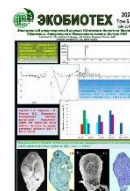




ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>


Обзор

К ВОПРОСУ О СТАНОВЛЕНИИ СИММЕТРИИ И ПОЛЯРНОСТИ В ЭМБРИОДОГЕНЕЗЕ *IN VITRO* И ЭМБРИОГЕНЕЗЕ *IN VIVO*

Сельдимирова О.А.*, Абрамов С.Н.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального
исследовательского центра РАН, Уфа, Россия*E-mail: o_seldimirova@mail.ru

В статье приведен краткий обзор литературных и собственных работ, посвященных особенностям становления полярности и симметрии при формировании специфичной трехмерной структуры зародышей *in vivo* и эмбриоидов *in vitro*. Особое внимание уделяется андроклиному эмбриодогенезу *in vitro*, как перспективной модельной системе для изучения различных аспектов морфогенеза растений. Рассматриваются клеточные и цитофизиологические факторы, влияющие на становление полярности и симметрии в процессе развития зародыша/эмбриоида. Обсуждается ключевая роль транспорта и распределения ИУК в формировании зародыша/эмбриоида.

Ключевые слова: полярность ♦ симметрия ♦ эмбриогенез *in vivo* ♦ эмбриодогенез *in vitro* ♦ паттерны клеточных делений ♦ полярный транспорт ауксина

Поступила в редакцию: 15.12.2023

[Цитировать | Cite as](#)DOI: [10.31163/2618-964X-2023-6-4-241-261](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-4-241-261)EDN: [XGNDEJ](https://www.edn.ru/XGNDEJ)

ON THE QUESTION OF THE SYMMETRY AND POLARITY ESTABLISHMENT IN EMBRYODOGENESIS *IN VITRO* AND EMBRYOGENESIS *IN VIVO*

Seldimirova O.A.*, Abramov S.N.

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of
the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*E-mail: o_seldimirova@mail.ru

The article provides a brief overview of the literature and our own works devoted to the peculiarities of polarity and symmetry establishment during the formation of a specific three-dimensional structure of embryos *in vivo* and embryoids *in vitro*. Particular attention is paid to androclinic embryoidogenesis *in vitro*, as a promising model system for studying various aspects of plant morphogenesis. Cellular and cytophysiological factors influencing the polarity and symmetry establishment during the development of the embryo/embryoid are considered. The key role of IAA transport and distribution in embryo/embryoid formation is discussed.

Keywords: polarity ♦ symmetry ♦ embryogenesis *in vivo* ♦ embryoidogenesis *in vitro* ♦ cell division patterns ♦ polar auxin transport

Принято в печать: 25.12.2023



ВВЕДЕНИЕ

Эмбриодогенез – свойственное только растениям асексуальное формирование в ответ на экзогенные и/или эндогенные сигналы в естественных условиях *in vivo* и в экспериментальных условиях культуры *in vitro* эмбриоидов (синоним: соматические зародыши) из соматической клетки/группы клеток [Батыгина, 2014; *In vitro* embryogenesis, 2016; Somatic embryogenesis..., 2016].

Индукция эмбриодогенеза *in vitro* один из важнейших подходов, применяемых в биотехнологии растений. Эмбриодогенез *in vitro* представляет собой основу коммерческого производства растений с хозяйственно-ценными признаками [*In vitro* embryogenesis..., 2016; Somatic embryogenesis..., 2016; Synthetic Seeds, 2019], а также является моделью для исследования клеточной дифференциации, генной экспрессии, взаимодействия фитогормонов и многих других процессов [Elhiti et al., 2013; Joshi, Kumar, 2013; Somatic embryogenesis..., 2016; Horstman et al., 2017; Duarte-Ake et al., 2019; Garcia et al., 2019; Méndez-Hernández et al., 2019; Tang et al., 2020 и мн. др.].

Формирование хорошо развитых дифференцированных эмбриоидов – ключевой фактор при разработке растительных биотехнологий, в том числе на основе андроклинии

[От микроспоры..., 2010]. Поэтому к важнейшим этапам формирования эмбрионов относятся становление апикально-базальной полярности, становление радиальной симметрии и формирование основных слоев тканей, переход к билатеральной симметрии и органогенезу [Soriano et al., 2013].

В любом многоклеточном организме деятельность отдельных органов, тканей и клеток должна быть скоординирована таким образом, чтобы обеспечить функционирование организма, как целого. Одним из наиболее существенных элементов целостности растительного организма является симметрия и полярность.

Термин «симметрия» происходит от двух греческих слов: $\sigma\upsilon\nu$ (что означает «с») и $\mu\acute{\epsilon}\tau\rho\nu$ (что означает «мера») и первоначально использовался для определения составляющих частей чего-либо [цит. по: Damerval et al., 2021].

Под полярностью у растений понимают специфическую ориентацию активности и морфогенеза растения в пространстве. Рост и развитие высших растений можно охарактеризовать процессами клеточных делений, роста и дифференциации вдоль двух осей – апикально-базальной оси и радиальной оси [Медведев, 2012; Souter, Lindsey, 2000; Damerval et al., 2021; Romalho et al., 2022].

Осевая (или аксиальная) полярность, предполагает наличие хорошо развитой продольной оси, несущей латеральные органы – боковые ветви и корни, листья и цветы. Благодаря аксиальной организации в процессе роста не происходит образования бесформенной массы живого вещества. Вдоль осей и симметрично по отношению к ним происходит закладка всех органов и тканей растения. Помимо аксиальной выделяют также и другие формы полярности – дорсовентральную (одна плоскость симметрии делит организм или структуру на две зеркальные половины) и радиальную (повторение расположения одной и той же структуры вокруг единственной оси симметрии (n-кратная вращательная симметрия)). Однако чаще всего термин «полярность» используется для обозначения осевой полярности. Благодаря полярной организации создается специфическая трехмерная структура организма, обеспечивается его целостность и координация функций. Оси полярности появляются на стадии зиготы, прослеживаются у зародыша и «векторизуют» процессы роста и развития на протяжении дальнейшего онтогенеза растения [Hudson, 2000; Медведев, 1996, 2012; Damerval et al., 2021].

В живых организмах симметрию теоретически можно исследовать на каждом уровне организации – от клеток до тканей, органов или целых организмов. Однако в биологии симметрия – довольно приблизительное определение. Например, билатерально-симметричные тела или органы могут не иметь абсолютно одинаковых зеркальных половинок, а степень различия между ними часто считают показателем стабильности развития организма [Hudson, 2000; Damerval et al., 2021].

В то же время, при морфогенезе процессам поляризации клеток и тканей принадлежит определяющее значение, поскольку возникающие при этом градиенты морфогенетических факторов являются основой для дифференциальной активности генома на разных этапах [Медведев, 2012].

Рассмотрим подробнее основные факторы, влияющие на становление полярности и симметрии при эмбриогенезе *in vitro* в сравнении с аналогичными процессами при эмбриогенезе *in vivo*.

ПАТТЕРНЫ КЛЕТОЧНЫХ ДЕЛЕНИЙ И ПОЗИЦИОННЫЙ КОНТРОЛЬ

Становление апикально-базальной оси – критическое событие в эмбриогенезе растений. Хорошо известно, что *in vivo* апикально-базальная ось зародыша устанавливается рано, еще до оплодотворения и обуславливается полярной организацией яйцеклетки и ее положением в зародышевом мешке. После оплодотворения формируется зигота, также имеющая полярную организацию [Russell, 1993; West, Harada, 1993; Souter, Lindsey, 2000; Ueda et al., 2011; Zhang, Laux, 2011; Wendrich, Weijers, 2013; Hand et al., 2016; Wang et al., 2020].

Зигота – «точка отсчета» эмбриогенеза *in vivo*, инициальная клетка зародыша, образующаяся в результате оплодотворения – слияния женской гаметы (яйцеклетки) с мужской (спермием) [Raghavan, 2006; Khanday, Sandaresan, 2021 и мн. др.]. Образование зиготы представляет собой начальную фазу онтогенеза. В процессе реализации запрограммированной последовательности сложных морфогенетических преобразований зигота развивается сначала в двуклеточный, затем – многоклеточный зародыш, а впоследствии в высокоспециализированный индивид – растение [Батыгина, Васильева, 2003].

Остается предметом дискуссий целый ряд вопросов, связанных с установлением апикально-базальной оси в зиготе: периодизация развития зиготы; стадия, на которой формируется ось зародыша (зрелая яйцеклетка, зигота, ранний эмбриогенез); связь полярной организации зиготы с экспрессией генов в раннем эмбриогенезе; факторы (гаметофитные, гаметные, спорофитные), вызывающие изменение детерминации яйцеклетки; универсальность закономерностей установления апикально-базальной оси у всех цветковых растений, различающихся по строению зиготы; механизмы, лежащие в основе образования зиготы у растений и животных. Для решения этих вопросов разрабатывается системный комплексный подход с учетом иерархического уровня организации (клетка – ткань – орган – организм – популяция) и онто-филогенетического аспекта [Батыгина, Васильева, 2003].

Особый интерес вызывает процесс становления полярности зиготы – специфическая ориентация процессов и структур в пространстве, приводящая к возникновению морфофизиологических различий на противоположных концах ее. На основе этого возникает морфологическая ось с двумя различными полюсами: апикальным, обращенным к центральной клетке зародышевого мешка, и базальным. Полярность зиготы определяет впоследствии плоскость ее деления (перпендикулярная, наклонная, продольная перегородки), различный характер цитокинеза (асимметричный и симметричный) и как следствие – образование двух неравных или равных дочерних клеток, и, в конечном счете, полярность зародыша [Медведев, 1996; Zhang, Laux, 2011; Winkelmann, 2016; Li et al., 2021].

Различают морфологическую и физиологическую полярность зиготы. Морфологическая полярность этой клетки обнаруживается во внешнем (форма зиготы) и внутреннем строении как результате перестроек в клеточной оболочке, плазмалемме, цитоплазме и ядре. У некоторых злаков, например, кукурузы, для зиготы характерно наличие крупной вакуоли, расположенной в базальной части клетки и смещающей ядро с большей частью клеточных органелл в апикальную зону; при этом процесс формирования вакуоли сопровождается значительным увеличением размеров зиготы по сравнению с яйцеклеткой [Чеботарь, 1972]. У ряда других злаков, таких как ячмень и пшеница, крупная вакуоль в зиготе отсутствует, но присутствует множество вакуолей разных размеров; клеточные органеллы более или менее равномерно распределены в цитоплазме клетки; ядро занимает либо центральное положение, либо несколько смещено к базальной части клетки. При этом

интенсивного роста зиготы в большинстве случаев не происходит, и по достижении зрелости по размерам она остается близкой к яйцеклетке [Norstog, 1972; Батыгина, 1974].

