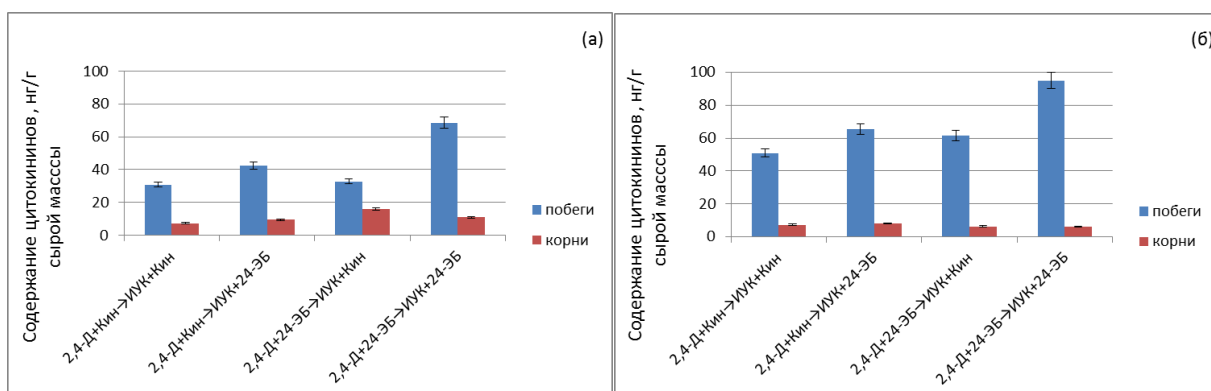


Рис. 1. Содержание цитокининов в регенерантах сортов СЮ (а) и Б 26 (б).  
Fig. 1. Content of cytokinins in regenerants of varieties SU (a) and B 26 (b).

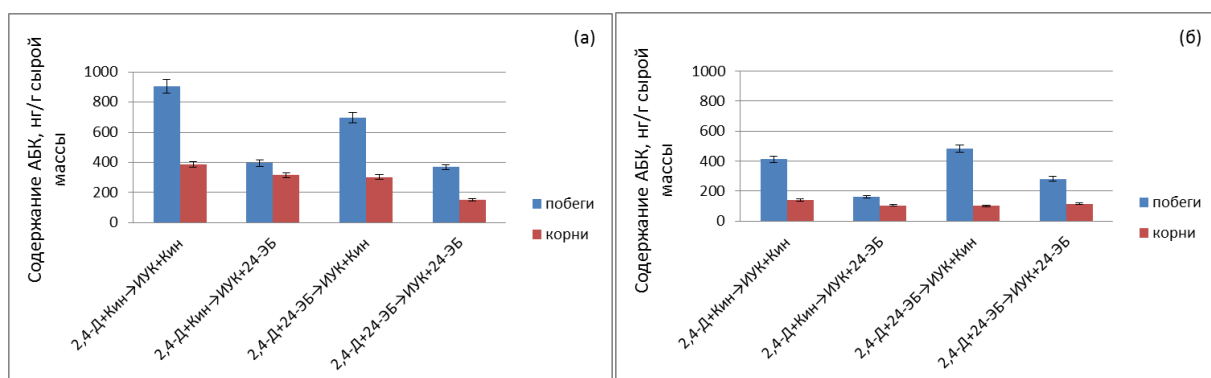


Рис. 2. Содержание АБК в регенерантах сортов СЮ (а) и Б 26 (б).  
Fig. 2. Content of ABA in regenerants of varieties SU (a) and B 26 (b).

Как видно из рис. 2, содержание АБК и в побегах, и в корнях регенерантов неустойчивого сорта СЮ значительно выше, чем устойчивого сорта Б 26. Эти результаты согласуются с данными о том, что засухоустойчивость сортов можно прогнозировать по содержанию эндогенной АБК [7]. Кроме того, содержание АБК в регенерантах, полученных на регенерационной среде, дополненной 24-ЭБ, ниже, чем на среде, дополненной кинетином. Это соответствует данным о снижении уровня эндогенной АБК под воздействием 24-ЭБ, полученным нами ранее [6]. Также известно, что в условиях *in vivo* и *in situ* АБК активирует ферменты, катализирующие распад ЦК, и ингибирует экспрессию генов биосинтеза ЦК, что, в свою очередь, приводит к снижению активности клеточных делений и торможению ростовых процессов [8].

Стресс-устойчивость пшеницы к абиотическим факторам – сложный процесс, поэтому так перспективны разработки модельных систем для исследования различных аспектов этой проблемы. В

данной работе на примере контрастных по засухоустойчивости сортов пшеницы показана возможность использования экспериментальной системы «незрелый зародыш – зародышевый каллус – регенерант» в экспресс-оценке действия антистрессового регулятора роста растений 24-ЭБ. Согласно нашей предварительной оценке, получение каллусов именно из незрелых зародышей пшеницы в стадии начала органогенеза позволяет сократить время выявления действия 24-ЭБ минимум на 15 сут в сравнении с использованием в качестве эксплантов зрелых зародышей/зерновок.

