



# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



## ВЛИЯНИЕ ФЛУРИДОНА НА СОДЕРЖАНИЕ ГОРМОНОВ В КАЛЛУСАХ ЯЧМЕНЯ СОРТА СТЕПТОЕ И ЕГО АБК-ДЕФИЦИТНОГО МУТАНТА AZ34

Сельдимирова О.А.\* , Галин И.Р.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального  
исследовательского центра РАН, Уфа (Россия)

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

С использованием методов твердофазного иммуноферментного анализа и иммулокализации фитогормонов изучено влияние ингибитора синтеза эндогенной АБК флуридона на содержание и распределение эндогенных АБК и ИУК в каллусах дефицитного по АБК мутанта ячменя AZ34 и его родительского сорта Steptoe. Установлено, что к 4 неделе культивирования *in vitro* флуридон вызывает значительное снижение уровня АБК в каллусах обоих генотипов по сравнению с контролем, причем у AZ34 ингибирующее влияние флуридона выражено сильнее, чем у Steptoe. В каллусах обоих генотипов выявлено значительное повышение содержания ИУК на фоне снижения содержания АБК при обработке флуридоном по сравнению с контролем. Сделан вывод о важной роли АБК в процессе эмбриогенеза *in vitro*.

**Ключевые слова:** ячмень ♦ *Hordeum vulgare* L. ♦ культура *in vitro* ♦ каллус ♦ флуридон ♦ АБК ♦ ИУК

## INFLUENCE OF FLURIDONE ON THE CONTENT OF HORMONES IN CALL OF BARLEY CV. STEPTOE AND ITS ABA-DEFICIENT MUTANT AZ34

Seldimirova O.A.\* , Galin I.R.

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

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

The effect of the inhibitor of endogenous ABA synthesis fluridone on the content and distribution of endogenous ABA and IAA in the calli of ABA-deficient mutant AZ34 barley and its parental cultivar Steptoe was studied using the methods of immunoenzymatic solid-phase assay and immunolocalization of phytohormones. It was found that by the 4th week of *in vitro* culture, fluridone causes a significant decrease in the ABA level in calli of both genotypes compared to the control, and the inhibitory effect of fluridone in AZ34 is more pronounced than in Steptoe. In the calli of both genotypes, a significant increase in the IAA content was revealed against the background of a decrease in the ABA content upon treatment with fluridone as compared to the control. It was concluded that ABA plays an important role in the process of embryoidogenesis *in vitro*.

**Keywords:** barley ♦ *Hordeum vulgare* L. ♦ culture *in vitro* ♦ callus ♦ fluridone ♦ ABA ♦ IAA

Поступила в редакцию: 09.03.2021

DOI: [10.31163/2618-964X-2021-4-1-41-49](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2021-4-1-41-49)

### ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что фитогормональный фактор является ключевым при разработке различных биотехнологий, ведущих к формированию полноценных растений-регенерантов, в том числе в каллусных культурах *in vitro* [Plant Tissue ..., 2013; Somatic Embryogenesis ..., 2016; Круглова и др., 2018а, б; Tang et al., 2020]. Один из путей морфогенеза *in vitro* в каллусах – эмбриогенез, состоящий в формировании и развитии эмбриоидов (соматических зародышей) из клетки/групп клеток эмбриогенных каллусов в ответ на экзогенные и/или эндогенные сигналы [обзоры: Joshi, Kumar, 2013; Loyola-Vargas, Ochoa-Alejo, 2016; Круглова и др., 2018а, б; Kruglova et al., 2018].

При изучении эмбриогенеза *in vitro* большое внимание уделяется ауксинам и цитокининам, как основным регуляторам этого процесса [Joshi, Kumar, 2013; Plant Tissue ..., 2013; In Vitro Embryogenesis ..., 2016; Somatic Embryogenesis ..., 2016; Garcia et al., 2019; Tang

et al., 2020]. Что же касается АБК, то изучению ее участия в регуляции эмбриоидогенеза *in vitro* уделяется гораздо меньше внимания.

Основная масса работ направлена на изучение влияния экзогенной АБК на индукцию формирования и развития эмбриоидов *in vitro*. Следует отметить, что эти работы главным образом посвящены исследованиям прямого эмбриоидогенеза *in vitro*, при котором эмбриоиды формируются непосредственно из клеток экспланта, минуя стадию каллуса. Полученные данные, как правило, достаточно противоречивы [обзоры: Rai et al., 2011; Круглова и др., 2018а, б].

Данные же об участии в эмбриоидогенезе *in vitro* эндогенной АБК малочисленны, и особенно это касается злаков [Seldimirova et al., 2019; Reis et al., 2021]. Кроме того, данные о взаимодействии АБК и ИУК, а также о влиянии ингибиторов синтеза АБК на процессы эмбриоидогенеза *in vitro* также единичны [Ruduš et al., 2009; Su et al., 2013; Farias-Soares et al. 2014].