Физиологическая полярность зиготы проявляется в градиентном распределении ионных и электрических потоков, полисахаридов, белков, фитогормонов и других веществ, в различной интенсивности обмена веществ и различном тропизме ее частей. Апоикальный полюс зиготы, а в дальнейшем и зародыша, обладает отрицательным геотропизмом, а базальный - положительным [Поддубная-Арнольди, 1976]. При рассмотрении полярности зиготы обращается особое внимание на установление вертикальных градиентов, таких, как сила тяжести, величина рН, свойства оболочки зиготы в апоикальной и базальной ее частях. По мнению Ch.Child [1941, цит. по: Медведев, 2012], система градиентов – главный фактор происхождения полярности. Установление определенных градиентов и приводит к специфической ориентации элементов зиготы, то есть к ее аксиальности. Заложение оси полярности может рассматриваться как первый шаг дифференциации и, следовательно, морфогенеза.

У злаков наклонное положение первой перегородки в зиготе и последующих в проэмбрио приводит к тому, что дорзовентральность строения зародыша проявляется уже на стадии двухклеточного проэмбрио. Такая дорзовентральность сохраняется впоследствии на всем протяжении формирования зародыша, получая на следующих его этапах развития все более осязательное морфологическое выражение. Однако если в процессе развития зиготы и проэмбрио дорзовентральность устанавливается в основном вследствие различий в степени растяжения клеточной оболочки на дорзальной и вентральной сторонах зиготы и проэмбрио, то на следующих этапах органогенеза дорзовентральность зародыша проявляется в специфической ориентировке клеточных делений, растяжении клеточных оболочек и частоте клеточных делений [Батыгина, 1974, 1987].

Кроме того, *in vivo* ключевым фактором формирования апоикально-базальной оси зародыша и тем самым раннего становления его полярности служит асимметричный паттерн первого деления зиготы, приводящий к образованию двух неравных клеток (апоикальной и базальной) двухклеточного зародыша [Батыгина, 1987; Jürgens, 1995; Zhang, Laux, 2011; Wendrich, Weijers, 2013; Hand et al., 2016; Vaddepalli et al., 2021 и мн. др.].

У многих видов цветковых растений для раннего эмбриогенеза характерны жесткие, регулярные паттерны клеточных делений [Батыгина, 1987; West, Harada, 1993; Ueda et al., 2011; Zhang, Laux, 2011].

Важность паттернов клеточных делений для развития зародыша иллюстрируется большим количеством мутантов у арабидопсиса с измененными паттернами клеточных делений во время раннего эмбриогенеза, ведущих к нарушению в формировании зародыша. Например, при мутации *knolle* не формируется эпидермальный слой и нарушается становление апоикально-базальной оси [Mayer et al., 1991]. У мутантов *fackel* отсутствует жесткая ориентация плоскостей клеточных делений, что ведет к неправильной локализации меристем и к серьезным нарушениям в развитии зародыша [Schrack et al., 2000]. У кукурузы семь из десяти мутантов с нарушением первого асимметричного деления были неспособны формировать собственно зародыш. Следовательно, даже у однодольных, где паттерны клеточных делений в зародыше не такие регулярные, как, например, у арабидопсиса, ранние паттерны формирования зародыша могут быть решающими для более позднего развития зародыша [Sheridan, Clark, 1993].

Однако у мутантов арабидопсиса *fass* клеточная судьба отдельных клеток детерминируется правильно, но зародыши имеют неправильную форму и пространственное

распределение клеток. Такие наблюдения позволяют предположить, что в некоторых случаях для дифференциации требуются не только регулярные паттерны клеточных делений [Torges-Ruiz, Jurgens, 1994].

Кроме того, у некоторых видов цветковых растений ориентация плоскостей первых делений также может варьировать. Тем не менее, формируется зародыш с характерным для данного таксона строением. Например, микроспориальные эмбриониды *B. napus* L., полностью повторяющие развитие зиготических зародышей, формируются из микроспор, поделившихся как асимметрично, так и симметрично [Tang et al., 2013]. Такую же картину наблюдали при развитии эмбрионидов в суспензионной культуре соматических клеток моркови [Toonen et al., 1994]. Это дает возможность предположить, что спецификация клеток в зародыше зависит не только от их происхождения от определенных инициалей, но и от их расположения в зародыше (концепция «позиционного контроля» [Jürgens, 1995; Kaplan, Cooke, 1997; Zhang, Laux, 2011; Harnvanichvech et al., 2021]).

В случае андроклиного эмбриогенеза *in vitro* для многих представителей цветковых растений, и особенно для злаков, хорошо установлено, что первое спорофитное деление морфогенетически компетентной микроспоры, как правило, симметричное, приводящее к формированию двух равных по объему клеток [Круглова, 2001; Эмбриологические основы..., 2005; Aionesei et al., 2005; Segui-Simarro, Nuez, 2008; Pulido et al., 2009; Dubas et al., 2010, 2014; Dunwell, 2010; Uvakova et al., 2012; Rubtsova et al., 2013; Soriano et al., 2013]. Хотя имеются сведения и о полном совпадении паттернов развития [Supena et al., 2008; Prem et al., 2012]. Установление полярности и первое ассиметричное деление клеток наблюдали при раннем развитии зародыша в соматическом эмбриогенезе *in vitro* у моркови [Nomura, Komamine, 1985] и люцерны [Pasternak et al., 2002].

По сравнению с жесткими, регулярными паттернами клеточных делений, характерными для раннего эмбриогенеза *in vivo* [Батыгина, 1987; Jürgens, 1995; Zhang, Laux, 2011; Harnvanichvech et al., 2021] у многих видов цветковых растений андроклинные эмбриониды *in vitro* формируются в результате случайно ориентированных первых делений [Von Arnold et al., 2002; Mathew, Philip, 2003; Hand et al., 2016]. Дальнейшие деления также не имеют строгой ориентации и приводят к формированию группы клеток, имеющих сходные размеры и структуру, не имеющей какой-либо организации и находящихся в пределах неповрежденной оболочки микроспоры. Во многих исследованиях наблюдалось, что развитие эмбриоида начинается с глобулярной многоклеточной структуры [Dodeman et al., 1997]. Некоторые авторы считают, что такая группа клеток (многоклеточная структура) может дать начало как каллусу, так и эмбриониду [Castillo et al., 2000; Круглова, 2001; Massonneau et al., 2005; Soriano et al., 2013]. К тому же, например, показано что в культуре *in vitro* изолированных пыльников реализация конкретного пути морфогенеза зависит от условий культивирования, а именно – от баланса содержания эндогенного ауксина ИУК в пыльниках перед инокуляцией *in vitro* и концентрации экзогенного ауксина 2,4-Д в индукционной питательной среде Potato II [Эмбриологические основы..., 2005; От микроспоры..., 2010].

Считается, что такую многоклеточную структуру можно рассматривать как эмбрионид только после формирования эмбриодермы, которая рассматривается как маркер эмбрионального пути развития в условиях *in vitro* [Telmer et al., 1995; Yeung, 1995; Soriano et al., 2013]. Это подтверждается данными, полученными А. Massonneau с соавт. [2005], о том, что у кукурузы эпидермальный маркер *LTP2* экспрессируется только в многоклеточных структурах, формирующих эмбриониды, но не каллусы.

В различных экспериментальных системах культуры *in vitro* установлено, что, в отличие от зиготических зародышей, характеризующихся полярной организацией с самых первых этапов развития, полярность эмбриоидов устанавливается поздно, после глобулярной стадии развития. Такие данные получены при изучении андроклинных эмбриоидов пшеницы [Эмбриологические основы..., 2005; Rubtsova et al., 2013, Титова и др., 2016], андроклинных эмбриоидов других представителей цветковых растений [Indrianto et al., 2001; Seguí-Simarro, Nuez, 2008; Supena et al., 2008; Dubas et al., 2011; Soriano et al., 2013], эмбриоидов различного происхождения (обзор: [Yeung, 1996]), зародышей пшеницы, формирующихся из изолированных зигот, культивируемых *in vitro* [Bakos et al., 2009].

Следует отметить, что симметричное деление зиготы, позднее становление полярности зародыша и его поздняя гистогенная дифференциация отмечены и *in vivo* у целого ряда видов цветковых растений, располагающихся преимущественно в основании филогенетического древа, поэтому данный тип эмбриогенеза рассматривается как примитивный [Hauser et al., 1994].

Такие данные свидетельствуют о том, что асимметричный паттерн первого деления не является необходимой предпосылкой для детерминации полярной организации формирующихся зародышей/эмбриоидов.

Согласно современной концепции морфогенеза окончательное строение развивающегося зародыша/эмбриоида устанавливается за счет межклеточных взаимодействий во время развития, в соответствии с механизмом позиционного контроля [Jürgens, 1995; Zhang, Laux, 2011; Harnvanichvech et al., 2021].

ЦИТОСКЕЛЕТ, РАЗРЫВ ЭКЗИНЫ И ФОРМИРОВАНИЕ СУСПЕНЗОРА

Важнейшей поляризующей структурой, осуществляющей пространственную ориентацию и координацию большинства процессов и в значительной степени определяющей форму клетки является цитоскелет [Hable, Hart, 2010].

В индукции эмбриогенеза *in vivo* и эмбриогенеза *in vitro* цитоскелет инициальных клеток также играет ключевую роль (обзоры: [Круглова, Куксо, 2006; Vaddepalli et al., 2021]).

