



## Влияние состава питательной среды и физиологического состояния экспланта на процессы формирования и развития каллусов у озимой и яровой пшеницы *Triticum aestivum* L.

П.А. Федотов\*, И.В. Любушкина\*\*

\*Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

\*\*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Российская Федерация

**Аннотация.** Каллусные культуры давно используются во многих работах для изучения физиологических процессов и влияния факторов окружающей среды на растительный организм. Большое значение, в том числе и для сельского хозяйства, имеют каллусные культуры злаков, в частности пшеницы *Triticum aestivum* L. Тем не менее индукция каллуса и его эффективный рост осложняются генетическими и физиологическими особенностями конкретного вида или сорта. В связи с этим целью проведенного исследования было изучение особенностей роста каллусных культур озимой и яровой пшеницы на разных питательных средах, а также выявление оптимальной среды для индукции каллусогенеза и эффективного роста каллусов. В качестве эксплантов использовали зародыши набухших и сухих семян. Зародыш изолировали от семени и инкубировали на среде Мурасиге – Скуга, среду Гамборга и среду Чу, модифицированную микроэлементами среды Блейдса, в асептических условиях. В качестве регулятора роста использовали 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту в концентрации 2,5 мг/л. Зародыши культивировали в течение 3 недель в темноте при температуре 26 °С. Для оценки эффективности питательных сред регистрировали частоту каллусогенеза и прирост биомассы каллуса. Активная индукция каллусогенеза наблюдалась на всех используемых средах в культуре сухих зародышей озимой и яровой пшеницы. В случае использования набухших зародышей максимальная частота каллусообразования у озимой пшеницы наблюдалась на среде Мурасиге – Скуга, у яровой – на среде Гамборга. Учитывая скорость роста каллусов, наиболее подходящими для культивирования эксплантов озимой пшеницы были среды Мурасиге – Скуга и Чу, а для культивирования эксплантов яровой пшеницы – среда Гамборга.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum* L., зрелые зародыши, среда Гамборга, среда Чу, среда Мурасиге – Скуга

**Благодарности.** Работа выполнена с использованием коллекций Центра коллективного пользования «Биоресурсный центр» и оборудования Центра коллективного пользования «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск, Россия).

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (номер государственной регистрации 121031300009-4).

**Для цитирования:** Федотов П.А., Любушкина И.В. Влияние состава питательной среды и физиологического состояния экспланта на процессы формирования и развития каллусов у озимой и яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 1. DOI: 10.21285/achb.967. EDN: ZHJMG.

## Effect of culture medium and physiological state of the explant on callus formation and development in winter and spring wheat (*Triticum aestivum* L.)

Pavel A. Fedotov\*✉, Irina V. Lyubushkina\*\*

\*Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

\*\*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

**Abstract.** Callus cultures have long been used in many works to study physiological processes and the effects of environmental factors on plant organisms. Of great importance, including for agriculture, are the callus cultures of cereals, specifically *Triticum aestivum* L. (wheat). However, callus induction and its effective growth are complicated by the genetic and physiological characteristics of a particular species or cultivar. In this connection, the study was aimed at examining the growth of callus cultures of winter and spring wheat on different growth media, as well as identifying the optimal medium for callus induction and effective callus growth. As explants, the study used the germs of imbibed and dry seeds. The germ was isolated from the seed and incubated on Murashige and Skoog medium, Gamborg medium, and Chu medium (modified with the microsalts of Blaydes medium) under aseptic conditions. As a growth regulator, the study used 2,4-dichlorophenoxyacetic acid at a concentration of 2.5 mg/L. The germs were cultivated for three weeks at 26 °C in the dark. In order to evaluate the effectiveness of culture media, the callus formation rate and callus biomass growth were recorded. Active callus induction was observed in the culture of dry winter and spring wheat germs on all of the used media. In the case of imbibed germs, the maximum callus formation rate in winter wheat was observed on Murashige and Skoog medium, whereas in spring wheat, it was observed on Gamborg medium. In terms of the callus growth rate, Murashige and Skoog medium and Chu medium were found to be more appropriate for cultivating winter wheat explants, while Gamborg medium showed better results for cultivating spring wheat explants.

**Keywords:** *Triticum aestivum* L., mature germs, Gamborg medium, Chu medium, Murashige and Skoog medium

**Acknowledgment.** The study was carried out using the equipment of the Centers for collections of The Core Facilities "Bioresource Center" and equipment of The Core Facilities Center "Bioanalytics" at The Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences.

**Funding.** The work was carried out within the framework of a state assignment of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry (Siberian Branch, Russian Academy of Sciences) (no. 122041100049-0)

**For citation:** Fedotov P.A., Lyubushkina I.V. Effect of culture medium and physiological state of the explant on callus formation and development in winter and spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(1). (In Russian). DOI: 10.21285/achb.967. EDN: ZHJMG7.

### ВВЕДЕНИЕ

Каллус представляет собой однородную массу недифференцированных тотипотентных клеток, образующихся из раневой меристемы, способных делиться при благоприятных условиях и достаточной концентрации ростовых факторов и питательных веществ [1]. Каллусные культуры используются во многих исследовательских работах [2], в том числе для изучения процессов роста и деления клеток [3], а также для определения специфичности ответа растения на действие стрессовых факторов различного происхождения [4]. При получении каллусной культуры необходимо учитывать не только состав питательной среды, но и физиологическое состояние экспланта и его локализацию в растительном организме. От локализации зависит генетическая стабильность материала [5], что важно учитывать при длительном культивировании. Локализация экспланта и его физиологическое состояние

также определяют особенности накопления различных метаболитов и регенеративную способность [6].

Существуют стандартные методы культивирования каллусных культур, однако при работе с определенным объектом могут возникнуть трудности, обусловленные его сорто- и видоспецифичностью [7]. В этом случае требуется адаптировать условия культивирования к данному объекту, что может отражаться в изменении состава питательной среды [8]. Сорто- и видоспецифичность растения может проявляться в особенностях метаболизма и способностью к накоплению определенных соединений [9–11], особенностях оптимума условий культивирования [12] и ответной реакции растения на стрессовые факторы [13]. Совокупность данных факторов может затруднить применение питательных сред стандартного состава, что делает необходимой их модификацию путем добавления или исключения

отдельных компонентов либо изменения их концентрации [14].