Ранее нами [Seldimirova et al., 2019] была выявлена связь уровня АБК с ауксинами – повышенное содержание ИУК у АБК-дефицитного мутанта ячменя AZ34, а также снижение концентрации ИУК у AZ34 и его родительского сорта Steptoe под влиянием экзогенной АБК. Было высказано предположение, что действие АБК на морфогенез *in vitro* обусловлено ее влиянием на уровень ауксинов.

В связи с этим цель работы состояла в изучении влияния ингибитора синтеза эндогенной АБК – флуридона на содержание и распределение эндогенных АБК и ИУК в процессе эмбриоидогенеза *in vitro* в каллусах АБК-дефицитного мутанта ячменя AZ34 и его родительского сорта Steptoe.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили ячмень сорта Steptoe и его АБК-дефицитный мутант AZ34. Для экспериментов использовали донорные растения, выращенные в полевых условиях научного стационара Уфимского Института биологии УФИЦ РАН (Уфимский район, сезон 2020 г.).

В качестве эксплантов для получения каллусов использовали незрелые зародыши на 13–15 сутки после массового цветения. Базовая среда (контроль) для получения каллусов содержала макро-, микросоли и витамины по прописи Мурасиге-Скуга (МС) [Murashige, Skoog, 1962], а также 100 мг/л мио-инозита, 30 г/л сахарозы, 100 мг/л гидролизата альбумина, 2 мг/л глицина, 10 г/л агара, 2.0 мг/л 2,4-Д, 0.5 мг/л 6-БАП и 12.5 мг/л CuSO<sub>4</sub> × 12H<sub>2</sub>O [Сельдимирова и др., 2017]. Для изучения влияния ингибитора синтеза эндогенной АБК в базовую среду добавляли флуридон в концентрации 100 мг/л [Сельдимирова и др., 2019]. Перед автоклавированием рН среды доводили до 5.7. Каллусы культивировали в течение 4 недель в темноте, при 26°C. Для индукции эмбриоидогенеза каллусы переносили на базовую среду без добавления регуляторов роста. Для анализа количественного содержания гормонов использовали каллусы через 1 и 4 недели культивирования *in vitro* на среде с регуляторами роста. Для иммулокализации гормонов использовали каллусы через 1 неделю культивирования *in vitro* на среде без регуляторов роста.

Содержание эндогенных АБК и ИУК определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа в модификации [Vysotskaya et al., 2008]. Иммулокализацию АБК и ИУК проводили, как описано [Seldimirova et al., 2016; Sharipova et al., 2016].

Препараты просматривали и документировали с использованием микроскопа проходящего света Axio Imager (Carl Zeiss, Jena, Германия), оснащенного цифровой камерой AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Jena, Германия).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением программы Microsoft Office Excel 2010. В таблице представлены средние арифметические значения и ошибки средних.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания эндогенных фитогормонов показал, что после 1 недели культивирования *in vitro* уровень АБК как у AZ34, так и у Steptoe был выше по сравнению с 4 неделями культивирования *in vitro* на обоих вариантах питательных сред (табл.). Эти данные согласуются с полученными нами ранее результатами по содержанию эндогенной АБК в культивируемых *in vitro* каллусах пшеницы, в которых отмечалось значительное повышение содержания АБК в начале культивирования [Сельдиминова и др., 2017]. Это, по-видимому, можно объяснить тем, что введение в культуру *in vitro* экспланта само по себе является, по мнению Р.Г. Бутенко [1999] стрессовым воздействием, которое, возможно, и ведет к повышению уровня эндогенной АБК.

**Таблица. Содержание эндогенных ИУК и АБК в каллусах ячменя через 1 и 4 недели культивирования *in vitro*, нг/г сырой массы**

Вариант среды	АБК		ИУК	
	1 неделя культивирования <i>in vitro</i>	4 недели культивирования <i>in vitro</i>	1 неделя культивирования <i>in vitro</i>	4 недели культивирования <i>in vitro</i>
МС (AZ34)	2.26±0.11	0.74±0.04	12.14±0.61	21.06±1.05
МС (Steptoe)	7.54±0.38	1.54±0.08	9.88±0.49	16.51±0.83
МС + флуридон (AZ34)	0.98±0.05	0.34±0.02	6.70±0.49	32.47±1.62
МС + флуридон (Steptoe)	4.38±0.22	1.22±0.06	4.01±0.20	19.54±0.98

Из приведенных в таблице данных видно, что введение флуридона в среду для культивирования вызвало почти двукратное по сравнению с контролем снижение уровня АБК в каллусах через 1 неделю культивирования *in vitro*, и почти трехкратное снижение к 4 неделе культивирования *in vitro* по сравнению с 1 неделей. На фоне пониженного содержания АБК, в каллусах AZ34 наблюдалось повышенное, по сравнению со Steptoe, содержание ИУК как на среде без флуридона, так и на среде с его добавлением (табл.). Особенно заметной эта разница была на 4 неделе культивирования *in vitro*.