Во многих работах показано, что первый этап развития инициальной клетки андроклинии по спорофитной программе *in vitro* – симметричный митоз, ведущий к формированию двух равных клеток, и именно цитоскелет участвует в детерминации симметрии клеточного деления (обзоры: [Круглова, Куксо, 2006; Vaddepalli et al., 2021]). Это достигается за счет перестройки цитоскелета в стресс-индуцированных микроспорах, ведущей к формированию препрофазного тяжа микротрубочек (отсутствующего при реализации гаметофитного пути развития микроспор), детерминирующего плоскость первого симметричного деления [Simmonds, Keller, 1999; Dubas et al., 2010; 2011]. Такие тяжи микротрубочек формируются до профазы митоза почти во всех тканях цветковых растений, а их положение является местом прикрепления клеточной пластинки. Препрофазные тяжи микротрубочек определяют плоскость деления клетки и тем самым играют важную роль в морфогенезе, так как формирование клеточной стенки – один из ключевых моментов в развитии многоклеточных организмов [Круглова, Куксо, 2006; Медведев, 2012; Vaddepalli et al., 2021].

Участие цитоскелета в индукции андроклинии подтверждается применением различных химических веществ, таких как колхицин [Zamani et al., 2000; Chen et al., 2001; Obert, Barnabas, 2004], цитохалазин D [Gervais et al., 2000] или η-бутанол [Soriano et al., 2008],

вызывающих перестройку микротрубочек и актиновых нитей и переключающих микроспоры на эмбриогенный путь развития в отсутствие стрессовых предобработок. Например, колхицин увеличивает частоту индукции эмбриоидов в микроспорах *B. napus* L. за счет увеличения числа клеток, поделившихся симметрично [Zaki, Dickinson, 1995].

Однако нужно отметить, что изменение плоскости деления микроспор не всегда приводит к индукции эмбриогенеза. Например, обработка колхицином микроспор табака [Touraev et al., 1995] и рапса [Cordewener et al., 1994] приводила к симметричному митозу, однако формирования эмбриоидов не наблюдалось. Обработка микроспор ячменя экстрактом пыльника с высокой частотой индуцировала их симметричные деления с образованием двух равных клеток, однако при дальнейшем культивировании *in vitro* только одна из клеток формировала пыльцевую трубку, развиваясь подобно вегетативной клетке при гаметофитном пути [Sunderland, Evans, 1980]. Введение лития в питательную среду приводило к симметричному делению микроспор табака, однако дальнейшее их культивирование не вело к образованию эмбриоидов [Zonia, Turu, 1995]. Возможно, в условиях выполненных экспериментов инициальным клеткам андроклинии требовались иные условия для развития по спорофитной программе морфогенеза *in vitro*.

В качестве еще одного ключевого фактора в развитии андроклинных эмбриоидов рассматривается разрыв экзины. Например, клеточные деления, не ведущие к формированию эмбриоидов, останавливаются перед разрывом экзины [Maraschin et al., 2005]. В некоторых работах сообщается, что место разрыва экзины играет важную роль в становлении полярности эмбриоидов. У разных видов цветковых растений остатки экзины остаются прикрепленными к корневому полюсу, что дает возможность предположить, что апикальный домен эмбриоида совпадает с местом разрыва экзины [Hause et al., 1993; Ilic-Grubor et al., 1998; Indrianto et al., 2001; Tang et al., 2013; Dubas et al., 2014], которое определяется плоскостью первого деления [Tang et al., 2013].

Кроме того, исследования, проведенные на бурой водоросли *Fucus*, показали, что клеточная стенка зиготы обеспечивает позиционную информацию для становления оси полярности и ориентации плоскости первого деления зиготы, а изменения в составе клеточных стенок важны для детерминации судьбы клеток [Belanger, Quatrano, 2000].

Также было показано, что преждевременный разрыв оболочки микроспоры ведет к формированию каллуса, а для нормального формирования эмбриоида оболочка должна оставаться интактной в течение первых пяти дней культивирования *in vitro*. Целостность оболочки ведет к ограничению объема, приводя, тем самым, к формированию определенного количества небольших по размеру клеток (возможно, достигается определенная «критическая масса») [Hause et al., 1994].

Изменения в клеточной стенке, которые характеризуют переключение программы развития микроспоры на эмбриогенную, включают в себя умеренный рост пекто-целлюлозной стенки и интины [Bonet, Olmedilla, 2000; Solis et al., 2008], усиление эстрификации пектина [Barany et al., 2010] и дифференциальную локализацию эпитопов арабиногалактанов [El-Tantawy et al., 2013]. Эти или другие изменения могут быть важны для способности индуцированных микроспор формировать эмбриоиды и требуют дальнейшего изучения.

Показано, что после разрыва оболочки микроспоры происходит цитологическая реорганизация клеток и индукция морфологической и структурной полярности эмбриоидов [Hause et al., 1994; Tang et al., 2013].

Преждевременный разрыв экзины, по-видимому, может нарушать дальнейшее развитие эмбриоида [Hause et al., 1994]. Однако у эмбриоидов *B. napus* L., полностью повторяющих развитие зиготических зародышей, разрыв экзины происходит после нескольких клеточных делений. Ориентация плоскости первого деления (поперечного относительно оси) в таких эмбриоидах маркирует место разрыва экзины (что определяется по остаткам экзины на одной из клеток) [Tian, Sun, 2003; Tang et al., 2006, 2013]. Эти работы, а также работа В. Hause с соавт. [1994], указывают на важную роль клеточной стенки микроспоры в организации трехмерной структуры эмбриоида.

Одним из признаков проявления полярности в ранних эмбриоидах *B. napus* L. – аккумуляция крахмальных зерен в том участке эмбриоида, где в будущем будет формироваться корневой полюс [Hause et al., 1994; Dubas et al., 2014]. В микроспориальных эмбриоидах пшеницы крахмальные зерна аккумуляровались в зоне, противоположной месту разрыва экзины [Indrianto et al., 2001], то есть также в месте будущего корневого полюса. Однако имеются данные и о равномерном распределении крахмала в ранних эмбриоидах пшеницы [Сельдимирова, 2013]. В связи с этим использование такого признака, как распределения крахмала в эмбриоидах на ранних этапах развития, в качестве маркера полярности вызывает сомнение.

Рядом авторов [Hause et al., 1994; Ilic-Grubor et al., 1998; Yeung, 2002; Supena et al., 2008] в качестве еще одного из первых признаков структурного проявления полярности в андроклиных эмбриоидах *B. napus* L. рассматривается начало формирования суспензора. Так, К. Ilic-Grubor с соавт. [1998] с помощью метода сканирующей электронной микроскопии установили факт длительного прикрепления остатков оболочки микроспоры к поверхности суспензора или корневого полюса (в случае отсутствия последнего) в эмбриоидах *B. napus* L.

Спорадическое образование суспензора отмечено также у андроклиных эмбриоидов пшеницы [Rybczynski et al., 1991] и кукурузы [Chung-Shen et al., 1986]. Однако у представителей семейства злаков суспензор менее организован и морфологически разнообразен [Bommert, Werr, 2001; Guillon et al., 2012], например, по сравнению с суспензором таких модельных объектов, как представители семейства *Brassicaceae*, что затрудняет его идентификацию в условиях *in vitro* [Soriano et al., 2013].

Следует отметить, что и у *B. napus* L. образование суспензора отмечается не всегда [Hause et al., 1994; Ilic-Grubor et al., 1998; Straatman et al., 2000; Yeung, 2002]. Однако для этого модельного объекта разработаны процедуры, позволяющие получать андроклиные эмбриоиды, чье развитие полностью повторяет развитие зиготических зародышей.

Основная роль суспензора *in vivo* – фиксация зародыша в семени и обеспечение развивающегося зародыша питательными веществами и регуляторами роста, поставляющимися из материнских тканей [Yeung, Meinke, 1993]. Для андроклиных эмбриоидов *B. napus* L., имеющих суспензор, характерны регулярные паттерны клеточных делений, происходящих в зиготических зародышах, что предполагает участие суспензора также и в регуляции паттернов ранних клеточных делений, становлении апикально-базальной симметрии и гистодифференциации при формировании эмбриоида [Supena et al., 2008; Dubas et al., 2011]

ПОЛЯРНЫЙ ТРАНСПОРТ АУКСИНА

Ауксин является ключевым регулятором практически всех процессов роста и развития растений. Известно несколько соединений, обнаруживаемых в растениях и имеющих

ауксиновую активность. Это, прежде всего, индол-3-уксусная кислота (ИУК), в значительно меньших количествах встречаются индол-3-бутировая и фенилуксусная кислоты, имеющие очень слабую активность. Но именно ИУК является основным и универсальным ауксином у всех растений [Медведев, Шарова, 2011; Розов и др., 2013; Auxin..., 2014].

Для ИУК характерно ярко выраженное полярное передвижение по тканям растительного организма. Градиенты концентрации ИУК действуют как мощный морфогенетический фактор и обеспечивают формирование осей симметрии у высших растений на организменном уровне. Полярный транспорт ауксина регулирует практически все процессы морфогенеза [Медведев, 2012; Розов и др., 2013; Auxin..., 2014].

Полярный транспорт ауксина осуществляется между соседними клетками, несущими на своей поверхности специальные энергозависимые структуры-переносчики ауксина. Одни переносчики захватывают ауксин и вводят его внутрь клетки, другие выводят из клетки наружу. Полярность этого транспорта является результатом небольшой разницы в концентрации ауксина в разных концах клетки, и полярный транспорт представляет из себя активную секрецию его из клетки с помощью специальных структур-переносчиков. Далее ауксин диффундирует через межклеточное пространство и также активно захватывается соседней клеткой. Основная особенность механизма полярного транспорта заключается в том, что два полюса клетки немного различаются по их проницаемости для диссоциированных и недиссоциированных молекул ауксина [Медведев, 2012; Розов и др., 2013].

Для объяснения механизма мембранного транспорта ауксина часто используют хемиосмотическую гипотезу P.Rubery и A.Sheldrake [1974, цит. по: Медведев, 2012]. В соответствии с этой моделью мембранный градиент pH, создаваемый АТФ-азами, приводит к накоплению в слабокислой среде межклетников недиссоциированных молекул ИУК. В цитоплазме, при более высоком значении pH, часть молекул, проникших туда, диссоциирует. Плазматическая мембрана относительно непроницаема для анионов, которые могут выйти или войти в клетку только с помощью специфических выходных или входных структур-переносчиков. Асимметрия в распределении этих двух структур-переносчиков приводит к возникновению полярности переноса ауксина через клетку [Медведев, 2012; Розов и др., 2013].

Поступление ИУК в клетку обеспечивают белки AUX1/LAX [Bennett et al., 1996]. В выведении ИУК из клеток принимают участие два типа переносчиков – PIN-белки и некоторые фосфогликопротеины, например PGP1 и PGP19 [Blakeslee et al., 2007].

