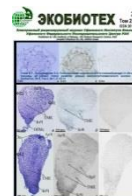




# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИУК В ПОЛИЭМБРИОИДАХ *IN VITRO* У ПШЕНИЦЫ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ: ДАННЫЕ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Галин И.Р., Сельдимирова О.А.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального  
исследовательского центра РАН, Уфа  
E-mail: [o\\_seldimirova@mail.ru](mailto:o_seldimirova@mail.ru)

С использованием метода иммуногистохимического анализа изучены особенности распределения эндогенной ИУК в полиэмбриоидах *in vitro* у яровой мягкой пшеницы на разных стадиях развития. 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.

**Ключевые слова:** пшеница, *Triticum aestivum* L., полиэмбриоид *in vitro*, иммунолокализация, ИУК

## DISTRIBUTION OF ENDOGENOUS IAA IN POLYEMBRYOIDS *IN VITRO* IN WHEAT AT DIFFERENT DEVELOPMENT STAGES: THE DATA OF IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS

Galin I.R., Seldimirova O.A

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre  
of the Russian Academy of Sciences, Ufa  
E-mail: [o\\_seldimirova@mail.ru](mailto:o_seldimirova@mail.ru)

Using the method of immunohistochemical analysis, the peculiarities of endogenous IAA distribution in polyembryoids *in vitro* in spring soft wheat at different developmental stages were studied. It was established that polyembryoids *in vitro* during the transition from the blastomerization phase to the organogenesis phase were characterized by a uniform intensity of immunohistochemical staining of apical part cells. Based on the obtained data, it was suggested that it is the homogeneous distribution of endogenous auxin IAA in the cells of the apical part of polyembryoids *in vitro* during the transition from the blastomerization phase to the organogenesis phase causes the formation of multiple scutella and their respective apical shoot meristems.

**Keywords:** wheat, *Triticum aestivum* L., polyembryoid *in vitro*, immunolocalization, IAA

Поступила в редакцию: 12.02.2018

DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-1-63-74](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-1-63-74)

## ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных подходов к изучению различных аспектов морфогенеза растений является создание экспериментальных систем размножения растений, основанных на культивировании *in vitro* клеток растений. Одна из таких систем – андроклиния, биологический феномен которой состоит в переключении программы развития гаплоидных клеток пыльника под действием внешнего стрессового фактора с обычного гаметофитного пути, связанного с образованием пыльцевого зерна, на иной путь – спорофитный, состоящий в формировании гаплоидного растения-регенеранта. При этом клетки реализуют свой морфогенетический потенциал различными путями морфогенеза *in vitro* [Круглова, 2001; Эмбриологические основы..., 2005; От микроспоры..., 2010; Круглова, Сельдимирова, 2011]. Один из путей спорофитного развития гаплоидных клеток пыльника – прямой эмбриоидогенез (формирование эмбриоида – биполярной зародышеподобной структуры – непосредственно из морфогенетически компетентной клетки пыльника) [Сельдимирова и

др., 2004; Эмбриологические основы..., 2005; От микроспоры..., 2010; Круглова, Сельдиминова, 2011; Сельдиминова, Круглова, 2014а; Сельдиминова и др., 2017б].

Ранее нами при культивировании *in vitro* изолированных пыльников пшеницы, наряду с формированием эмбриоидов, сходных по строению с зиготическими зародышами, было выявлено формирование структур с измененным типом полярности и симметрии, что выражалось в образовании в их апикальной части множественных щитков, апикальных меристем побегов, а в базальной части нередко – множественных корней [Сельдиминова, Галин, 2013; Сельдиминова и др., 2013, 2015; Сельдиминова, Круглова, 2014б; Титова и др., 2016]. Мы предлагаем использовать применительно к этим структурам термин «полиэмбриоиды», по аналогии с термином «полиэмбрионы», приведенном в работе М.С.Яковлева и Д.П.Снегирева [Яковлев, Снегирев, 1954] и «polyembryo», приведенном в работе С. Fischer с соавт. [Fischer et al, 1997].