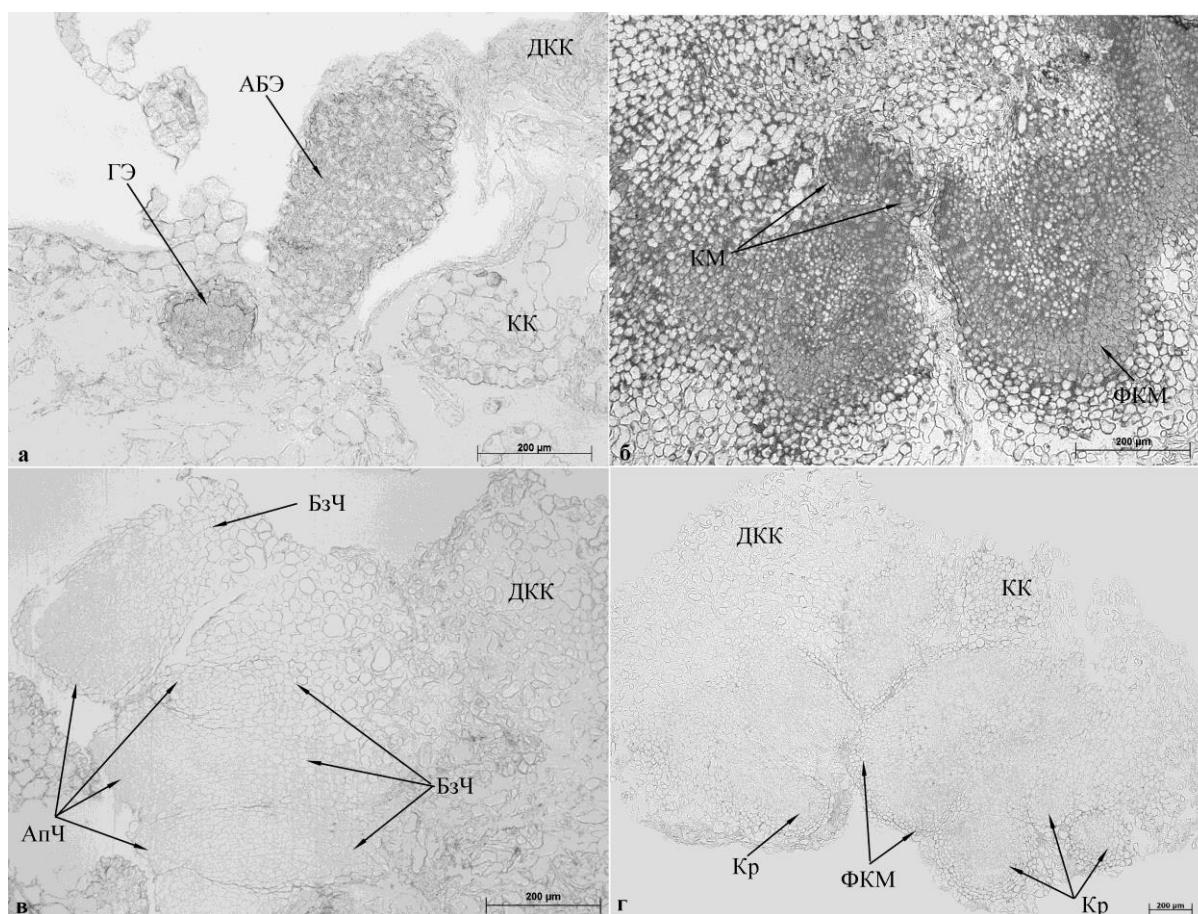
Как правило, пара АБК/ауксины рассматривается с точки зрения их антагонистического взаимодействия [Tanaka et al., 2006; Веселов и др., 2017; Du et al., 2012], которая подтверждается и полученными нами данными. Возможно, что повышение уровня ауксинов на фоне снижения содержания АБК в каллусе может быть следствием снижения способности АБК влиять на уровень ауксинов путем активации процесса их конъюгирования [Park et al., 2009]. Кроме того, возможно и обратное влияние ИУК на уровень АБК в каллусе вследствие

способности ауксинов влиять на метаболизм АБК [Hansen, Grossmann, 2000]. В целом, следует отметить, что влияние АБК на ауксины в условиях культуры *in vitro* может быть двойственным, поскольку показана способность этого гормона не только активировать конъюгирование ауксинов, но и стимулировать их синтез [Park et al., 2009]. Вероятно, характер действия АБК на метаболизм ауксинов может меняться на разных стадиях культивирования *in vitro*.