Главные переносчики, которые формируют полярные потоки ауксина в растении и обеспечивают выход ИУК из клеток – PIN-белки. Благодаря различной мембранной локализации белков этого семейства полярный транспорт ауксина в растении возможен в самых разных направлениях.

Роль белков PIN в эмбриогенезе хорошо изучена у такого модельного представителя двудольных, как арабидопсис. Так, на стадии двухклеточного зародыша, PIN7, находящийся на апикальной поверхности плазматической мембраны клеток суспензора, обеспечивает поступление ИУК из материнского растения в зародыш. При этом PIN1 на латеральной поверхности плазматической мембраны обеспечивает выравнивание концентрации ИУК в двух клетках зародыша.

На глобулярной стадии развития зародыша PIN1 вместе с PIN4 обеспечивают поступление ИУК из места синтеза в апикальной части зародыша в гипофизу. Различное расположение PIN1 в клетках туники и корпуса определяет направление потоков ауксина

в апикальной меристеме побега к местам заложения листовых примордиев. В кончиках корней PIN1, PIN4 и PIN7 направляют ауксин вниз по стели, PIN3 перераспределяет потоки ауксина в латеральном направлении, а локализованный в верхней части клеток коры и эпидермиса PIN2 направляет ауксин вверх, задавая базипетальное направление транспорта ИУК [Friml et al., 2003; Möller, Weijers, 2009].

У однодольных была изучена локализация только одного переносчика ауксина ZmPIN1 у кукурузы [Forestan et al., 2010]. Авторы разработали свою модель транспорта ауксина в зародыше злаков, согласно которой переход от радиальной симметрии к билатеральной связан с инверсией поляризации PIN1 и транспорта ауксина, осуществляемого этим переносчиком.

Эти данные согласуются с данными, полученными ранее С. Fischer и G. Neuhaus [1996], разработавшими гипотетическую модель транспорта ауксина в развивающемся зародыше пшеницы. Согласно этой модели в радиально симметричных зародышах имеет место диффузное распределение ауксина, а не активный транспорт. Переход от радиальной симметрии к билатеральной связан с перераспределением ауксина и осуществлением двунаправленного транспорта ауксина в формирующиеся щиток и апикальную меристему побега от корневого полюса зародыша. Эта модель получила экспериментальное подтверждение в работах по получению зародышей пшеницы с множественными щитками и апикальными меристемами побегов [Fischer et al., 1997; Fischer-Iglesias et al., 2001]. Нами при культивировании *in vitro* также были получены сходные данные по получению андроклинных полиэмбрионов пшеницы [Сельдиминова, Галин, 2011, 2013; Сельдиминова и др., 2015; 2016; Титова и др., 2016]. Так, при оптимальном содержании в индукционной питательной среде экзогенного синтетического ауксина 2,4-Д формировались эмбриониды, сходные с зиготическими зародышами (рис. 1).

При повышении в питательной среде 2,4-Д формировались полиэмбриониды – зародышеподобные структуры с множественными щитками и апексами побегов, объединенных общим корневым полюсом, в которых с зиготическим зародышем были схожи по строению отдельные структурные единицы (рис. 2). Иногда наблюдались случаи кливажа – когда на первичном полиэмбриониде формировался вторичный эмбрионид (рис. 2, а).

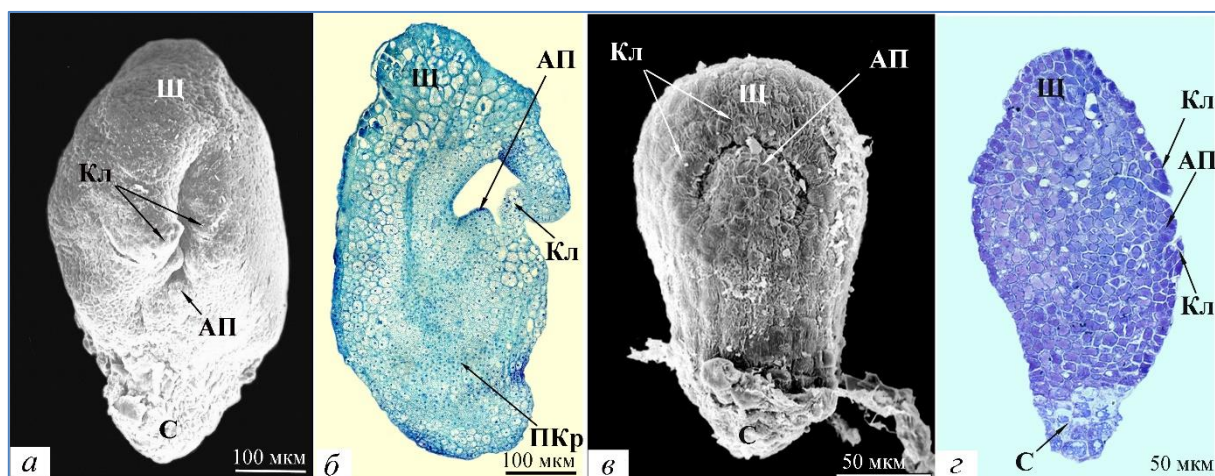


Рис. 1. Формирование андроклинных эмбрионидов пшеницы (а, б), сходных по строению с зиготическими зародышами (в, г). Условные обозначения: АП – апекс побега, Кл – колеоптиль, ПКр – первичный корень, С – суспензор, Щ – щиток. По: [Титова и др., 2016] с изменениями. а, в – сканирующая электронная микроскопия, б, г – световая микроскопия.

Структурные механизмы формирования полиэмбриоидов подробно рассмотрены в работе [Титова и др., 2016]. Изложенные в вышеуказанной работе результаты согласовываются с данными С.Fischer и G.Neuhaus [1996] о существовании вокруг апикальной части недифференцированного зиготического зародыша кольца клеток, морфогенетически компетентных к формированию апикальной меристемы побега. При этом для реализации морфогенетической компетенции таким клеткам необходим ауксиновый импульс. Эта точка зрения поддерживается мнением ряда авторов о том, что обработка зародышей синтетическими ауксинами вызывает заложение новых эмбриональных очагов [Яковлев, Снегирев, 1954] или меристематических зон [Ferguson et al., 1979] в зародыше.

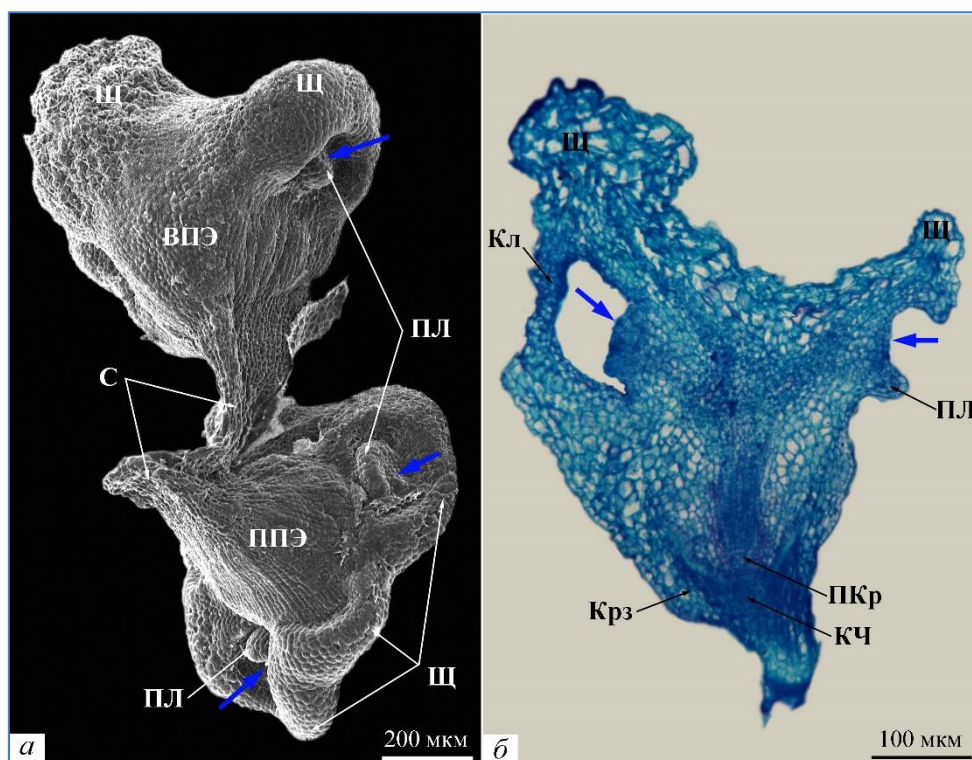


Рис. 2. Формирование андроклинных полиэмбриоидов пшеницы. Условные обозначения: ВПЭ – вторичный полиэмбриоид, Кл – coleoptиль, Крз – coleориза, КЧ – корневой чехлик, ПЛ – первый лист, ППЭ – первичный полиэмбриоид, С – суспензор, Щ – щиток. Синими стрелками указаны апексы побегов. По: [Титова и др., 2016] с изменениями. *а* – сканирующая электронная микроскопия, *б* – световая микроскопия.

Эти данные косвенно подтверждаются данными по иммулокализации эндогенной ИУК в формирующихся полиэмбриоидах [Галин, Сельдимирова, 2019]. Авторами установлено, что полиэмбриоиды *in vitro* на стадии перехода от фазы бластомеризации к фазе органогенеза характеризовались равномерной интенсивностью иммуногистохимического окрашивания клеток апикальной части. На основании полученных данных высказано предположение, что именно гомогенное распределение эндогенного ауксина ИУК в клетках апикальной части полиэмбриоидов *in vitro* на стадии перехода от фазы бластомеризации к фазе органогенеза обуславливает формирование множественных щитков и соответствующих им апикальных меристем побегов.

Известно, что ауксины представляют собой слабые липофильные кислоты, которые диссоциируют в водных растворах. Это означает, что с уменьшением pH раствора увеличивается доля недиссоциированных молекул ауксина. Обычно pH цитоплазмы значительно превышает pH внеклеточного раствора. В этих условиях недиссоциированные молекулы ауксина диффундируют через плазмалемму внутрь клеток и диссоциируют там,

в соответствии с рН цитоплазмы, поддерживая тем самым градиент концентраций и поток нейтральных молекул в цитоплазму. Вследствие низкой проницаемости диссоциированных молекул ауксинов они накапливаются в клетке [Гамбург, 1993]. Вполне вероятно, что повышение в питательной среде синтетического ауксина 2,4-Д приводит к его диффузии из среды в клетки формирующихся эмбриоидов, где он действует как ауксиновый сигнал.