В рамках нашего исследования работа проводилась с использованием озимой и яровой форм пшеницы *Triticum aestivum* L., относящейся к семейству злаковых. Выращивание каллусных культур осложняется их генетической и эпигенетической изменчивостью, что приводит к возникновению соматональных вариаций [15, 16], и высокой селективностью к составу питательной среды [17]. Кроме этого, серьезной проблемой, возникающей при культивировании зрелых зародышей пшеницы *in vitro*, является их низкая способность к регенерации и каллусогенезу [18]. Оптимизация условий культивирования и состава питательных сред необходимы в большинстве случаев для повышения пролиферативной способности изучаемого объекта [19]. Такие подготовительные эксперименты трудоемки и занимают немало времени, поэтому исследования, посвященные сравнению особенностей каллусогенеза у сложных для перевода в условия *in vitro* объектов, весьма актуальны, поскольку позволяют получить необходимый результат с меньшими трудозатратами. Зачастую исследователи выбирают среду Мурасиге – Скуга без проведения предварительного анализа, однако для некоторых форм злаков могут использоваться с большей эффективностью и другие среды, которые позволят достичь желаемого результата за более короткий срок. В связи с этим в нашей работе впервые проведено сравнение особенностей каллусогенеза у двух форм мягкой пшеницы (озимой и яровой) на различных по составу средах с использованием различающихся по физиологическому состоянию эксплантов – зрелых зародышей, изолированных из сухих и набухших семян. Для определения чувствительности каллусной культуры к составу питательной среды использовали среду Мурасиге – Скуга (МС), среду Гамборга (В<sub>5</sub>) и среду Чу (N<sub>6</sub>), модифицированную добавлением микросолей среды Блейдса [20]. МС считается универсальной средой при работе с каллусными культурами различных видов растений, однако среды В<sub>5</sub> и N<sub>6</sub> также находят свое применение, в том числе при работе со злаковыми культурами [21, 22].

Целью представленного исследования являлось проведение сравнительного анализа каллусогенеза и роста каллусных культур озимой (сорт Иркутская) и яровой (сорт Новосибирская 29) пшеницы на разных питательных средах при использовании различающихся по физиологическому состоянию эксплантов и выявление наиболее оптимальных условий культивирования и состава среды. Проводился учет прироста биомассы каллусов и частоты их образования, так как эффективность культивирования обуславливается обычно совокупностью этих параметров [23, 24].

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования использовали зрелые сухие и набухшие семена озимой (сорт Иркутская) и яровой (сорт Новосибирская 29) форм пшеницы *Triticum aestivum* L. Семена предварительно обрабатывали мыльным раствором и помещали в 1%-й раствор KMnO<sub>4</sub> для стерилизации на 20 мин. Для набухания семена впоследствии выдерживали в дистиллированной воде 24 ч. Для изоляции сухих зародышей использо-

вались семена сразу после стерилизации KMnO<sub>4</sub>, а для изоляции набухших зародышей – семена после стерилизации и процедуры набухания. Изолированные зародыши дополнительно стерилизовали 5%-м раствором гипохлорита натрия в течение 20–30 мин, после чего трижды промывали стерильной дистиллированной водой.

После получения и стерилизации растительного материала зародыши помещались на твердые питательные среды: среду МС, среду В<sub>5</sub> и среду N<sub>6</sub>, модифицированную микросолями Блейдса. В качестве источника углеводов использовали сахарозу в конечной концентрации 3%. Все среды содержали в своем составе: пиридоксин (1 мг/л), никотиновую кислоту (0,5 мг/л), глицин (2 мг/л) и миоинозитол (0,001%). Содержание тиамин в средах МС и N<sub>6</sub> составило 1 мг/л, а в среде В<sub>5</sub> – 10 мг/л. Среда N<sub>6</sub> содержала также аскорбиновую кислоту (1 мг/л). В качестве стимулятора роста использовали 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) в концентрации 2,5 мг/л. Культивирование эксплантов проводилось при постоянном температурном режиме 26 °С в темноте в течение 3 недель.

По истечении периода культивирования проводился учет каллусообразования. Для этого рассчитывали отношение образовавшихся каллусов к числу посаженных эксплантов. В этот же период с интервалом в 1 неделю проводился учет прироста сырой биомассы каллусов (в миллиграммах). Для этого каллус извлекали из питательной среды и взвешивали на аналитических весах. Определение вышеописанных параметров проводилось не менее чем в трех повторностях ( $n = 3$ ). Нормальность распределения определяли с помощью теста Шапиро – Уилкса. Данные представлены как  $M \pm SD$ . Статистическую значимость различий между вариантами определяли с помощью ANOVA. Различающиеся варианты отмечены на графиках и диаграммах разными буквами при  $p < 0,05$ .

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

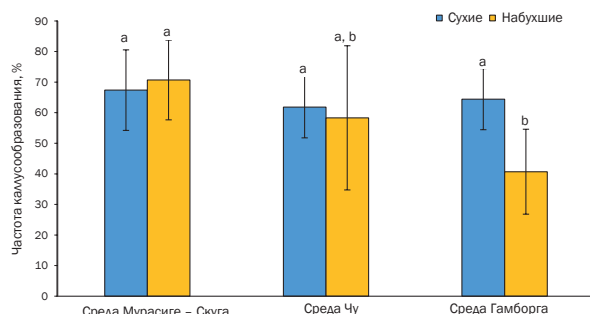
В работе регистрировались такие параметры, как частота каллусообразования и прирост биомассы каллуса в процессе культивирования изолированных зрелых зародышей сухих и набухших семян озимой и яровой пшеницы. Так как при набухании зародышей происходит интенсификация обмена веществ, можно предположить, что данный фактор способен оказать влияние на частоту каллусогенеза и прирост биомассы. Выявление чувствительности изучаемых сортов пшеницы к изменению состава питательной среды и его оптимизация явились важными аспектами нашей работы.