Ранее нами [Сельдимирова и др., 2019] было изучено влияние флуридона на процесс эмбриоидогенеза *in vitro* у ячменя сорта Steptoe и его АБК-дефицитного мутанта AZ34. Было установлено, что в каллусах ячменя сорта Steptoe наблюдается задержка развития эмбриоидов на стадии становления апикально-базальной оси, а в каллусах AZ34 инициируется только такой путь морфогенеза *in vitro*, как ризогенез.

В ходе данного исследования каллусы после четырех недель культивирования *in vitro* на питательной среде с флуридоном переносили на среду без регуляторов роста для индукции в них указанных выше путей морфогенеза. Через 1 неделю культивирования *in vitro* на среде без регуляторов роста каллусы анализировали методом иммулокализации фитогормонов.

Согласно данным иммулокализации каллусы ячменя и сорта Steptoe и его АБК-дефицитного мутанта AZ34 интенсивно окрашивались на ИУК (рис. а, б) и слабо окрашивались на АБК (рис. в, г).



**Рис. Иммулокализация ИУК (а, б) и АБК (в, г) в каллусах ячменя, обработанных флуридоном. а, в – эмбриоидогенез в каллусах Steptoe, б, г – ризогенез в каллусах AZ34. Условные обозначения: АБЭ – эмбриоид со сформированной апикально-базальной осью, АпЧ – апикальная часть эмбриоида, БзЧ – базальная часть эмбриоида, ГЭ – глобулярный эмбриоид, ДКК – дегенерирующие клетки каллуса, КК – клетки каллуса, КМ – корневая меристема, Кр – корень, поперечный срез, ФКМ – фасцированные корневые меристемы.**

Установлено, что эмбриониды в каллусах ячменя сорта *Steploe* равномерно окрашивались на ИУК, как на глобулярной стадии, так и на стадии становления апикально-базальной оси (рис. *a*).

Хорошо известно, что именно ауксины играют важную роль в процессах роста и развития, многие из которых зависят от полярного транспорта ауксина в органах и тканях как зиготических зародышей *in vivo* [Petrasek, Friml, 2009; Медведев, 2012; Prasad, Dhonukshe, 2013; Robert et al., 2013; Perez-Pastrana et al., 2021; Verma et al., 2021 и мн. др.], так и эмбрионидов *in vitro* [Fischer-Iglesias et al., 2001; Su et al., 2015; Titova et al., 2016; Галин, Сельдиминова, 2019]. Полярный транспорт ауксина регулирует практически все процессы морфогенеза растений, а градиенты концентрации ИУК действуют как мощный морфогенетический фактор и обеспечивают формирование осей симметрии у высших растений на организменном уровне. [Медведев, 2012]. Также высказано мнение, что высокие уровни экзогенных ауксинов, попавшие в эксплант за счет абсорбции, могут значительно изменять синтез и распределение эндогенных ауксинов в формирующихся эмбриоидах и нарушать формирование градиентов эндогенных ауксинов, необходимых для становления полярности и симметрии эмбрионидов [Michalczuk et al., 1992; Rodriguez, Wetzstein, 1998].

Из рисунка *a* видно, что эндогенная ИУК равномерно распределяется по всему эмбриониду со сформированной апикально-базальной осью, в то время как в норме в зародышах/эмбриоидах на этой стадии развития наблюдается полярное распределение ИУК [Fischer-Iglesias et al., 2001; Forestan et al., 2010; Сельдиминова и др., 2017; Perez-Pastrana et al., 2021]. Кроме того, известно, что для нормальной индукции и развития эмбрионидов необходимо снижение уровня эндогенных ауксинов [Michalczuk et al., 1992; Tang et al., 2020], а также наличие адекватной концентрации эндогенной АБК [обзоры: Rai et al., 2011; Круглова и др., 2018a]. Возможно, что избыточное количество равномерно распределенной эндогенной ИУК и недостаточное количество эндогенной АБК обуславливают в нашем случае задержку развития эмбрионидов в каллусах *Steploe*, обработанных флуридоном.

В каллусах AZ34, обработанных флуридоном индукция эмбрионидогенеза *in vitro* полностью блокировалась и реализовывался такой путь морфогенеза *in vitro*, как ризогенез (рис. *б, з*). Способность ауксинов индуцировать ризогенез в каллусных культурах *in vitro* хорошо изучена, начиная с работы Скуга и Миллера [Skoog, Miller, 1957; см. также: Gorbatyuk et al., 2015; Ikeuchi et al., 2015; Shin, Seo, 2015; Yu et al., 2017 и мн. др.]. Вполне закономерно, что повышенное содержание ИУК в каллусах AZ34 на фоне пониженного содержания АБК ведет к реализации такого пути, как ризогенез *in vitro*.