О.Erdelska и Z.Vidovencova [1992, 1994], в свою очередь, считают, что различные регуляторы роста или ингибиторы полярного транспорта ауксина могут действовать как фактор декорреляции, нарушающий связи между клетками проэмбрио и индуцируя экспрессию тотипотентности в каждой клетке раннего многоклеточного проэмбрио что приводит к индукции полиэмбрионии *in vitro*.

Роль полярного транспорта ауксина в становлении апикально-базальной оси и формировании трехмерной структуры зиготических зародышей и эмбриоидов различного происхождения подтверждается многочисленными экспериментами с использованием ингибиторов полярного транспорта ауксинов. Чаще всего используются 2,3,5-трийодбензойная кислота (ТИБК) [Schiavone, Cooke, 1987; Liu et al., 1993; Fischer, Neuhaus, 1996; Choi et al., 1997; Hadfi et al., 1998; Bronsema et al., 2001; Choi et al., 2001; Elhiti, Stasolla, 2011], N-1-нафтилфталамовая кислота (НФК) [Schiavone, Cooke, 1987; Fischer et al., 1997; Hakman et al., 2009], кверцетин [Fischer et al., 1997], транс-коричная кислота [Liu et al., 1993; Hadfi et al., 1998].

Наиболее частыми морфологическими проявлениями воздействия ингибиторов полярного транспорта ауксинов являются сросшиеся трубковидные семядоли [Liu et al., 1993; Choi et al., 1997; Hadfi et al., 1998; Hakman et al., 2009; Elhiti, Stasolla, 2011], нарушения в развитии апикальных меристем побега и корня [Fischer, Neuhaus, 1996; Hadfi et al., 1998; Bronsema et al., 2001; Choi et al., 2001; Hakman et al., 2009; Elhiti, Stasolla, 2011], формирование шаровидных эмбриоидов, неспособных к дальнейшему развитию [Schiavone, Cooke, 1987; Hadfi et al., 1998], удвоение или мультипликация эмбриональных осей [Fischer et al., 1997; Hadfi et al., 1998].

Таким образом, можно сделать заключение, что полярность служит тем инструментом, с помощью которого осуществляется разметка формирующихся органов и тканей растения и создается специфическая трехмерная структура организма [обзор: Медведев, 2012 и ссылки из него]. Не вызывает сомнения тот факт, что полярный транспорт ауксина – ключевой фактор в конечном итоге регулирующий все процессы роста и морфогенеза растений. Однако следует отметить, что молекулярные механизмы, посредством которых ауксин действует как морфоген в определенных участках как зародыша *in vivo*, так и эмбриоида *in vitro*, до сих пор слабо изучены и нуждаются в дальнейшем исследовании.

Работа выполнена по теме № 123020800002-2 в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № 075-01134-23-00.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батыгина Т.Б. Эмбриология пшеницы. Л.: Колос, 1974. 206 с.
2. Батыгина Т.Б. Хлебное зерно: атлас. Л.: Наука. 1987. 281 с.
3. Батыгина Т.Б. Биология развития растений. Симфония жизни. СПб.: ДЕАН, 2014. 764 с.
4. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Размножение растений. СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2002. 232 с.

5. Галин И.Р., Сельдимирова 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.
6. Гамбург К.З., Рекославская Н.И., Швецов С.Г. Ауксины в культурах тканей и клеток растений. Новосибирск: Наука, 1990. 243 с.
7. Круглова Н.Н. Морфогенез в культуре пыльников пшеницы: эмбриологический подход. Уфа: Гилем. 2001. 203 с.
8. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Стрессовая индукция андроклинии // Успехи соврем. биол. 2006. Т. 126. № 3. С. 275–285.
9. Медведев С.С. Физиологические основы полярности растений. СПб.: Кольна. 1996. 159 с.
10. Медведев С.С. Механизмы формирования и физиологическая роль полярности в растениях // Физиология растений. 2012. Т. 59. № 4. С. 543–555.
11. Медведев С.С., Шарова Е.И. Биология развития растений. Т. 1. Начала биологии развития растений. Фитогормоны. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2011. 256 с.
12. От микроспоры к сорту / Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. М.: Наука, 2010. 174 с.
13. Поддубная-Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений. Основы и перспективы. М.: Наука, 1976. 508 с.
14. Розов С.М., Загорская А.А., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Ауксин: биосинтез, метаболизм, транспорт // Успехи соврем. биол. 2013. Т. 133. № 1. С. 50–62.
15. Сельдимирова О.А. Гистохимический анализ динамики содержания крахмала в микроспориальных эмбриоидах *in vitro* у яровой мягкой пшеницы // Известия Уфимского НЦ РАН. 2013. № 2. С. 62–66.
16. Сельдимирова О.А., Галин И.Р. К вопросу о формировании полиэмбриоидов в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Известия Самарского НЦ РАН. 2011. Т. 13. № 5-3. С. 188–190.
17. Сельдимирова О.А., Галин И.Р. Цито-гистологический анализ особенностей морфогенеза полиэмбриоидов в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Вестник Башкирского гос. аграрного ун-та. 2013. № 1 (25). С. 39–41.
18. Сельдимирова О.А., Титова Г.Е., Круглова Н.Н. Андроклинные «сиамские зародыши» пшеницы *in vitro* // Известия Уфимского НЦ РАН. 2015. № 4 (1). С. 137–142.
19. Сельдимирова О.А., Титова Г.Е., Круглова Н.Н. Комплексный морфолого-гистологический подход к изучению морфогенных структур в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Известия РАН. Серия биологическая. 2016. № 2. С. 155–161.
20. Титова Г.Е., Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Галин И.Р., Батыгина Т.Б. Феномен «сиамских зародышей» у злаков *in vivo* и *in vitro*: кливажная полиэмбриония и фасциации // Онтогенез. 2016. Т. 47. № 3. С. 152–169. DOI: 10.7868/S047514501603006X
21. Чеботарь А.А. Эмбриология кукурузы. Кишинев: Штиинца, 1972. 384 с.
22. Эмбриологические основы андроклинии пшеницы: атлас / Н.Н. Круглова, Т.Б. Батыгина, В.Ю. Горбунова, Г.Е. Титова, О.А. Сельдимирова. М.: Наука. 2005. 99 с.

23. Яковлев М.С., Снегирев Д.П. Влияние ростовых веществ на образование многозародышевых зерновок у пшеницы // Ботан. журнал. 1954. Т. 39. № 2. С. 187–194.
24. Aionesei T., Touraev A., Heberle-Bors E. Pathways to microspore embryogenesis // Biotechnol. Agr. Forest. 2005. V. 56. P. 11–34.
25. Auxin and Its Role in Plant Development / Eds Zazimalova E., Petrasek J., Benkova E. Springer-Verlag: Wien, 2014. 444 p. DOI: [10.1007/978-3-7091-1526-8](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1526-8)
26. Bakos F., Szabo L., Olmedilla A., Barnabas B. Histological comparison between wheat embryos developing *in vitro* from isolated zygotes and those developing *in vivo* // Sex. Plant Reprod. 2009. V. 22. № 1. P. 15–25. DOI: [10.1007/s00497-008-0087-7](https://doi.org/10.1007/s00497-008-0087-7)
27. Barany I., Fadon B., Risueno M.C., Testillano P.S. Cell wall components and pectin esterification levels as markers of proliferation and differentiation events during pollen development and pollen embryogenesis in *Capsicum annuum* L. // J. Exp. Bot. 2010. V. 61. № 4. P. 1159–1175. DOI: [10.1093/jxb/erp392](https://doi.org/10.1093/jxb/erp392)
28. Belanger K.D., Quatrano R.S. Polarity: the role of localized secretion // Curr. Opin. Plant. Biol. 2000. V. 3. № 1. P. 67–72. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)00043-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)00043-6)
29. Bennett M., Marchant A., Green H., May S., Ward S., Millner P., Walker A.R., Schulz B., Feldmann K.A. *Arabidopsis* AUX1 gene: a permease-like regulator of root gravitropism // Science. 1996. V. 273. № 5277. P. 948–950. DOI: [10.1126/science.273.5277.948](https://doi.org/10.1126/science.273.5277.948)
30. Blakeslee J., Bandyopadhyay A., Lee O.-K., Mravec J., Boosaree T.B., Sauer M., Makam S., Cheng Y., Bouchard R., Adamec J., Geisler M., Nagashima A., Sakai T., Martinoia E., Friml J., Peer W., Murphy A. Interactions among PIN-FORMED and P-Glycoprotein auxin transporters in *Arabidopsis* // Plant Cell. 2007. V. 19. № 1. P. 131–147. DOI: [10.1105/tpc.106.040782](https://doi.org/10.1105/tpc.106.040782)
31. Bommert P., Werr W. Gene expression patterns in the maize caryopsis: clues to decisions in embryo and endosperm development // Gene. 2001. V. 271. № 2. P. 131–142. DOI: [10.1016/S0378-1119\(01\)00503-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(01)00503-0)
32. Bonet F., Olmedilla A. Structural changes during early embryogenesis in wheat pollen // Protoplasma. 2000. V. 211. № 1–2. P. 94–102. DOI: [10.1007/BF01279902](https://doi.org/10.1007/BF01279902)
33. Bronsema F.B.F., Redig P., van Oostveen W.F.J., van Onckelen H.A., van Lammeren A.A.M. Uptake and biochemical analysis of 2,4-D in cultured zygotic embryos of *Zea mays* L. // J. Plant Physiol. 1996. V. 149. № 3–4. P. 363–371.
34. Bronsema F.B.F., van Oostveen W.J.F., Prinsen E., van Lammeren A.A.M. Distribution of [¹⁴C] dichlorophenoxyacetic acid in cultured zygotic embryos of *Zea mays* L. // J. Plant Growth Regul. 1998. V. 17. № 2. P. 81–88.
35. Bronsema F.B.F., van Oostveen W.J.F., van Lammeren A.A.M. Influence of 2,4-D, TIBA and 3,5-D on the growth response of cultured maize embryos // Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 2001. V. 65. № 1. P. 45–56. DOI: [10.1023/A:1010605519845](https://doi.org/10.1023/A:1010605519845)
36. Castillo A., Valles M., Cistue L. Comparison of anther and isolated microspore cultures in barley. Effects of culture density and regeneration medium // Euphytica. 2000. V. 113. № 1. P. 1–8. DOI: [10.1023/A:1003937530907](https://doi.org/10.1023/A:1003937530907)
37. Chen Q.F., Wang C.L., Lu Y.M., Shen M., Afza R., Duren M.V., Brunner H. Anther culture in connection with induced mutations for rice improvement // Euphytica. 2001. V. 120. № 3. P. 401–408. DOI: [10.1023/A:1017518702176](https://doi.org/10.1023/A:1017518702176)
38. Choi Y.E., Katsumi M., Sano H. Triiodobenzoic acid, an auxin polar transport inhibitor, suppresses somatic embryo formation and postembryonic shoot/root development