Использование двух различных форм пшеницы – озимой и яровой – было обусловлено необходимостью выявить, как влияют их физиологические и генетические различия на рост каллусных культур исследуемых сортов. Как известно, озимая и яровая формы пшеницы отличаются по времени колошения и реакции на длину светового дня, что обусловлено наличием разного состояния аллелей генов *Vrn-A1 Vrn-B1 Vrn-D1* [25]. Было предположено, что предварительное замачивание семян может способствовать ускоренной адаптации эксплантов при введении в культуру и повысить частоту деления клеток.

Обнаружено, что при культивировании зародышей, изолированных из сухих семян, частота образования



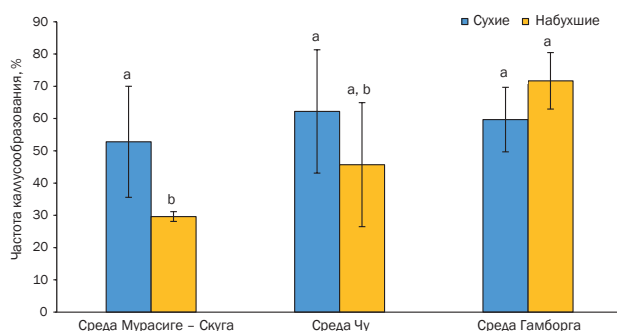
калусов у озимой и яровой пшеницы статистически значимо не различалась и составляла примерно 70% на всех исследуемых средах (рис. 1). В работе [26] частота калусообразования на среде МС у озимых и яровых сортов также была близкой к 70%, что согласуется с полученными нами результатами.



**Рис. 1.** Влияние состава среды культивирования на частоту калусообразования в культуре зародышей озимой пшеницы, изолированных из сухих и набухших семян ( $M \pm SD$ ,  $n = 3-5$ ; статистически значимых различий выявлено не было)

**Fig. 1.** Effect of the cultivation medium composition on the frequency of callus formation in the culture of winter wheat embryos isolated from dry and swollen seeds ( $M \pm SD$ ,  $n = 3-5$ ; there were no statistically significant differences)

При культивировании зародышей озимой пшеницы, полученных из набухших семян, максимальная частота калусообразования наблюдалась на средах МС и  $N_6$  и была равна примерно 60–70%, что соответствовало показателям, рассчитанным при анализе культивирования зародышей сухих семян (рис. 2). В работе [18], посвященной изучению калусогенеза пшеницы, авторами которой также использовались зародыши, извлеченные из набухших семян, частота калусообразования по окончании культивирования на среде МС составляла примерно 76%, что сопоставимо с результатами нашей работы.



**Рис. 2.** Влияние состава среды культивирования на частоту калусообразования в культуре зародышей яровой пшеницы, изолированных из сухих и набухших семян ( $M \pm SD$ ,  $n = 3-5$ ; статистически значимых различий выявлено не было)

**Fig. 2.** Effect of the cultivation medium composition on the frequency of callus formation in the culture of spring wheat embryos isolated from dry and swollen seeds ( $M \pm SD$ ,  $n = 3-5$ ; there were no statistically significant differences)

У яровой пшеницы максимальная частота калусогенеза наблюдалась, напротив, на среде  $B_5$  и также составила примерно 70% (см. рис. 2). В целом значения частоты калусообразования при использовании набухших зародышей были более вариабельны, что доказывает их большую чувствительность к составу среды, в то время как культивирование зародышей, не подвергавшихся набуханию, показало стабильно высокую частоту калусогенеза на всех трех средах.

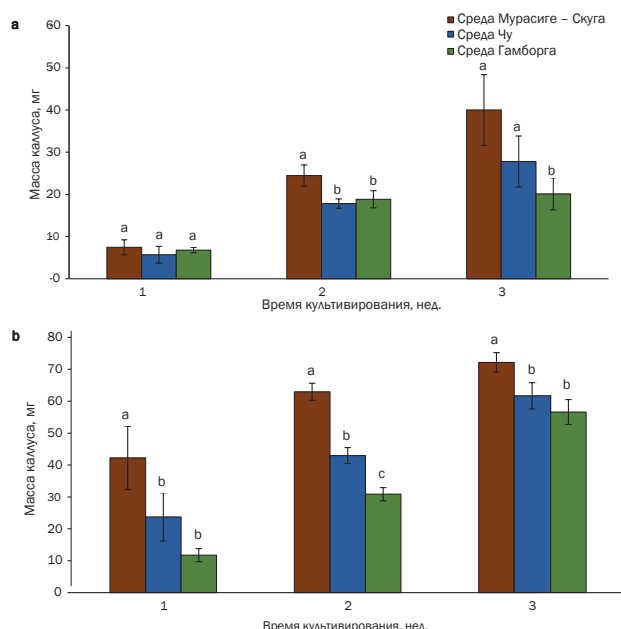
Частота калусообразования, отмеченная на среде МС после культивирования зародышей, изолированных из сухих семян, независимо от формы пшеницы, оставалась стабильно высокой и составила примерно 60%. В исследовании [27] при культивировании зрелых зародышей нескольких сортов яровой пшеницы на среде МС средняя частота калусообразования также составляла около 60%. Относительно высокая и стабильная индукция калусогенеза может свидетельствовать о высокой адаптационной способности эксплантов, изолированных из сухих семян яровой пшеницы различных сортов, к составу данной среды.

Образование калусов может являться промежуточным этапом получения растений-регенерантов [28, 29]. Следует отметить, что в ряде работ для повышения частоты образования калусов, а также индукции морфогенеза в культуре могут использоваться не только растительные гормоны в различных концентрациях, но и наночастицы различных металлов [29–31]. Тем не менее обычно в таких работах не учитывается скорость прироста калусов, хотя данный показатель может отражать физиологическое состояние каллуса и степень адаптации к составу среды. В ходе нашей работы был осуществлен анализ прироста массы калусов озимой и яровой пшеницы на трех питательных средах и проведено сравнение скорости прироста биомассы калусов в зависимости от физиологического состояния эксплантов, изолированных из сухих или набухших семян. Известно, что предварительное замачивание семян увеличивает содержание воды в клетках семени и стимулирует активность гидролитических ферментов (амилазы, целлюлазы, ксилазы), преобразующих высокомолекулярные запасные вещества в более доступные простые соединения [32]. При достаточном содержании воды семя переходит к стадии прорастания, или стадии активного роста [33]. При этом происходит активация клеточного цикла и изменение гормонального состава в семени [34]. Эти факторы могут способствовать более быстрой адаптации клеток экспланта к условиям *in vitro* и обеспечивать высокую скорость роста.