Таким образом, как генетически детерминированный низкий уровень АБК у AZ34, так и снижение содержания АБК под влиянием флуридона у обоих генотипов, а также вызванное этим повышение уровня ИУК приводило к блокировке или задержке развития эмбрионидов *in vitro* в каллусах ячменя.

Полученные нами данные согласуются с результатами [Grzyb et al., 2018], показавшими полное блокирование развития эмбрионидов в каллусах древовидного папоротника *Cyathea delgadii* Sternb. в присутствии флуридона за счет отсутствия специфических паттернов делений клеток, необходимых для образования эмбрионидов. Нами [Seldimirova et al., 2019] на примере пшеницы и ячменя было показано, что эмбрионидогенной способностью обладают каллусы, характеризующиеся более низким соотношением содержания ИУК/АБК. Похожие результаты были получены в работах [Senger et al., 2001; Kikuchi et al., 2006; Su et al., 2013; Grzyb et al., 2018], которые в опытах с применением флуридона показали, что АБК

необходима не только для стимулирования созревания и нормального развития эмбриоидов, но также и для приобретения каллусами эмбриоидогенной компетентности.

В то же время сообщается, что у некоторых хвойных снижение уровня АБК приводило к стимуляции перехода проэмбриогенных масс к ранним эмбриоидам [Farias-Soares et al., 2014]. Хорошо известно, что у покрытосеменных растений индукция эмбриоидогенеза в каллусах происходит при снижении концентрации в питательной среде экзогенных ауксинов, стимулирующих, в свою очередь, синтез эндогенных ауксинов [Бутенко, 1999; Tang et al., 2020]. В данном случае (работа [Farias-Soares et al., 2014]) возможно можно провести аналогию между эмбриоидогенным каллусом у покрытосеменных растений и проэмбриогенными массами у хвойных.

По-видимому, полученные данные о положительной роли АБК совместно с другими гормонами в индукции и процессах соматического эмбриоидогенеза *in vitro* нужно расценивать как проявление хорошо установленного взаимодействия в многокомпонентной гормональной системе растений *in vivo* [обзор: Круглова и др., 2018а]. Следует отметить, что вопрос совместного действия АБК и других веществ активно изучается, однако на уровне констатации эмпирических данных.

В то же время, способность фитогормонов влиять на концентрацию друг друга – одна из важных особенностей гормональной системы растений. Хотя эта закономерность не вызывает сомнений, имеющиеся данные о взаимодействии гормонов в процессе эмбриоидогенеза *in vitro* злаков весьма противоречивы и малочисленны, и для решения этого вопроса требуются дальнейшие исследования.

*В работе использована приборная база Центра коллективного пользования “Агидель” УФИЦ РАН.*

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 152 с.
2. Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р., Кудрякова Н.В., Кузнецов В.В. Роль цитокининов в стресс-устойчивости растений // Физиология растений. 2017. Т. 64. № 1. С. 19–32. DOI: [10.7868/S001533031701016X](https://doi.org/10.7868/S001533031701016X)
3. Галин И.Р., Сельдиминова О.А. Распределение эндогенной ИУК в полиэмбриоидах *in vitro* у пшеницы на разных этапах развития: данные иммуногистохимического анализа // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 1. С. 63–74. DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-1-63-74](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-63-74)
4. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для исследования стресс-устойчивости растений к абиотическим факторам (на примере злаков) // Успехи современной биологии. 2018а. Т. 138. № 3. С. 283–293. DOI: [10.7868/S0042132418030067](https://doi.org/10.7868/S0042132418030067)
5. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е., Веселов Д.С. Абсцизовая кислота в системах культуры *in vitro* эксплантов // Известия Уфимского НЦ РАН. 2018б. № 2. С. 55–60. DOI: [10.31040/2222-8349-2018-0-2-55-60](https://doi.org/10.31040/2222-8349-2018-0-2-55-60)
6. Медведев С.С. Механизмы формирования и физиологическая роль полярности в растениях // Физиология растений. 2012. Т. 59. № 4. С. 543–555.
7. Сельдиминова О.А., Безрукова М.В., Галин И.Р., Лубянова А.Р., Шакирова Ф.М., Круглова Н.Н. Влияние 24-эпибрассинолида на формирование, ростовые показатели и