Ранее нами было установлено, что в своем развитии полиэмбриоиды *in vitro* проходят фазы, характерные для зиготических зародышей и сходных с ними по строению эмбриоидов: инициальная клетка, фаза бластомеризации, фаза органогенеза, сформированный полиэмбриоид [Титова и др., 2016]. При этом выявлены структурные механизмы формирования полиэмбриоидов *in vitro*: изменение полярности и симметрии, состоящее в формировании в апикальных частях полиэмбриоидов множественных щитков и соответствующих им апикальных меристем побега, ориентированных различным образом (дорзально, вентрально или латерально друг к другу) и обычно объединенных одним общим корневым полюсом, а также частые конгенитальные срастания нескольких органов (щитков, колеоптилей или апикальных меристем побегов) в единую синтетическую структуру.

В то же время гормональные механизмы формирования полиэмбриоидов *in vitro* не изучены, хотя гормональный фактор является ключевым в формировании полярности и симметрии растений при инициации органов. Особая роль при этом принадлежит ауксинам, в частности распределению эндогенной индолил-3-уксусной кислоте (ИУК) – универсальному ауксину у всех растений [Медведев, 2012].

В связи с этим цель данной работы состояла в изучении распределения ИУК в полиэмбриоидах *in vitro* и зародышах *in vivo* у пшеницы при переходе от фазы бластомеризации к фазе органогенеза и на начальных этапах фазы органогенеза.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужил сорт яровой мягкой пшеницы Жница, характеризующаяся высокой частотой образования *in vitro* морфогенных структур. Для экспериментов использовали донорные растения, выращенные в полевых условиях научного стационара Уфимского Института биологии УФИЦ РАН.

Для получения полиэмбриоидов применяли метод культуры *in vitro* изолированных пыльников яровой мягкой пшеницы [Круглова, Батыгина, 2002] с использованием питательной среды Potato II [Chuang, Ouyang, 1978] в качестве индукционной.

Фиксацию растительного материала для иммуногистохимического анализа проводили в 4 %-ном растворе карбодиимида (Sigma, Япония), приготовленном на 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.3) в течение 4 час под вакуумом. Для последующей постфиксации тканей

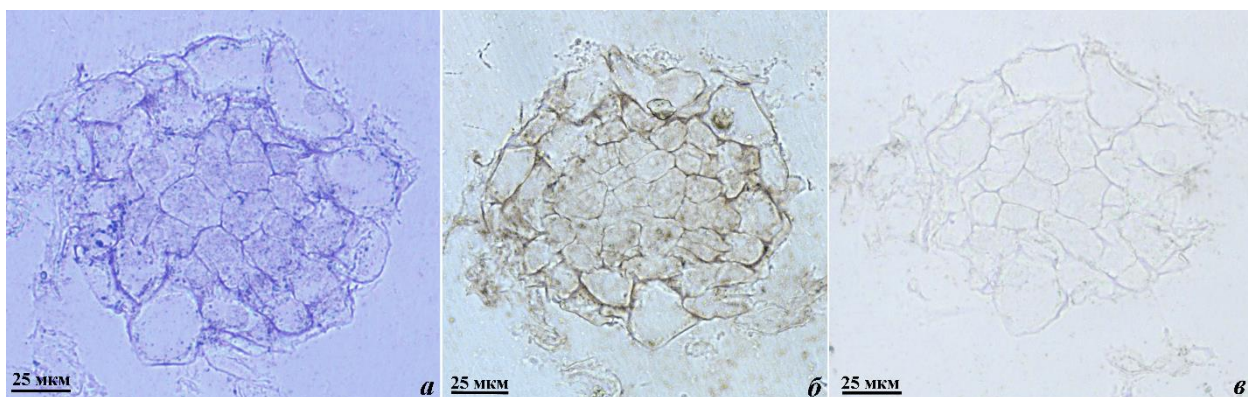
зародыши помещали в смесь 4 %-ного параформальдегида (Riedel-de-Haën, Германия) и 0.1 %-ного глютаральдегида (Sigma, Германия) на 0.1 М фосфатном буфере и оставляли на ночь в холодильной камере. Далее образцы отмывали в 0.1 М фосфатном буфере (рН=7.3), обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заключали в гидрофильную метакрилатную смолу JB4 (Electron Microscopy Sciences, США). Полутонкие срезы (3 мкм) готовили при помощи микротомы НМ 325 (Microm, Германия). Для иммуногистохимического анализа использовали специфические антитела, которые успешно использовали ранее для иммунолокализации ИУК [Высоцкая и др., 2007; Seldimirova et al., 2016]. Для выявления эндогенной ИУК на срезы наносили иммунную сыворотку в разведении 1:50. Разведения антител готовили на ФоЖТ (0.1 М фосфатный буфер, содержащий 0.2 % желатина и 0.05 % Tween 20). Для оценки специфичности окрашивания часть срезов обрабатывались неиммунной сывороткой, не содержащей антитела к ИУК. Затем срезы после трехкратной промывки в 0.1 М фосфатном буфере, содержащем 0.05 % Tween 20 (ФоТ), обрабатывали мечеными коллоидным золотом вторыми антителами в разведении 1:40 (Aurion, USA) и инкубировали во влажной камере 1 час. После промывки в ФоТ срезы обрабатывали препаратом серебряного усилителя (Aurion, USA) для детекции гормона.