Действительно, сравнение скоростей роста калусов, изолированных из сухих и набухших семян, показало, что высокие скорости роста были характерны для калусов, полученных из зародышей набухших семян. Так, при культивировании зародышей озимой пшеницы, изолированных из сухих семян, максимальный прирост биомассы калусов наблюдался на среде МС, и к концу культивирования средняя масса одного каллуса была примерно 45 мг. На средах  $N_6$  и  $B_5$  этот показатель был ниже почти в 2 раза и составлял примерно 28 и 20 мг соответственно (рис. 3, а).

При изучении прироста биомассы калусов озимой пшеницы в культуре зародышей, изолированных из

набухших семян, по истечении периода культивирования средняя масса каллуса была примерно в 2 раза выше (рис. 3, б), чем в предыдущем эксперименте при культивировании зародышей сухих семян (см. рис. 3, а). Максимальный рост каллусов наблюдался на среде МС – после 1 недели масса каллуса достигала примерно 45 мг, что было сопоставимо с результатом, полученным после 3 недель культивирования на той же среде зародышей, изолированных из сухих семян (см. рис. 3, б). К концу 3-й недели масса каллусов достигала примерно 75 мг, что было выше полученного результата при культивировании зародышей, изолированных из сухих семян, примерно в 2 раза. Показатели роста, полученные при культивировании эксплантов на средах N<sub>6</sub> и B<sub>5</sub>, также более чем в 2 раза превышали показатели, полученные при культивировании зародышей сухих семян на тех же средах, и достигали примерно 60 и 65 мг соответственно (см. рис. 3, б).

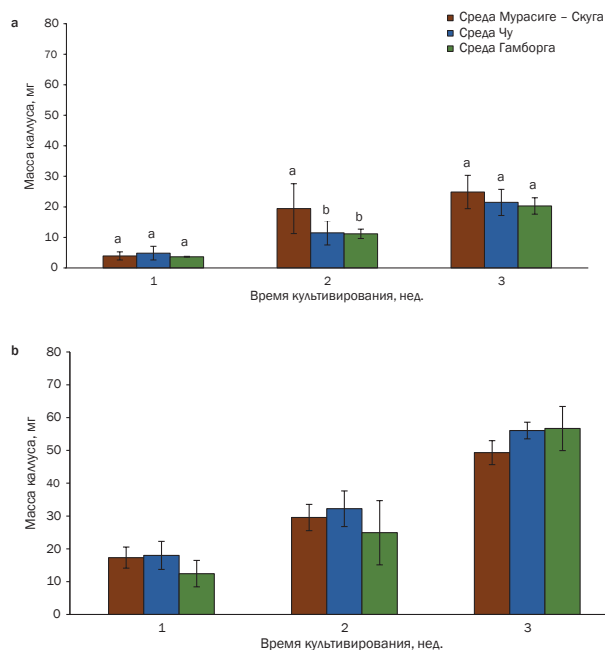


**Рис. 3.** Влияние состава среды культивирования на прирост биомассы каллусов в культуре зародышей озимой пшеницы: а – изолированных из сухих семян; б – изолированных из набухших семян ( $M \pm SD$ ,  $n = 3-5$ )

**Fig. 3.** Effect of the cultivation medium composition on the growth of callus biomass in the culture of winter wheat embryos: а – isolated from dry seeds; б – isolated from swollen seeds ( $M \pm SD$ ,  $n = 3-5$ )

В случае культивирования зародышей яровой пшеницы, изолированных из сухих семян, наблюдался стабильный прирост биомассы на всех используемых средах и к концу 1-й недели культивирования показатели были примерно равны и значимо не различались – они составляли 22–28 мг (рис. 4, б). Следует отметить, что после 1 недели культивирования масса каллусов не достигала даже 10 мг как у яровой, так и у озимой пшеницы на всех трех средах, что могло быть связано с состоянием покоя, в котором находились сухие семена, и адаптацией изолированных клеток к питательной среде (см. рис. 3, а; рис. 4, а).

По результатам культивирования зародышей яровой пшеницы, изолированных из набухших семян,



**Рис. 4.** Влияние состава среды культивирования на прирост биомассы каллусов в культуре зародышей яровой пшеницы: а – изолированных из сухих семян; б – изолированных из набухших семян ( $M \pm SD$ ,  $n = 3-5$ )

**Fig. 4.** Effect of the cultivation medium composition on the growth of callus biomass in the culture of spring wheat embryos: а – isolated from dry seeds; б – isolated from swollen seeds ( $M \pm SD$ ,  $n = 3-5$ )

к концу 3-й недели показатели массы на всех трех средах были примерно равны и составляли около 60 мг, что почти в 3 раза больше показателей, полученных при культивировании сухих семян (см. рис. 3, а).

Таким образом, при использовании в качестве эксплантов зародышей набухших семян высокая скорость прироста биомассы каллуса наблюдалась как у озимой, так и у яровой пшеницы вне зависимости от состава среды, что может быть обусловлено ускоренным обменом веществ [32–34] и, как следствие, более быстрой адаптацией изолированных клеток к питательной среде [34]. Повышенная адаптивная способность клеток может объясняться активацией ферментов, мобилизацией питательных веществ, а также ускоренным синтезом стрессовых белков и включением механизмов антиоксидантной защиты в адаптивный процесс [35, 36].