- регенерационную способность каллусов *in vitro* контрастных по засухоустойчивости сортов пшеницы // Физиология растений. 2017. Т. 64. № 6. С. 461–472. DOI: [10.7868/S0015330317060082](https://doi.org/10.7868/S0015330317060082)
8. Сельдимирова О.А., Галин И.Р., Круглова Н.Н., Веселов Д.С. Распределение ИУК и АБК в развивающихся зародышах пшеницы *in vivo* // Известия Уфимского НЦ РАН. 2017. № 3(1). С. 114–118.
  9. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Веселов Д.С., Яновская А.А. Оптимизация состава питательной среды для индукции каллусообразования у ячменя сорта Steptoe и его АБК-дефицитного мутанта AZ3 // Биомика. 2017. Т. 9. № 4. С. 298–303.
  10. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Галин И.Р., Веселов Д.С. Сравнительная оценка уровня ИУК, АБК и цитокининов в эмбриогенезе *in vivo* ячменя сорта Steptoe и его АБК-дефицитного мутанта AZ34 // Экобиотех. 2018. Т. 1. № 3. С. 134–142. DOI: [10.31163/2618-964X-2018-1-3-134-142](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2018-1-3-134-142)
  11. Сельдимирова О.А., Кудоярова Г.Р., Галин И.Р., Веселов Д.С., Круглова Н.Н. Влияние ингибиторов синтеза АБК и транспорта ауксинов на морфогенез в культуре *in vitro* и активность пероксидаз у дефицитного по АБК мутанта ячменя и его исходного генотипа // Биомика. 2019. Т.11. № 4. С. 386–393. DOI: [10.31301/2221-6197.bmcs.2019-30](https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2019-30)
  12. Du H. A GH3 family member, OsGH3-2, modulates auxin and abscisic acid levels and differentially affects drought and cold tolerance in rice / H. Du, N. Wu, J. Fu, S. Wang, X. Li, J. Xiao, L. Xiong // J. of Exp. Bot. 2012. V. 63. № 18. P. 6467–6480. DOI: [10.1093/jxb/ers300](https://doi.org/10.1093/jxb/ers300)
  13. Farias-Soares F.L., Steiner N., Schmidt E.C., Pereira M.L.T., Rogge-Renner G.D., Bouzon Z.L., Floh E.S.I., Guerra M.P. The transition of proembryogenic masses to somatic embryos in *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze is related to the endogenous contents of IAA, ABA and polyamines // Acta Physiol. Plant. 2014. V. 36. № 7. P.1853–1865. DOI: [10.1007/s11738-014-1560-6](https://doi.org/10.1007/s11738-014-1560-6)
  14. Fischer-Iglesias C., Sundberg B., Neuhaus G., Jones A.M. Auxin distribution and transport during embryonic pattern formation in wheat // Plant J. 2001. V. 26. № 2. P. 115–129. DOI: [10.1046/j.1365-313x.2001.01013.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2001.01013.x)
  15. Forestan C., Meda S., Varotto S. ZmPIN1-mediated auxin transport is related to cellular differentiation during maize embryogenesis and endosperm development // Plant Physiol. 2010. V. 152. № 3. P. 1373–1390. DOI: [10.1104/pp.109.150193](https://doi.org/10.1104/pp.109.150193)
  16. Garcia C., Furtado de Almeida A.A., Costa M., Britto D., Valle R., Royaert S., Marelli J.-P. Abnormalities in somatic embryogenesis caused by 2,4-D: an overview // Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 2019. V. 137. № 2. P. 193–212. DOI: [10.1007/s11240-019-01569-8](https://doi.org/10.1007/s11240-019-01569-8)
  17. Gorbatyuk I.R., Bovol A.V., Holubenko A.V., Morgun B.V. Effect of synthetic auxin like growth regulators on callus regenerative ability of common wheat vc. Zymoyarka // Biotech. Acta. 2015. V. 8. № 1. P. 56–62. DOI: [10.15407/biotech8.01.056](https://doi.org/10.15407/biotech8.01.056)
  18. Grzyb M., Kalandyk F., Mikula A. Effect of TIBA, fluridone and salicylic acid on somatic embryogenesis and endogenous hormone and sugar contents in the tree fern *Cyathea delgadii* Sternb. // Acta Physiol. Plant. 2018. V. 40. № 1:1. DOI: [10.1007/s11738-017-2577-4](https://doi.org/10.1007/s11738-017-2577-4)
  19. Hansen H., Grossmann K. Auxin-Induced Ethylene Triggers Abscisic Acid Biosynthesis and Growth Inhibition // Plant Physiol. 2000. V. 124. № 11. P. 1437–1448. DOI: [10.1104/pp.124.3.1437](https://doi.org/10.1104/pp.124.3.1437)
  20. Joshi R., Kumar P. Regulation of somatic embryogenesis in crops: a review // Agri. Reviews. 2013. V. 34. № 1. P. 1-20.