- in *Eleutherococcus senticosus* // Plant Science. 2001. V. 160. № 6. P. 1183–1190. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00357-0](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00357-0)
39. Choi Y.E., Kim H.S., Soh W.Y., Yang D.C. Developmental and structural aspects of somatic embryos formed on medium containing 2,3,5-triiodobenzoic acid // Plant Cell Rep. 1997. V.16. № 11. P. 738–744. DOI: [10.1007/s002990050312](https://doi.org/10.1007/s002990050312)
 40. Chung-Shen K., Wenliang L., Yao-Lin K. Corn (*Zea mays* L.): Production of pure lines through anther culture // Biotechnology in Agriculture and Forestry. 1986. V. 2. № 1. P. 168–180. DOI: [10.1007/978-3-642-61625-9_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-61625-9_10)
 41. Cordewener J.H.G., Busink R., Traas J.A., Custers J.B.M., Dons H.J.M., van Lookeren Campagne M.M. Induction of microspore embryogenesis in *Brassica napus* L. is accompanied by specific changes in protein synthesis // Planta. 1994. V. 195. № 1. P. 50–56. DOI: [10.1007/BF00206291](https://doi.org/10.1007/BF00206291)
 42. Damerval C., Jabbour F., Nadot S., Citerne H.L. Evolution of Symmetry in Plants // Evolutionary Developmental Biology / Eds.: L. Nuño de la Rosa, G.B. Müller. Springer, Cham: 2021. P. 715732. DOI: [10.1007/978-3-319-32979-6_59](https://doi.org/10.1007/978-3-319-32979-6_59)
 43. Dodeman V.L., Ducreux G., Kreis M. Zygotic embryogenesis versus somatic embryogenesis // J. Exp. Bot. 1997. V. 48. № 313. P. 1493–1509.
 44. Duarte-Aké F., Nic-Can G., De-la-Peña C. Somatic Embryogenesis: Polycomb Complexes Control Cell-to-Embryo Transition // Epigenetics in Plants of Agronomic Importance: Fundamentals and Applications / Eds Alvarez-Venegas R., De-la-Peña C., Casas-Mollano J.A. Springer, Cham, 2019. P. 339–354. DOI: [10.1007/978-3-030-14760-0_13](https://doi.org/10.1007/978-3-030-14760-0_13)
 45. Dubas E., Custers J., Kieft H., Wędzony M., van Lammeren A.A.M. Microtubule configurations and nuclear DNA synthesis during initiation of suspensor-bearing embryos from *Brassica napus* cv. Topas microspores // Plant Cell Rep. 2011. V. 30. № 11. P. 2105–2116. DOI: [10.1007/s00299-011-1117-8](https://doi.org/10.1007/s00299-011-1117-8)
 46. Dubas E., Custers J., Kieft H., Wędzony M., Van Lammeren A.A.M. Characterization of polarity development through 2- and 3-D imaging during the initial phase of microspore embryogenesis in *Brassica napus* L. // Protoplasma. 2014. V. 251. № 1. P. 103–113. DOI: [10.1007/s00709-013-0530-y](https://doi.org/10.1007/s00709-013-0530-y)
 47. Dubas E., Wędzony M., Petrovska B., Salaj J., Zur I. Cell structural reorganization during induction of androgenesis in isolated microspore cultures of *Triticale* (*xTriticosecale* Wittm.) // Acta Biol. Cracov. Bot. 2010. V. 52. № 1. P. 73–86.
 48. Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation // Plant Biotechnol. J. 2010. V. 8. № 4. P. 377–424. DOI: [10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00498.x)
 49. Elhiti M., Stasolla C. Ectopic expression of the *Brassica SHOOTMERISTEMLESS* attenuates the deleterious effects of the auxin transport inhibitor TIBA on somatic embryo number and morphology // Plant Sci. 2011. V. 180. № 2. P. 383–390. DOI: [10.1016/j.plantsci.2010.10.014](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.10.014)
 50. Elhiti M., Stasolla C., Wang A. Molecular regulation of plant somatic embryogenesis // *In Vitro* Cell. Dev. Biol.—Plant. 2013. V. 49, № 6. P. 631–642. DOI: [10.1007/s11627-013-9547-3](https://doi.org/10.1007/s11627-013-9547-3)
 51. El-Tantawy A.A., Solis M.T., Costa M.L., Coimbra S., Risueño M.C, Testillano P.S. Arabinogalactan protein profiles and distribution patterns during microspore embryogenesis and pollen development in *Brassica napus* // Plant Reprod. 2013. V. 26. P. 231-243. DOI: [10.1007/s00497-013-0217-8](https://doi.org/10.1007/s00497-013-0217-8)

52. Erdelska O., Vidovencova Z. Cleavage polyembryony in maize // *Sex. Plant Reprod.* 1992. V. 5. № 3. P. 224–226. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00189815>
53. Erdelska O., Vidovencova Z. Cleavage polyembryony *in vivo* and *in vitro* // *Biol. Plant.* 1994. V. 36. № 3. P. 329–334. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02920926>
54. Ferguson J.D., McEwan J.M. The Chemical induction of supernumerary shoots in the developing embryos of wheat // *Physiol. Plant.* 1970. V. 23. № 1. P. 18–28. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1970.tb06387.x>
55. Fischer C., Neuhaus G. Influence of auxin on the establishment of bilateral symmetry in monocots // *Plant J.* 1996. V. 9. № 5. P. 659–669. DOI: [10.1046/j.1365-313X.1996.9050659.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1996.9050659.x)
56. Fischer C., Speth V., Fleig-Eberenz S., Neuhaus G. Induction of zygotic polyembryos in wheat: Influence of auxin polar transport // *Plant Cell.* 1997. V. 9. № 10. P. 1767–1780. DOI: [10.1105/tpc.9.10.1767](https://doi.org/10.1105/tpc.9.10.1767)
57. 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)
58. Friml J., Vieten A., Sauer M., Weijers D., Schwarz H., Hamann T., Offringa R., Jürgens G. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis* // *Nature.* 2003. V. 426. № 6963. P. 147–153. DOI: [10.1038/nature02085](https://doi.org/10.1038/nature02085)
59. 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)
60. 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. 1374. № 2. P. 193–212. DOI: [10.1007/s11240-019-01569-8](https://doi.org/10.1007/s11240-019-01569-8)
61. Gervais C., Newcomb W., Simmonds D. Rearrangement of the actin filament and microtubule cytoskeleton during induction of microspore embryogenesis in *Brassica napus* L. cv. Topas // *Protoplasma.* 2000. V. 213. № 3–4. P. 194–202. DOI: [10.1007/BF01282157](https://doi.org/10.1007/BF01282157)
62. Guillon F., Larre C., Petipas F., Berger A., Moussawi J., Rogniaux H., Santoni A., Saulnier L., Jamme F., Miquel M. A comprehensive overview of grain development in *Brachypodium distachyon* variety Bd21 // *J. Exp. Bot.* 2012. V. 63. № 2. P. 739–755. DOI: [10.1093/jxb/err298](https://doi.org/10.1093/jxb/err298)
63. Hable W.E., Hart P.E. Signaling mechanisms in the establishment of plant and fucoid algal polarity // *Mol. Reprod. Dev.* 2010. V. 77. № 9. P. 751–758. DOI: [10.1002/mrd.21199](https://doi.org/10.1002/mrd.21199)
64. Hadfi K., Speth V., Neuhaus G. Auxin-induced developmental patterns in *Brassica juncea* embryos // *Development.* 1998. V. 125. № 5. P. 879–887. DOI: [10.1242/dev.125.5.879](https://doi.org/10.1242/dev.125.5.879)
65. Hakman I., Hallberg H., Palovaara J. The polar auxin transport inhibitor NPA impairs embryo morphology and increases the expression of an auxin efflux facilitator protein PIN during *Picea abies* somatic embryo development // *Tree Physiol.* 2009. V. 29. № 4. P. 483–496. DOI: [10.1093/treephys/tpn048](https://doi.org/10.1093/treephys/tpn048)
66. Hand M.L., de Vries S., Koltunow A.M.G. Melanie L. Hand, Sacco de Vries, Koltunow A.M.G. A Comparison of In Vitro and In Vivo Asexual Embryogenesis // *In Vitro*