В соответствии с изложенным в данной работе установлено, что для получения стабильной каллусной культуры у озимой пшеницы можно использовать не только среду МС, но также среды N<sub>6</sub> и B<sub>5</sub>, на что указывают высокая частота каллусогенеза и скорость роста каллусов (см. рис. 1, 3, а, б). Для получения культуры яровой пшеницы предпочтительнее выбирать среды N<sub>6</sub> и B<sub>5</sub>.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования установлено, что состав питательной среды не оказывал серьезного воздействия на частоту каллусообразования озимой и яровой пшеницы при культивировании зародышей, изолированных из сухих семян. Результат культивирования показал стабильно высокую частоту каллусогенеза на

всех используемых средах как у озимой, так и у яровой пшеницы, что позволяет рекомендовать сухие зародыши в качестве эксплантов без необходимости адаптации состава среды культивирования.

Выявлено, что состав сред МС и N<sub>6</sub> был наиболее подходящим для культивирования зародышей озимой пшеницы, изолированных из набухших семян. В случае яровой пшеницы оптимальными средами для культивирования зародышей набухших семян являлись среды N<sub>6</sub> и B<sub>5</sub>.

Более активный рост биомассы первичных каллусов происходил при использовании зародышей, изолированных из набухших семян, при этом максимальный рост наблюдался у озимой пшеницы на среде МС. Низкие показатели роста каллусов яровой пшеницы могли быть обусловлены ее большей чувствительностью к составу среды, о чем свидетельствовала в числе прочего и высокая вариабельность частоты каллусогенеза яровой пшеницы на разных средах.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ikeuchi M., Sugimoto K., Iwase A., Plant callus: mechanisms of induction and repression // The Plant Cell. 2013. Vol. 25, no. 9. P. 3159–3173. DOI: 10.1105/tpc.113.116053.
2. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures // Engineering. 2019. Vol. 5, no. 1. P. 50–59. DOI: 10.1016/j.eng.2018.11.006.
3. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для изучения органоогенеза растений // Известия Уфимского научного центра Российской академии наук. 2019. N 2. С. 44–54. DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-44-54. EDN: QYQONZ.
4. Зинатуллина А.Е. Модельная система «зародыш – зародышевый каллус» в экспресс-оценке стрессовых и антистрессовых воздействий (на примере злаков) // Экобиотех. 2020. Т. 3. N 1. С. 38–50. DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-1-38-50. EDN: DBPBWZ.
5. Rebrov A. Improvement of the copy-book of nutrient medium for input of meristems of grapes in the culture of *in vitro* // E3S Web of Conferences. 2020. Vol. 210. P. 05015. DOI: 10.1051/e3sconf/202021005015.
6. Иванова Н.Н., Цюпка В.А., Корзина Н.В. Влияние состава питательной среды на сохранение жизнеспособности и генетической стабильности эксплантов хризантемы садовой при депонировании *in vitro* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 4. С. 483–493. DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-483-493. EDN: RSMMRT.
7. Семенова Д.А., Молканова О.И., Ахметова Л.Р., Митрофанова И.В. Влияние состава питательной среды на регенерацию *in vitro* некоторых сортов *Clematis* L. // Вестник КрасГАУ. 2023. N 4. С. 66–73. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-4-66-73. EDN: NVJKFC.
8. Sagharyan M., Ganjeali A., Cheniany M., Mousavi Kouhi S.M. Optimization of callus induction with enhancing production of phenolic compounds production and antioxidants activity in callus cultures of *Nepeta binaloudensis* Jamzad (Lamiaceae) // Iranian Journal of Biotechnology. 2020. Vol. 18, no. 4. P. 47–55. DOI: 10.30498/IJB.2020.2621.
9. Тихомирова Л.И., Базарнова Н.Г., Бондарев А.А., Пономарёва Я.В., Миронова С.О. Выбор оптимальных условий накопления и извлечения фенольных соединений из биотехнологического сырья представителей *Iris* L. // Химия растительного сырья. 2020. N 2. С. 249–260. DOI: 10.14258/jcprm.2020026333. EDN: JMGELH.
10. Есичев А.О., Бессчетнова Н.Н., Бессчетнов В.П. Видоспецифичность пигментного состава хвои представителей рода лиственница // Хвойные бореальной зоны. 2021. Т. 39. N 4. С. 313–321. EDN: OOCCHU.
11. Бессчетнов В.П., Бессчетнова Н.Н., Бессчетнов П.В. Наследственная обусловленность видоспецифичности тополей по содержанию крахмала в тканях побегов // Лесной вестник. 2021. Т. 25. N 1. С. 22–31. DOI: 10.18698/2542-1468-2021-1-22-31. EDN: YPBZBN.
12. Новиков О.О., Романова М.С., Леонова Н.И., Хаксар Е.В., Чудинова Ю.В. Изучение влияния различного состава питательных сред на растения картофеля сортов Памяти Рогачева и Кетский *in vitro* // Инновации и продовольственная безопасность. 2018. N. 4. С. 39–45. DOI: 10.31677/2311-0651-2018-0-4-39-45. EDN: YQHEGT.
13. Abdelsalam N.R., Grad W.E., Ghura N.S.A., Khalid A.E., Ghareeb R.Y., Desoky E.-S.M., et al. Callus induction and regeneration in sugarcane under drought stress // Saudi Journal of Biological Sciences. 2021. Vol. 28, no. 12. P. 7432–7442. DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.08.047.
14. Mamdouh D., Smetanska I. Optimization of callus and cell suspension cultures of *Lycium schweinfurthii* for improved production of phenolics, flavonoids, and antioxidant activity // Horticulturae. 2022. Vol. 8, no. 5. P. 394. DOI: 10.3390/horticulturae8050394.
15. Ghosh A., Ugamberdiev A.U., Debnath S.C. Tissue culture-induced DNA methylation in crop plants: a review // Molecular Biology Reports. 2021. Vol. 48. P. 823–841. DOI: 10.1007/s11033-020-06062-6.
16. Kaeppler S.M., Phillips R.L. Tissue culture-induced DNA methylation variation in maize // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1993. Vol. 90, no. 19. P. 8773–8776. DOI: 10.1073/pnas.90.19.8773.
17. Mohammed A.H., Baldwin B.S. Investigation of media for wheat (*Triticum aestivum* L.) immature embryo culture // Journal of Crop Science and Biotechnology. 2024. Vol. 27. P. 331–337. DOI: 10.1007/s12892-023-00233-0.
18. Tamimi S.M., Othman H. Callus induction and regeneration from germinating mature embryos of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Sains Malaysiana. 2021. Vol. 50, no. 4. P. 889–896. DOI: 10.17576/jsm-2021-5004-01.
19. Miroshnichenko D.N., Filipov M.V., Dolgov S.V. Medium optimization for efficient somatic embryogenesis and *in vitro* plant regeneration of spring common wheat varieties // Russian Agricultural Sciences. 2013. Vol. 39. P. 24–28. DOI: 10.3103/S1068367413010175.
20. Blaydes D.F. Interaction of kinetin and various inhibitors in the growth of soybean tissue // Physiologia Plantarum. 1966. Vol. 19, no. 3. P. 748–753. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1966.tb07060.x.
21. Patial M., Chaudhary H.K., Sharma N., Sundaresha S., Kapoor R., Pal D., et al. Effect of different *in vitro* and *in vivo* variables on the efficiency of doubled haploid production in *Triticum aestivum* L. using *Imperata cylindrica*-mediated chromosome elimination technique // Cereal Research Communications. 2021. Vol. 49. P. 133–140. DOI: 10.1007/s42976-020-00069-2.
22. Uranbey S., Akdoğan G., Ahmed H.A.A., Çalişkan M. The effects of different basal medium, combinations