21. Ikeuchi M., Iwase A., Sugimoto K. Control of plant cell differentiation by histone modification and DNA methylation // *Current opinion in plant biology*. 2015. V. 28. № 9. P. 60–67. DOI: [10.1105/tpc.113.116053](https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053)
22. *In Vitro* Embryogenesis in Higher Plants / Eds Germana M.A., Lambardi M. New York: Humana Press, 2016. 558 p. DOI: [10.1007/978-1-4939-3061-6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3061-6)
23. Kikuchi A., Sanuki N., Higashi K., Koshiha T., Kamada H. Abscisic acid and stress treatment are essential for the acquisition of embryogenic competence by carrot somatic cells // *Planta*. 2006. V. 223. № 4. P. 637–645. DOI: [10.1007/s00425-005-0114-y](https://doi.org/10.1007/s00425-005-0114-y)
24. 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. № 5. P. 245–249. DOI: [10.1134/S106236041805003X](https://doi.org/10.1134/S106236041805003X)
25. Loyola-Vargas V.M., Ochoa-Alejo N. Somatic Embryogenesis. An Overview // *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications* / Eds Loyola-Vargas V., Ochoa-Alejo N. Springer, Cham, 2016. P. 1–8. DOI: [10.1007/978-3-319-33705-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0_1)
26. Michalczuk L., Ribnicky D.M., Cooke T.J., Cohen J.D. Regulation of indole-3- acetic acid biosynthetic pathways in carrot cell cultures // *Plant Physiol.* 1992. V. 100. № 3. P. 1346–1353. DOI: [10.1104/pp.100.3.1346](https://doi.org/10.1104/pp.100.3.1346)
27. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures // *Physiol Plant.* 1962. V. 15. № 3. P. 473–497. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x)
28. Park S.Y., Fung P., Nishimura N., Jensen D.R., Fujii H., Zhao Y., Lumba S., Santiago J., Rodrigues A., Chow T.F., Alfred S.E., Bonetta D., Finkelstein R., Provart N.J., Desveaux D., Rodriguez P.L., McCourt P., Zhu J.K., Schroeder J.I., Volkman B.F., Cutler S.R. Abscisic acid inhibits type 2C protein phosphatases via the PYR/PYL family of START proteins // *Science*. 2009. V. 324. № 5930. P. 1068–1071. DOI: [10.1126/science.1173041](https://doi.org/10.1126/science.1173041)
29. Perez-Pastrana j., Testillano P.S., Barany I., Canto-Flick A., Alvarez-Lopez D., Pijeira-Fernandez G., Aviles-Vinas S.A., Pena-Yam L., Munoz-Ramírez L., Nahuat-Dzib S., Islas-Flores I., Santana-Buzzy N. Endogenous auxin accumulation/localization during zygotic and somatic embryogenesis of *Capsicum chinense* Jacq // *J. Plant Physiol.* 2021. V. 258-259. № 1: 153333. DOI: [10.1016/j.jplph.2020.153333](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153333)
30. Petrasek J., Friml J. Auxin transport routes in plant development // *Development*. 2009. V. 136. № 16. P. 2675–2688. DOI: [10.1242/dev.030353](https://doi.org/10.1242/dev.030353)
31. *Plant Tissue Culture: An Introductory Text* / Eds Bhojwani S.S., Dantu P.K. Springer India, 2013. P. 31–33. DOI: [10.1007/978-81-322-1026-9](https://doi.org/10.1007/978-81-322-1026-9)
32. Rai M.K., Shekhawat N.S., Harish, Gupta A.K., Phulwaria M., Ram K., Jaiswal U. The role of abscisic acid in plant tissue culture: a review of recent progress // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2011. V. 106. № 2. P. 179–190. DOI: [10.1007/s11240-011-9923-9](https://doi.org/10.1007/s11240-011-9923-9)
33. Reis R.S., Vale E.M., Sousa K.R., Santa-Catarina C., Silveira V. Pretreatment free of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid improves the differentiation of sugarcane somatic embryos by affecting the hormonal balance and the accumulation of reserves // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2021. V. 145. № 1. P. 101–115.
34. Robert H.S., Grones P., Stepanova A.N., Alonso J.M., Weijers D., Friml J. Local Auxin Sources Orient the Apical-Basal Axis in *Arabidopsis* Embryos // *Curr. Biol.* 2013. V. 23. № 24. 2506-2512. DOI: [10.1016/j.cub.2013.09.039](https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.039)
35. Rodriguez A.P.M., Wetzstein H.Y. A morphological and histological comparison of the initiation and development of pecan (*Carya illinoensis*) somatic embryogenic cultures induced with naphthaleneacetic acid or 2,4-dichlorophenoxyacetic acid // *Protoplasma*. 1998. V. 204. № 1. P. 71–83. DOI: [10.1007/BF01282295](https://doi.org/10.1007/BF01282295)