Для гистологического мониторинга часть срезов окрашивали толуидиновым синим [Lynn, 1965].

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

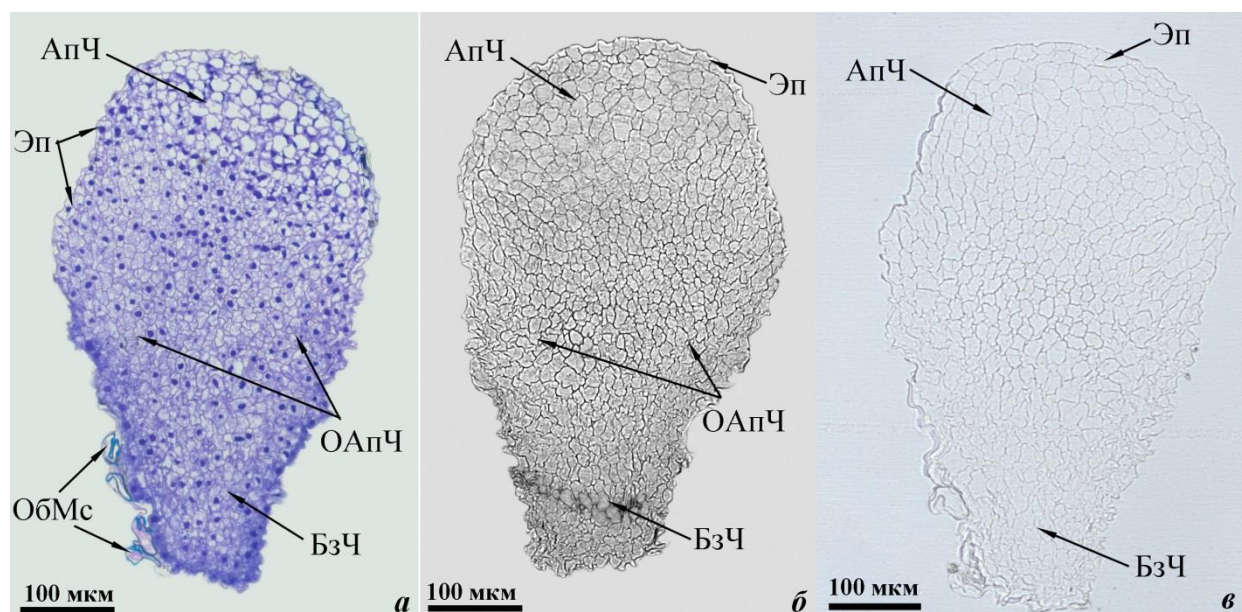
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ распределения эндогенной ИУК в клетках полиэмбриодов в фазе бластомеризации показал, что иммуногистохимически окрашивается цитоплазма всех клеток, за исключением их самого внешнего слоя (где интенсивность окрашивания была очень слабой), при этом распределение эндогенной ИУК в окрашенных клетках было равномерным (рис. 1).



**Рис. 1. Иммунолокализация ИУК в полиэмбриоиде в фазе бластомеризации.** *а* – гистологический контроль, *б* – срез, обработанный иммунной сывороткой, *в* – контрольный срез, обработанный нормальной сывороткой.

В полиэмбриодах со сформированной апикально-базальной осью полярности и находящихся на стадии перехода к органогенезу выявлено равномерное окрашивание клеток эпидермы и собственно апикальной части полиэмбриоида (рис. 2). Интенсивность окрашивания в клетках эпидермы была такой же, как и в клетках собственно апикальной части полиэмбриоида (рис. 2б). Клетки базальной части окрашивались более интенсивно, чем клетки апикальной части. Такая же картина наблюдалась в зоне таблитчатых меристематических клеток, расположенной в основании апикальной части полиэмбриоида и топографически соответствующей зоне будущей инициации корня и колеоризы.