of auxin and cytokinin, solidification types and pre-cold treatments on embryonic callus and shoot development in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // Mustafa Kemal University Journal of Agricultural Sciences. 2020. Vol. 25, no. 2. P. 127–137. DOI: 10.37908/mkutbd.686209.

**23.** Фоменко Н.Г., Жолобова О.О. Индукция каллусогенеза и непрямого морфогенеза гибрида *Populus deltoides* Marshall × *Populus alba* L. в условиях *in vitro* // Научно-агрономический журнал. 2024. N 2. С. 76–81. DOI: 10.34736/FNC.2024.125.2.011.76-81. EDN: VWPZNU.

**24.** Klimek-Chodacka M., Kadluczka D., Lukasiewicz A., Malec-Pala A., Baranski R., Grzebelus E. Effective callus induction and plant regeneration in callus and protoplast cultures of *Nigella damascena* L. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2020. Vol. 143. P. 693–707. DOI: 10.1007/s11240-020-01953-9.

**25.** Адонина И.Г., Зорина М.В., Мехдиева С.П., Леонова И.Н., Комышев Е.Г., Тимонова Е.М. [и др.]. Характеристика синтетической линии пшеницы – потенциального источника хозяйственно ценных признаков // Письма в Вавилонский журнал генетики и селекции. 2023. Т. 9. N 3. С. 117–125. DOI: 10.18699/LettersVJ-2023-9-15. EDN: KIZMRF.

**26.** Гумерова Г.Р., Галимова А.А., Кулуев Б.Р. Каллусообразование и органогенез мягкой пшеницы с использованием зрелых зародышей в качестве эксплантов // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2023. Т. 184. N 2. С. 19–28. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-2-19-28. EDN: MDONSA.

**27.** Трушина Н.А., Печёрина А.А., Воденев В.А., Брилкина А.А. Анализ регенерационного потенциала нескольких сортов мягкой яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. в культуре *in vitro* // Биомика. 2023. Т. 15. N 4. С. 263–271. DOI: 10.31301/2221-6197.bmc.2023-23. EDN: QFOTRE.

**28.** Fatine M., Houda E.Y., Younes E.G., Atmane R. Efficient callogenesis and plant regeneration in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties // Acta fytotechnica et zootechnica. 2023. Vol. 26, no. 3. P. 273–284. DOI: 10.15414/afz.2023.26.03.273-284.

**29.** Türkoğlu A., Haliloğlu K., Demirel F., Aydin M., Çiçek S., Yiğider E., et al. Machine learning analysis of the

impact of silver nitrate and silver nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.): callus induction, plant regeneration, and DNA methylation // Plants. 2023. Vol. 12, no. 24. P. 4151. DOI: 10.3390/plants12244151.

**30.** Sarıgül K., Haliloğlu K., Türkoğlu A., Nadaroğlu H., Alaylı A. Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticle synthesis, characterization, and application to callus formation and plant regeneration from mature embryo culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2024. Vol. 158. P. 49. DOI: 10.1007/s11240-024-02842-1.

**31.** Муратова С.А., Хорошкова Ю.В. Индукция каллуса *in vitro* и регенерация адвентивных побегов из листовых эксплантов гейхеры гибридной // Тимирязевский биологический журнал. 2023. N 2. С. 28–36. DOI: 10.26897/2949-4710-2023-2-28-36. EDN: KMCNDK.

**32.** Zulueta-Rodríguez R., Hernandez-Montiel L.G., Murillo-Amador B., Rueda-Puente E.O., Capistrán L.L., Troyo-Diéguez E., et al. Effect of hydropriming and biopriming on seed germination and growth of two Mexican fir tree species in danger of extinction // Forests. 2015. Vol. 6, no. 9. P. 3109–3122. DOI: 10.3390/f6093109.

**33.** Bareke T. Biology of seed development and germination physiology // Advances in Plants & Agricultural Research. 2018. Vol. 8, no. 4. P. 336–346. DOI: 10.15406/apar.2018.08.00335.

**34.** Marthandan V., Geetha R., Kumutha K., Renganathan V.G., Karthikeyan A., Ramalingam J. Seed priming: a feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21, no. 21. P. 8258. DOI: 10.3390/ijms21218258.

**35.** Afzal I., Rauf S., Basra S.M.A., Murtaza G. Halopriming improves vigor, metabolism of reserves and ionic contents in wheat seedlings under salt stress // Plant, Soil and Environment. 2008. Vol. 54, no. 9. P. 382–388. DOI: 10.17221/408-PSE.