- Embryogenesis in Higher Plants / Eds Germana M.A., Lambardi M. Springer, Humana Press, 2016. P. 3–23. DOI: [10.1007/978-1-4939-3061-6_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3061-6_1)
67. Harnvanichvech Y., Gorelova V., Sprakel J., Weijers D. The *Arabidopsis* embryo as a quantifiable model for studying pattern formation // *Quant plant Biol.* 2021. V. 2: e3. DOI: [10.1017/qpb.2021.3](https://doi.org/10.1017/qpb.2021.3)
68. Hause B., Hause G., Pechan P., van Lammeren A.A.M. Cytoskeletal changes and induction of embryogenesis in microspore and pollen cultures of *Brassica napus* L. // *Cell. Biol. Int.* 1993. V. 17. № 2. P. 153–168. DOI: [10.1006/cbir.1993.1052](https://doi.org/10.1006/cbir.1993.1052)
69. Hause B., van Veenendaal W.L.H., Hause G., van Lammeren A.A.M. Expression of polarity during early development of microspore-derived and zygotic embryos of *Brassica napus* L. cv. Topas. // *Bot. Acta.* 1994. V. 107. № 6. P. 407–415. DOI: [10.1111/j.1438-8677.1994.tb00815.x](https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1994.tb00815.x)
70. Horstman A., Bemmer M., Boutilier K. A transcriptional view on somatic embryogenesis // *Regeneration.* 2017. V. 4, № 41. P. 201–216. DOI: [10.1002/reg2.91](https://doi.org/10.1002/reg2.91)
71. Hudson A. Development of symmetry in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2000. V. 51. P. 349–370. DOI: [1040-2519/00/0601-0349\\$14.00](https://doi.org/10.1040-2519/00/0601-0349$14.00)
72. Indrianto A., Barinova I., Touraev A., Heberle-Bors E. Tracking individual wheat microspores in vitro: identification of embryogenic microspores and body axis formation in the embryo // *Planta.* 2001. V. 212. № 2. P. 163–174. DOI: [10.1007/s004250000375](https://doi.org/10.1007/s004250000375)
73. Ilic-Grubor K., Attree S.M., Fowke L.C. Comparative morphological study of zygotic and microspore-derived embryos of *Brassica napus* L. as revealed by scanning electron microscopy // *Ann. Bot.* 1998. V. 82. № 2. P. 157–165. DOI: [10.1006/anbo.1998.0661](https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0661)
74. *In Vitro* Embryogenesis in Higher Plants / Eds Germana M.A., Lambardi M. Springer, Humana Press, 2016. 558 p. DOI: [10.1007/978-1-4939-3061-6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3061-6)
75. Joshi R., Kumar P. Regulation of somatic embryogenesis in crops: a review // *Agri. Reviews.* 2013. V. 34, № 1. P. 1–20.
76. Jürgens G. Axis formation in plant embryogenesis : cues and clues // *Cell.* 1995. V. 81. № 4. P. 467–470.
77. Kaplan D.R., Cooke T.J. Fundamental concepts in the embryogenesis of dicotyledons: a morphological interpretation of embryo mutants // *Plant Cell.* 1997. V. 9. № 11. P. 1903–1919. DOI: [10.1105/tpc.9.11.1903](https://doi.org/10.1105/tpc.9.11.1903)
78. Khanday I., Sundaresan V. Plant zygote development: recent insights and applications to clonal seeds // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2021. V. 59: 101993. DOI: [10.1016/j.pbi.2020.101993](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.101993)
79. Li D.X., Chen S.J. Tian H.Q. Advances in the study of zygote activation in higher plants // *Zygote.* 2021. V. 29. № 1. P.12-19. DOI: [10.1105/tpc.5.6.621](https://doi.org/10.1105/tpc.5.6.621)
80. Maraschin S.F., Vennik M., Lamers G.E.M., Spaink H.P., Wang M. Time-lapse tracking of barley androgenesis reveals position determined cell death within pro-embryos // *Planta.* 2005. V. 220. № 4. P. 531–540. DOI: [10.1007/s00425-004-1371-x](https://doi.org/10.1007/s00425-004-1371-x)
81. Liu C.-M., Xu Z.-H., Chua N.-H. Auxin polar transport is essential for the establishment of bilateral symmetry during early plant embryogenesis // *Plant Cell.* 1993. V. 5. № 6. P. 621–630. DOI: [10.1105/tpc.5.6.621](https://doi.org/10.1105/tpc.5.6.621)
82. Massonneau A., Coronado M.-J., Audran A., Bagniewska A., Mol R., Testillano P.S., Goralski G., Dumas C., Risueno M.-C., Matthys-Rochon E. Multicellular structures developing during maize microspore culture express endosperm and embryospesific genes and show different embryogenic potentialities // *Eur. J. Cell Biol.* 2005. V. 84.

- № 7. P. 663–675. DOI: [10.1016/j.ejcb.2005.02.002](https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2005.02.002)
83. Mathew M.M., Philip V.J. Somatic embryogenesis versus zygotic embryogenesis in *Ensete superbum* // Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 2003. V. 72. « 3. P. 267–275. DOI: [10.1023/A:1022311126043](https://doi.org/10.1023/A:1022311126043)
84. Mayer K.F., Schoof H., Haecker A., Lenhard M., Jürgens G., Laux T. Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem // Cell. 1998. V. 95. № 6. P. 805–815. DOI: [10.1016/s0092-8674\(00\)81703-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81703-1)
85. Méndez-Hernández H.A., Ledezma-Rodríguez M., Avilez-Montalvo R.N., Juárez-Gómez Y.L., Skeete A., Avilez-Montalvo J., De-la-Peña C., Loyola-Vargas V.M. Signaling Overview of Plant Somatic Embryogenesis // Front. Plant Sci. 2019. V. 10: 77. DOI: [10.3389/fpls.2019.00077](https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00077)
86. Möller B., Weijers D. Auxin control of embryo patterning // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2009. V. 1. № 3. DOI: [10.1101/cshperspect.a001545](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001545)
87. Nomura K., Komamine A. Identification and isolation of single cells that produce somatic embryos at a high frequency in a carrot cell suspension culture // Plant Physiol. 1985. V. 79. № 4. P. 988–991. DOI: [10.1104/pp.79.4.988](https://doi.org/10.1104/pp.79.4.988)
88. Norstog K. Early development of the barley embryo: fine structure // Amer. J. Bot. 1972. V. 59. № 2. P. 123–132. DOI: <https://doi.org/10.2307/2441390>
89. Obert B., Barnabas B. Colchicine induced embryogenesis in maize // Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 2004. V. 77. № 3. P. 283–285. DOI: [10.1023/B:TICU.0000018399.60106.33](https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000018399.60106.33)
90. Pasternak T., Prinsen E., Ayaydin F., Miskolczi P., Potters G., van Onckelen H., Dudits D., Feher A. The role of auxin, pH and stress in the activation of embryogenic cell division in leaf protoplast-derived cells of alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Plant Physiol. 2002. V. 129. № 4. P. 1807–1819. DOI: [10.1104/pp.000810](https://doi.org/10.1104/pp.000810)
91. Prem D., Solis M.-T., Barany I., Rodriguez-Sanz H., Risueno M.C., Testillano P.S. A new microspore embryogenesis system under low temperature which mimics zygotic embryogenesis initials, expresses auxin and efficiently regenerates doubled-haploid plants in *Brassica napus* // BMC Plant Biol. 2012. V. 12. № 8. P. 127–144. DOI: [10.1186/1471-2229-12-127](https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-127)
92. Pulido A., Bakos F., Devic M., Barnabas B., Olmedilla A. *HvPGI* and *ECA1*: two genes activated transcriptionally in the transition of barley microspores from the gametophytic to the embryogenic pathway // Plant Cell Rep. 2009. V. 28. № 4. P. 551–559. DOI: [10.1007/s00299-008-0662-2](https://doi.org/10.1007/s00299-008-0662-2)
93. Raghavan V. Double fertilization. Embryo and endosperm development in flowering plants. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2006. 237 p.
94. Ramalho J.J., Arnold Shivas Jones V., Mutte S., Weijers D. Pole position: How plant cells polarize along the axes // Plant Cell. V. 34. № 1. P. 174–192. DOI: [10.1093/plcell/koab203](https://doi.org/10.1093/plcell/koab203)
95. Rubtsova M., Gnad H., Melzer M., Weyen J., Gils M. The auxins centrophenoxine and 2,4-D differ in their effects on non-directly induced chromosome doubling in anther culture of wheat (*T. aestivum* L.) // Plant Biotechnol. Rep. 2013. V. 7. № 3. P. 247–255. DOI: [10.1007/s11816-012-0256-x](https://doi.org/10.1007/s11816-012-0256-x)
96. Russell S.D. The egg cell: development and role in fertilization and early embryogenesis // Plant Cell. 1993. V. 5. № 10. P. 1349–1359.
97. Rycbczynski J.J., Simonson R.L., Baenziger P.S. Evidence for microspore embryogenesis in wheat anther culture // *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 1991. V. 27. № 4. P. 168–174.

[DOI: 10.1007/BF02632212](https://doi.org/10.1007/BF02632212)