Авторы выражают благодарность проф. В.А. Хрипачу (Институт биоорганической химии НАН Беларуси) за любезно предоставленный препарат 24-эпибрассинолида.

В ходе исследований использована приборная база ЦКП «Агидель» УФИЦ РАН.

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

**Литература**

1. Основы биотехнологии растений / Б. Р. Кулуев, Н. Н. Круглова, А. А. Зарипова, Р. Г. Фархутдинов. Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. 244 с.
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 (on the Example of Cereals) // Biol. Bull. Rev. 2018. V. 8. P. 518–526. DOI: 10.10.7868/S0042132418030067
3. 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. Pp. 115–126. DOI: 10.1134/S2079086420020048
4. 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* // Изв. Уфимского науч. центра РАН. 2019. №1. С. 25–29. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-1-25-29
5. Shakirova F., Allagulova C., Maslennikova D. et al. Involvement of dehydrins in 24-epibrassinolide-induced protection of wheat plants against drought stress // Plant Physiol. Biochem. 2016. V. 108. P. 539–548. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.07.013
6. Сельдимирова О.А., Безрукова М.В., Галин И.Р. и др. Влияние 24-эпибрассинолида на формирование, ростовые показатели и регенерационную способность каллусов *in vitro* контрастных по засухоустойчивости сортов пшеницы // Физиол. раст. 2017. Т. 64. №6. С. 461–472. DOI: 10.7868/S0015330317060082
7. Веселов С.Ю., Шарипова Г.В., Тимергалин М.Д. и др. Прогноз засухоустойчивости по содержанию абсцизовой кислоты и изучение возможности упрощения процедуры ее количественной оценки в растениях пшеницы // Изв. Самарского науч. центра РАН. 2011. Т. 13. №5(3). С. 17–20.
8. Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р., Кудрякова Н.В., Кузнецов В.В. Роль цитокининов в стресс-устойчивости растений // Физиол. раст. 2017. Т. 64. №1. С. 19–32.
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 (on the Example of Cereals) // Biol. Bull. Rev. 2018. V. 8. P. 518–526. DOI: 10.10.7868/S0042132418030067
3. 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. Pp. 115–126. DOI: 10.1134/S2079086420020048
4. Kruglova N. N., Seldimirova O. A., Zinatullina A. E. Gistologicheskij status zarodysha pshenicy v stadii organogeneza in vivo, optimal'noj dlja poluchenija morfogenного kallusa in vitro // Izv. Ufimskogo nauch. centra RAN. 2019. №1. S. 25–29. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-1-25-29 [Histological status of wheat embryo at the stage of organogenesis in vivo as optimal stage for obtaining morphogenic callus in vitro] (In Russian)
5. Shakirova F., Allagulova C., Maslennikova D. et al. Involvement of dehydrins in 24-epibrassinolide-induced protection of wheat plants against drought stress // Plant Physiol. Biochem. 2016. V. 108. P. 539–548. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.07.013
6. Sel'dimirova O.A., Bezrukova M.V., Galin I.R. i dr. Vlijanie 24-jepibrassinolida na formirovanie, rostovye pokazateli i regeneracionnuju sposobnost' kallusov in vitro kontrastnyh po zasuhoustojchivosti sortov pshenicy // Fiziol. rast. 2017. T. 64. №6. S. 461–472. DOI: 10.7868/S0015330317060082 [Effect of 24-epibrassinolide on the formation, growth parameters, and regenerative ability of in vitro callus varieties of wheat with contrasting drought resistance] (In Russian)
7. Veselov S.Ju., Sharipova G.V., Timergalin M.D. i dr. Prognoz zasuhoustojchivosti po sodержaniju absizovoj kisloty i izuchenie vozmozhnosti uproshhenija procedury ee kolichestvennoj ocenki v rastenijah pshenicy // Izv. Samarskogo nauch. centra RAN. 2011. T. 13. №5(3). S. 17–20. [Forecast of drought resistance based on the content of abscisic acid and study of the possibility of simplifying the procedure for its quantitative assessment in wheat plants] (In Russian)
8. Veselov D.S., Kudojarova G.R., Kudrjakova N.V., Kuznecov V.V. Rol' citokininov v stress-ustojchivosti rastenij // Fiziol. rast. 2017. T. 64. №1. S. 19–32. [The role of cytokinins in plant stress resistance] (In Russian)

**References**

1. Osnovy biotehnologii rastenij / B. R. Kuluev, N. N. Kruglova, A. A. Zaripova, R. G. Farhutdinov. Ufa: RIC BashGU, 2017. 244 s. [Fundamentals of plant biotechnology] (In Russian)