**36.** Jafar M.Z., Farooq M., Cheema M.A., Afzal I., Basra S.M.A., Wahid M.A., et al. Improving the performance of wheat by seed priming under saline conditions // Journal of Agronomy and Crop Sciences. 2012. Vol. 198, no. 1. P. 38–45. DOI: 10.1111/j.1439-037X.2011.00485.x.

## REFERENCES

**1.** Ikeuchi M., Sugimoto K., Iwase A., Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell*. 2013;25(9):3159–3173. DOI: 10.1105/tpc.113.116053.

**2.** Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures. *Engineering*. 2019;5(1):50–59. DOI: 10.1016/j.eng.2018.11.006.

**3.** Kruglova N.N., Seldimirova O.A., Zinatullina A.E. Callus *in vitro* as a model system for the study of plant organogenesis. *Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre*. 2019;2:44–55. (In Russian). DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-44-54. EDN: QYQONZ.

**4.** Zinatullina A.E. The model system “embryo – embryonic callus” in express evaluation of stress and anti-stress effects (on the example of cereals). *Ecobiotech*. 2020;3(1):38–50. (In Russian). DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-1-38-50. EDN: DBPBWZ.

**5.** Rebrov A. Improvement of the copy-book of nutrient medium for input of meristems of grapes in the culture of *in vitro*. *E3S Web of Conferences*. 2020;210:05015. DOI: 10.1051/e3sconf/202021005015.

**6.** Ivanova N.N., Tsiupka V.A., Korzina N.V. Effect of growth medium composition on the viability and genetic stability of *Chrysanthemum × morifolium* Ramat. explants under *in vitro* cold storage conditions. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(4):483–493. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-483-493. EDN: RSMMRT.

**7.** Semenova D.A., Molkanova O.I., Akhmetova L.R., Mitrofanova I.V. Influence of nutrient medium composition on regeneration of some *Clematis* L. cultivars *in vitro*. *Bulletin of KSAU*. 2023;4:66–73. (In Russian). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-4-66-73. EDN: NVJKFC.

**8.** Sagharyan M., Ganjeali A., Cheniany M., Mousavi Kouhi S.M. Optimization of callus induction with enhancing production of phenolic compounds production and antioxidants activity in callus cultures of *Nepeta binaloudensis* Jamzad (Lamiaceae). *Iranian Journal of Biotechnology*. 2020;18(4):47–55. DOI: 10.30498/IJB.2020.2621.

**9.** Tikhomirova L.I., Bazarnova N.G., Bondarev A.A., Ponomareva Ya.V., Mironova S.O. Selection of optimal

conditions for accumulation and extraction of phenolic compounds from biotechnological raw materials of *Iris* L. representatives. *Chemistry of plant raw material*. 2020;2:249-260. (In Russian). DOI: 10.14258/jcprm.2020026333. EDN: JMGELH.

10. Yesichev A.O., Besschetnova N.N., Besschetnov V.P. Species-specificity of the pigment composition of needles of representatives of the genus larch. *Conifers of the boreal area*. 2021;39(4):313-321. (In Russian). EDN: OOCCHU.

11. Besschetnov V.P., Besschetnova N.N., Besschetnov P.V. Genetic dependence of poplar species specificity on starch content in shoots tissues. *Forestry Bulletin*. 2021;25(1):22-31. (In Russian). DOI: 10.18698/2542-1468-2021-1-22-31. EDN: YPBZBN.

12. Novikov O.O., Romanov M.S., Leonova N.I., Haksar E.V., Chudinova Yu.V. The effect of various nutrient media on plants of potato varieties Memory Rogachev and Ket *in vitro*. *Innovations and Food Safety*. 2018;4:39-45. (In Russian). DOI: 10.31677/2311-0651-2018-0-4-39-45. EDN: YQHEGT.

13. Abdelsalam N.R., Grad W.E., Ghura N.S.A., Khalid A.E., Ghareeb R.Y., Desoky E.-S.M., et al. Callus induction and regeneration in sugarcane under drought stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021;28(12):7432-7442. DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.08.047.

14. Mamdouh D., Smetanska I. Optimization of callus and cell suspension cultures of *Lycium schweinfurthii* for improved production of phenolics, flavonoids, and antioxidant activity. *Horticulturae*. 2022;8(5):394. DOI: 10.3390/horticulturae8050394.

15. Ghosh A., Ugamberdiev A.U., Debnath S.C. Tissue culture-induced DNA methylation in crop plants: a review. *Molecular Biology Reports*. 2021;48:823-841. DOI: 10.1007/s11033-020-06062-6.

16. Kaeppler S.M., Phillips R.L. Tissue culture-induced DNA methylation variation in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(19):8773-8776. DOI: 10.1073/pnas.90.19.8773.

17. Mohammed A.H., Baldwin B.S. Investigation of media for wheat (*Triticum aestivum* L.) immature embryo culture. *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 2024;27:331-337. DOI: 10.1007/s12892-023-00233-0.

18. Tamimi S.M., Othman H. Callus induction and regeneration from germinating mature embryos of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sains Malaysiana*. 2021;50(4):889-896. DOI: 10.17576/jsm-2021-5004-01.

19. Miroshnichenko D.N., Filipov M.V., Dolgov S.V. Medium optimization for efficient somatic embryogenesis and *in vitro* plant regeneration of spring common wheat varieties. *Russian Agricultural Sciences*. 2013;39:24-28. DOI: 10.3103/S1068367413010175.

20. Blaydes D.F. Interaction of kinetin and various inhibitors in the growth of soybean tissue. *Physiologia Plantarum*. 1966;19(3):748-753. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1966.tb07060.x.

21. Patial M., Chaudhary H.K., Sharma N., Sundaresha S., Kapoor R., Pal D., et al. Effect of different *in vitro* and *in vivo* variables on the efficiency of doubled haploid production in *Triticum aestivum* L. using *Imperata cylindrica*-mediated chromosome elimination technique. *Cereal Research Communications*. 2021;49:133-140. DOI: 10.1007/s42976-020-00069-2.

22. Uranbey S., Akdoğan G., Ahmed H.A.A., Çalışkan M. The effects of different basal medium, combinations of auxin

and cytokinin, solidification types and pre-cold treatments on embryonic callus and shoot development in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Mustafa Kemal University Journal of Agricultural Sciences*. 2020;25(2):127-137. (In Turkish). DOI: 10.37908/mkutbd.686209.