98. Schrick K., Mayer U., Horrichs A., Kuhnt C., Bellini C., Dangel J., Schmidt J., Jürgens G. *FACKEL* is a sterol C-14 reductase required for organized cell division and expansion in *Arabidopsis* embryogenesis // *Gen. Dev.* 2000. V. 14. № 12. P.1471–1484.
99. Segui-Simarro J.M., Nuez F. How microspores transform into haploid embryos: changes associated with embryogenesis induction and microspore-derived embryogenesis // *Physiol. Plant.* 2008. V. 134. № 1. P. 1–12. [DOI: 10.1111/j.1399-3054.2008.01113.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01113.x)
100. Schiavone F.M., Cooke T.J. Unusual patterns of somatic embryogenesis in domesticated carrot: developmental effects of exogenous auxins and auxin transport inhibitors // *Cell Differ.* 1987. V. 21. № 1. P. 53–62. [DOI: 10.1016/0045-6039\(87\)90448-9](https://doi.org/10.1016/0045-6039(87)90448-9)
101. Solis M.-T., Pintos B., Prado M.-J., Bueno M.-A., Raska I., Risueno M.-C., Testillano P.S. Early markers of *in vitro* microspore reprogramming to embryogenesis in olive (*Olea europaea* L.) // *Plant. Sci.* 2008. V. 174. № 6. P. 597–605. [DOI: 10.1016/j.plantsci.2008.03.014](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.03.014)
102. Soriano M., Li H., Boutilier K. Microspore embryogenesis: establishment of embryo identity and pattern in culture // *Plant Reprod.* 2013. V. 26. № 3. P. 181–196. [DOI: https://doi.org/10.1007/s00497-013-0226-7](https://doi.org/10.1007/s00497-013-0226-7)
103. Soriano M., Cistue L., Castillo A. Enhanced induction of microspore embryogenesis after η -butanol treatment in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture // *Plant Cell Rep.* 2008. V. 27. № 5. P. 805–811. [DOI: 10.1007/s00299-007-0500-y](https://doi.org/10.1007/s00299-007-0500-y)
104. Sheridan W.F., Clark J.K. Mutational analysis of morphogenesis of the maize embryo // *Plant J.* 1993. V. 3. № 2. P. 347–358. [DOI: 10.1111/j.1365-313X.1993.tb00186.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.1993.tb00186.x)
105. Schiavone F.M., Cooke T.J. Unusual patterns of somatic embryogenesis in domesticated carrot: developmental effects of exogenous auxins and auxin transport inhibitors // *Cell Differ.* 1987. V. 21. № 1. P. 53–62. [DOI: 10.1016/0045-6039\(87\)90448-9](https://doi.org/10.1016/0045-6039(87)90448-9)
106. Simmonds D.H., Keller W.A. Significance of preprophase bands of microtubules in the induction of microspore embryogenesis of *Brassica napus* // *Planta.* 1999. V. 208. № 3. P. 383–391. [DOI: https://doi.org/10.1007/s004250050573](https://doi.org/10.1007/s004250050573)
107. Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications / Eds Loyola-Vargas V., Synthetic Seeds: Germplasm Regeneration, Preservation and Prospects / Eds Faisal M., Alatar A.A. Springer, Cham, 2019. 482 p. [DOI: 10.1007/978-3-030-24631-0](https://doi.org/10.1007/978-3-030-24631-0)
108. Soriano M., Li H., Boutilier K. Microspore embryogenesis: establishment of embryo identity and pattern in culture // *Plant Reprod.* 2013. V. 26. № 3. P. 181–196. [DOI: 10.1007/s00497-013-0226-7](https://doi.org/10.1007/s00497-013-0226-7)
109. Souter M., Lindsey K. Polarity and signalling in plant embryogenesis // *J. Exp. Bot.* 2000. V. 51. № 347. P. 971–983. [DOI: 10.1093/jexbot/51.347.971](https://doi.org/10.1093/jexbot/51.347.971)
110. Straatman K.R., Nijse J., Kieft H., van Aelst A.C., Schel J.H.N. Nuclear pore dynamics during pollen development and androgenesis in *Brassica napus* // *Sex. Plant Reprod.* 2000. V. 13. № 1. P. 43–51. [DOI: 10.1007/PL00009841](https://doi.org/10.1007/PL00009841)
111. Sunderland N., Evans L.J. Multicellular pollen formation in cultured barley anthers. II. The A, B and C pathways // *J. Exp. Bot.* 1980. V. 31. № 2. P. 501–514. [DOI: 10.1093/jxb/31.2.501](https://doi.org/10.1093/jxb/31.2.501)
112. Supena E.D.J., Winarto B., Riksen T., Dubas E., van Lammeren A., Offringa R., Boutilier K., Custers J. Regeneration of zygotic-like microspore-derived embryos suggests an important role for the suspensor in early embryo patterning // *J. Exp. Bot.* 2008. V. 59. № 4. P. 803–814. [DOI: 10.1093/jxb/erm358](https://doi.org/10.1093/jxb/erm358)

113. Tang X.C., He Y.Q., Wang Y., Sun M.X. The role of arabinogalactan proteins binding to Yariv reagents in the initiation, cell developmental fate, and maintenance of microspore embryogenesis in *Brassica napus* L. cv. Topas // J. Exp. Bot. 2006. V. 57. № 11. P. 2639–2650. DOI: [10.1093/jxb/erl027](https://doi.org/10.1093/jxb/erl027)
114. Tang X.C., Liu Y., He Y.Q., Ma L., Sun M.X. Exine dehiscing induces rape microspore polarity, which results in different daughter cell fate and fixes the apical-basal axis of the embryo // J. Exp. Bot. 2013. V. 64. № 1. P. 215–228. DOI: [10.1093/jxb/ers327](https://doi.org/10.1093/jxb/ers327)
115. Tang L.P., Zhang X.S., Su Y.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)
116. Telmer C.A., Newcomb W., Simmonds D.H. Cellular changes during heat shock induction and embryo development of cultured microspores of *Brassica napus* cv. Topas // Protoplasma. 1995. V. 185. № 1–2. P. 106–112. DOI: [10.1007/BF01272758](https://doi.org/10.1007/BF01272758)
117. Tian H., Sun M.X. Embryoid formation and plantlet regeneration from exine-dehiscid microspores in *Brassica* L. cv. Topas // Acta Agron. Sin. 2003. V. 29. № 1. P. 49–53.
118. Toonen M.A.J., Hendriks T., Schmidt E.D.L., Verhoeven H.A., van Kammen A, de Vries S.C. Description of somatic-embryoforming single cells in carrot suspension cultures employing video cell tracking // Planta. 1994. V. 194. P. 565–572. DOI: [10.1007/BF00714471](https://doi.org/10.1007/BF00714471)
119. Torres-Ruiz R.A., Jurgens G. Mutations in the *FASS* gene uncouple pattern formation and morphogenesis in *Arabidopsis* development // Development. 1994. V. 120. № 10. P. 2967–2978. DOI: [10.1242/dev.120.10.2967](https://doi.org/10.1242/dev.120.10.2967)
120. Touraev A., Lezin F., Heberle-Bors E., Vicente O. Maintenance of gametophytic development after symmetrical division in tobacco microspore culture // Sex. Plant Reprod. 1995. V. 8. № 2. P. 70–76. DOI: [10.1007/BF00230891](https://doi.org/10.1007/BF00230891)
121. Ueda M., Zhang Z., Laux T. Transcriptional activation of *Arabidopsis* axis patterning genes *WOX8/9* links zygote polarity to embryo development // Dev Cell. 2011. V. 20. № 2. P. 264–270. DOI: [10.1016/j.devcel.2011.01.009](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.01.009)
122. Uvakova L., Takac T., Boehm N., Obert B., Samaj J. Proteomic and biochemical analysis of maize anthers after cold pretreatment and induction of androgenesis reveals an important role of anti-oxidative enzymes // J. Proteomics. 2012. V. 75. № 6. P. 1886–1894. DOI: [10.1111/nph.12267](https://doi.org/10.1111/nph.12267)
123. Vaddepalli P., de Zeeuw T., Strauss S., Bürstenbinder K., Liao C.-Y., Smith R., Weijers D. A molecular framework for control of oriented cell division in the *Arabidopsis* embryo // Cold Spring Harb. Lab. Preprint. DOI: [10.1101/2021.02.09.430440](https://doi.org/10.1101/2021.02.09.430440)
124. Von Arnold S., Sabala I., Bozhkov P., Dyachok J., Filonova L. Developmental pathways of somatic embryogenesis // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2002. V.69. № 3. P. 233–249. DOI: [10.1023/A:1015673200621](https://doi.org/10.1023/A:1015673200621)
125. Wang K., Chen H., Miao Y., Bayer M. Square one: zygote polarity and early embryogenesis in flowering plants // Curr. Opin. Plant Biol. 2020. V. 53. P. 128–133. DOI: [10.1016/j.pbi.2019.10.002](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.10.002)
126. Wendrich J.R., Weijers D. The *Arabidopsis* embryo as a miniature morphogenesis model // New Phytologist. 2013. V. 199. № 1. P. 14–25. DOI: [10.1111/nph.12267](https://doi.org/10.1111/nph.12267)
127. West M., Harada J.J. Embryogenesis in higher plants: an overview // Plant Cell. 1993. V. 5. № 10. P. 1361–1369.
128. Winkelmann T. Somatic Versus Zygotic Embryogenesis: Learning from Seeds // *In Vitro*

- Embryogenesis in Higher Plants / Eds Germana M.A., Lambardi M. Springer, Humana Press, 2016. P. 24–45. DOI: [10.1007/978-1-4939-3061-6_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3061-6_2)
129. Yeung E.C. The canola microspore-derived embryo as a model system to study developmental processes in plants // *J. Plant Biol.* 2002. V. 45. № 3. P. 119–133. DOI: [10.1007/BF03030304](https://doi.org/10.1007/BF03030304)
130. Yeung E.C., Meinke D.W. Embryogenesis in angiosperms: development of the suspensor // *Plant Cell.* 1993. V. 5. № 10. P. 1371–1381. DOI: [10.1105/tpc.5.10.1371](https://doi.org/10.1105/tpc.5.10.1371)
131. Yeung E.C., Rahman M.H., Thorpe T.A. Comparative development of zygotic and microspore-derived embryos in *Brassica napus* L. cv. Topas. I. Histodifferentiation // *Intern. J. Plant Sci.* 1996. V. 157. № 1. P. 27–39. DOI: [10.1086/297317](https://doi.org/10.1086/297317)
132. Zaki M.A.M., Dickinson H.G. Modification of cell development *in vitro*: The effect of colchicine on anther and isolated microspore culture in *Brassica napus* // *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 1995. V. 40. № 3. P. 255–270. DOI: [10.1007/BF00048132](https://doi.org/10.1007/BF00048132)
133. Zamani I., Kovacs G., Gouli-Vavdinoudi E., Roupakias D. G., Barnabas B. Regeneration of fertile doubled haploid plants from colchicine-supplemented media in wheat anther culture // *Plant Breed.* 2000. V. 119. № 6. P. 461–465. DOI: [10.1046/j.1439-0523.2000.00538.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00538.x)
134. Zhang Z., Laux T. The asymmetric division of the *Arabidopsis* zygote: from cell polarity to an embryo axis // *Sex. Plant Reprod.* 2011. V. 24. № 2. P. 161–169. DOI: [10.1007/s00497-010-0160-x](https://doi.org/10.1007/s00497-010-0160-x)
135. Zonia L.E., Tupy J. Lithium treatment of *Nicotiana tabacum* microspores blocks polar nuclear migration, disrupts the partitioning of membrane-associated Ca²⁺, and induces symmetrical mitosis // *Sex. Plant Reprod.* 1995. V. 8. № 3. P. 152–160. DOI: [10.1007/BF00242260](https://doi.org/10.1007/BF00242260)

Цитировать как

Сельдимирова О.А., Абрамов С.Н. К вопросу о становлении симметрии и полярности в эмбриогенезе *in vitro* и эмбриогенезе *in vivo* // Экобиотех, 2023, Т. 6 № 4. С. 241-261. DOI: [10.31163/2618-964X-2023-6-4-241-261](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-4-241-261) EDN: XGNDEJ

Cited as

Seldimirova O.A.*, Abramov S.N. On the question of the symmetry and polarity establishment in embryodogenesis *in vitro* and embryogenesis *in vivo*. *Èkobioteh.* 2023, V. 6 (4). P. 241-261. DOI: [10.31163/2618-964X-2023-6-4-241-261](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2023-6-4-241-261) EDN: XGNDEJ (In Rus.)