36. Ruduś I., Weiler E., Kępczynska E. Do stress-related phytohormones, abscisic acid and jasmonic acid play a role in the regulation of *Medicago sativa* L. somatic embryogenesis? // *Plant Growth Regul.* 2009. V. 59. № 2. P. 159–169. DOI: [10.1007/s10725-009-9399-3](https://doi.org/10.1007/s10725-009-9399-3)
37. Seldimirova O.A., Kudoyarova G.R., Kruglova N.N., Galin I.R., Veselov D.S. Somatic Embryogenesis in Wheat and Barley Calli *in vitro* Is Determined by the Level of Indoleacetic and Abscisic Acids // *Russian Journal of Developmental Biology.* 2019. V. 50. № 3. P. 124–135. DOI: [10.1134/S1062360419030056](https://doi.org/10.1134/S1062360419030056)
38. 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. № 3. P. 251–264. DOI: [10.1007/s11627-016-9767-4](https://doi.org/10.1007/s11627-016-9767-4)
39. Senger S., Mock H.-P., Conrad U., Manteuffel R. Immunomodulation of ABA function affects early events in somatic embryo development // *Plant Cell Rep.* 2001. V. 20. № 2. P. 112–120. DOI: [10.1007/s002990000290](https://doi.org/10.1007/s002990000290)
40. Sharipova G., Veselov D., Kudoyarova G., Fricke W., Dodd I., Katsuhara M., Furuichi T., Ivanov I., Veselov S. Exogenous application of abscisic acid (ABA) increases root and cell hydraulic conductivity and abundance of some aquaporin isoforms in the ABA deficient barley mutant AZ34 // *Ann. Bot.* 2016. V. 118. № 4. P. 777–785. DOI: [10.1093/aob/mcw117](https://doi.org/10.1093/aob/mcw117)
41. Shin J., Seo P.J. Varying Auxin Levels Induce Distinct Pluripotent States in Callus Cells // *Front. Plant Sci.* 2018. V.9: 1653. DOI: [10.3389/fpls.2018.01653](https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01653)
42. Skoog F., Miller C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol. 1957. V. 11. P. 118–131.
43. Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications / Eds Loyola-Vargas V., Ochoa-Alejo N. Springer, Cham, 2016. 506 p. DOI: [10.1007/978-3-319-33705-0](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0)
44. Su Y.H., Su Y.X., Liu Y.G., Zhang X.S. Abscisic acid is required for somatic embryo initiation through mediating spatial auxin response in *Arabidopsis* // *Plant Growth Regul.* 2013. V. 69. № 2. P. 167–176. DOI: [10.1007/s10725-012-9759-2](https://doi.org/10.1007/s10725-012-9759-2)
45. Su Y.H., Liu Y.B., Bai B., Zhang X.S. Establishment of embryonic shoot–root axis is involved in auxin and cytokinin response during *Arabidopsis* somatic embryogenesis // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 5: 792. DOI: [10.3389/fpls.2014.00792](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00792)
46. Tang L.P., Zhang X.S., Su U.H. Regulation of cell reprogramming by auxin during somatic embryogenesis // *aBIOTECH.* 2020. V. 1. № 3. P. 185–193. DOI: [10.1007/s42994-020-00029-8](https://doi.org/10.1007/s42994-020-00029-8)
47. Tang L.P., Zhang X.S., Su U.H. Regulation of cell reprogramming by auxin during somatic embryogenesis // *aBIOTECH.* 2020. V. 1. № 3. P. 185–193. DOI: [10.1007/s42994-020-00029-8](https://doi.org/10.1007/s42994-020-00029-8)
48. Titova G.E., Seldimirova O.A., Kruglova N.N., Galin I.R., Batygina T.B. Phenomenon of «Siamese Embryos» in Cereals *in vivo* and *in vitro*: Cleavage Polyembryony and Fasciations // *Russian Journal of Developmental Biology.* 2016. V. 47, № 3. P. 122–137. DOI: [10.1134/S10623604160300x61](https://doi.org/10.1134/S10623604160300x61)
49. Verma S., Attuluri V.P.S., Robert H.S. An Essential Function for Auxin in Embryo Development // *Cold Spring Harbor.* 2021. V. 13. DOI: [10.1101/cshperspect.a039966](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039966)
50. Vysotskaya L.B., Korobova A.V., Kudoyarova G.R. Abscisic acid accumulation in the roots of nutrient-limited plants: its impact on the differential growth of roots and shoots // *J. Plant Physiol.* 2008. V. 165. № 12. P. 1274–1279. DOI: [10.1016/j.jplph.2007.08.014](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.08.014)
51. Yu J., Liu W., Liu J., Qin P., Xu L. Auxin Control of Root Organogenesis from Callus in Tissue Culture // *Front. Plant Sci.* 2017. V.8: 1385. DOI: [10.3389/fpls.2017.01385](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01385)