23. Fomenko N.G., Zholobova O.O. Induction of callusogenesis and indirect morphogenesis in the *Populus deltoides* Marshall × *Populus alba* L. hybrid *in vitro*. *Scientific Agronomy Journal*. 2024;2:76-81. (In Russian). DOI: 10.34736/FNC.2024.125.2.011.76-81. EDN: VWPZNU.

24. Klimek-Chodacka M., Kadluczka D., Lukasiewicz A., Malec-Pala A., Baranski R., Grzebelus E. Effective callus induction and plant regeneration in callus and protoplast cultures of *Nigella damascena* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2020;143:693-707. DOI: 10.1007/s11240-020-01953-9.

25. Adonina I.G., Zorina M.V., Mehdiyeva S.P., Leonova I.N., Komyshev E.G., Timonova E.M., et al. Characteristics of the synthetic line of wheat – a potential source of agronomically valuable traits. *Letters to the Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;9(3):117-125. (In Russian). DOI: 10.18699/LettersVJ-2023-9-15. EDN: KIZMRF.

26. Gumerova G.R., Galimova A.A., Kuluev B.R. Bread wheat callusogenesis and organogenesis using mature embryos as explants. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2023;184(2):19-28. (In Russian). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-2-19-28. EDN: MDONSA.

27. Trushina N.A., Pecherina A.A., Vodenev V.A., Brilkina A.A. Analysis of the regeneration potential of several varieties of bread spring wheat *Triticum aestivum* L. *in vitro* culture. *Biomics*. 2023;15(4):263-271. (In Russian). DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-23. EDN: QFOTRE.

28. Fatine M., Houda E.Y., Younes E.G., Atmane R. Efficient callogenesis and plant regeneration in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Acta fytotechnica et zootechnica*. 2023;26(3):273-284. DOI: 10.15414/afz.2023.26.03.273-284.

29. Türkoğlu A., Haliloğlu K., Demirel F., Aydın M., Çiçek S., Yiğider E., et al. Machine learning analysis of the impact of silver nitrate and silver nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.): callus induction, plant regeneration, and DNA methylation. *Plants*. 2023;12(24):4151. DOI: 10.3390/plants12244151.

30. Sarıgül K., Haliloğlu K., Türkoğlu A., Nadaroğlu H., Alaylı A. Ce<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticle synthesis, characterization, and application to callus formation and plant regeneration from mature embryo culture of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2024;158:49. DOI: 10.1007/s11240-024-02842-1.

31. Muratova S.A., Khoroshkova Yu.V. *In vitro* callus induction and adventitious shoot regeneration from leaf explants of Heuchera hybrid. *Timiryazev Biological Journal*. 2023;2:28-36. (In Russian). DOI: 10.26897/2949-4710-2023-2-28-36. EDN: KMCNDK.

32. Zulueta-Rodríguez R., Hernandez-Montiel L.G., Murillo-Amador B., Rueda-Puente E.O., Capistrán L.L., Troyo-Diéguez E., et al. Effect of hydropriming and biopriming on seed germination and growth of two Mexican fir tree species in danger of extinction. *Forests*. 2015;6(9):3109-3122. DOI: 10.3390/f6093109.

33. Bareke T. Biology of seed development and germination physiology. *Advances in Plants & Agricultural Research*. 2018;8(4):336-346. DOI: 10.15406/apar.2018.08.00335.



**34.** Marthandan V., Geetha R., Kumutha K., Renganathan V.G., Karthikeyan A., Ramalingam J. Seed priming: a feasible strategy to enhance drought tolerance in crop plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(21):8258. DOI: 10.3390/ijms21218258.

**35.** Afzal I., Rauf S., Basra S.M.A., Murtaza G. Halopriming improves vigor, metabolism of reserves and ionic contents in wheat seedlings under salt stress.

*Plant, Soil and Environment*. 2008;54(9):382-388. DOI: 10.17221/408-PSE.

**36.** Jafar M.Z., Farooq M., Cheema M.A., Afzal I., Basra S.M.A., Wahid M.A., et al. Improving the performance of wheat by seed priming under saline conditions. *Journal of Agronomy and Crop Sciences*. 2012;198(1):38-45. DOI: 10.1111/j.1439-037X.2011.00485.x.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Федотов Павел Алексеевич,**

лаборант,  
Иркутский государственный университет,  
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1,  
Российская Федерация,  
✉ pavel.fedotov.17@mail.ru  
<https://orcid.org/0009-0009-9521-6616>

**Любушкина Ирина Викторовна,**

к.б.н., старший научный сотрудник,  
Сибирский институт физиологии  
и биохимии растений СО РАН,  
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,  
Российская Федерация,  
ostrov1873@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-6692-4482>

#### Вклад авторов

П.А. Федотов – визуализация, проведение исследования, написание черновика рукописи, формальный анализ.  
И.В. Любушкина – разработка методологии, разработка концепции, проведение исследования, редактирование рукописи, курирование данных.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

#### Информация о статье

Поступила в редакцию 08.11.2024.  
Одобрена после рецензирования 26.02.2025.  
Принята к публикации 28.02.2025.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Pavel A. Fedotov,**

Laboratory Assistant,  
Irkutsk State University,  
1, Karl Marx St., Irkutsk, 664033,  
Russian Federation,  
✉ pavel.fedotov.17@mail.ru  
<https://orcid.org/0009-0009-9521-6616>

**Irina V. Lyubushkina,**

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,  
Siberian Institute of Plant Physiology  
and Biochemistry SB RAS,  
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,  
Russian Federation,  
ostrov1873@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-6692-4482>

#### Contribution of the authors

Pavel A. Fedotov – visualization, investigation, writing – original draft, formal analysis.  
Irina V. Lyubushkina – methodology, conceptualization, investigation, writing – editing, data curation.

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

#### Information about the article

The article was submitted 08.11.2024.  
Approved after reviewing 26.02.2025.  
Accepted for publication 28.02.2025.