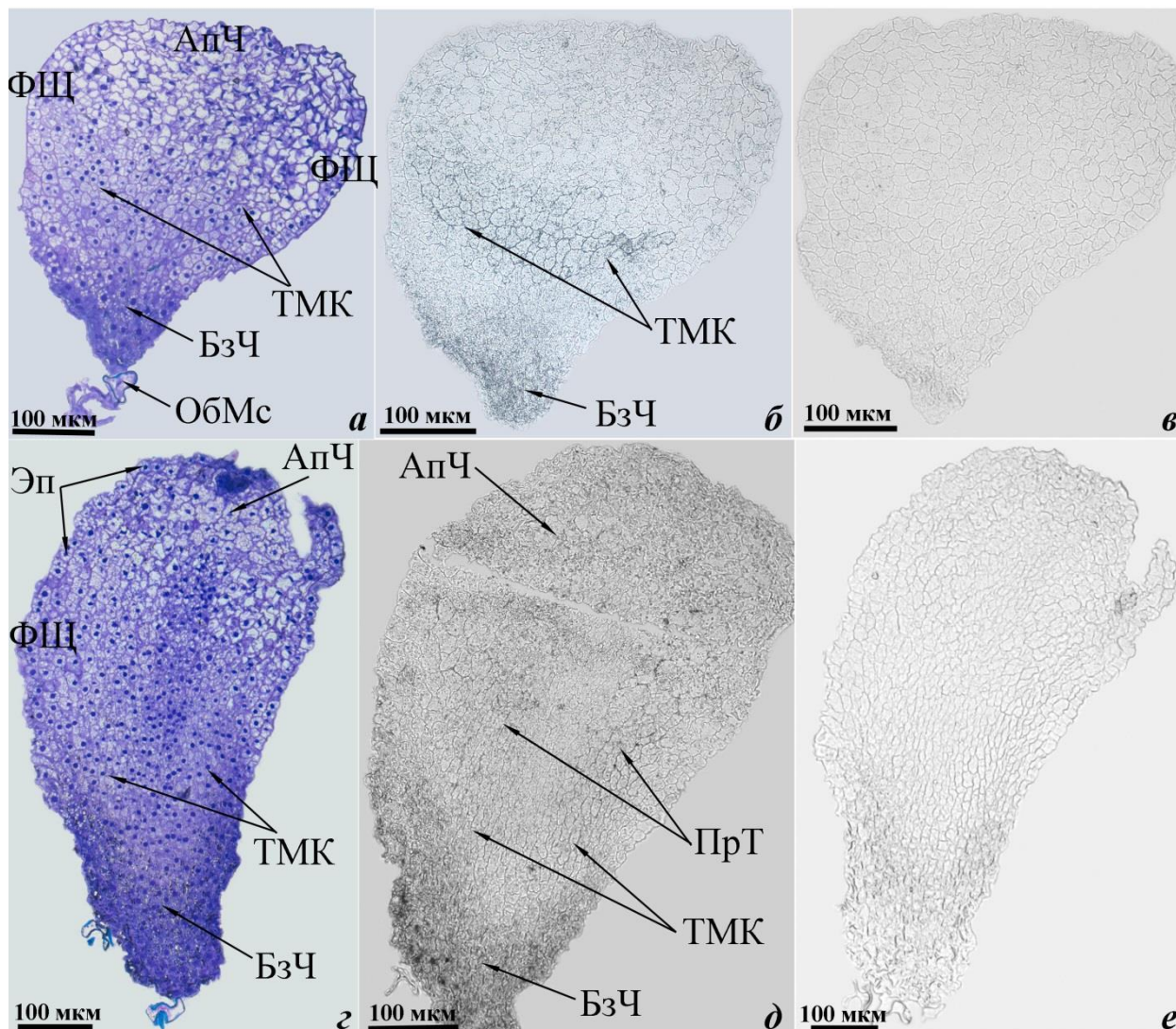


**Рис. 2. Иммуногистохимическая локализация ИУК в клетках полиэмбриоида со сформированной апикально-базальной осью полярности при переходе к фазе органогенеза.** *а* – гистологический контроль, *б* – срез, обработанный иммунной сывороткой, *в* – контрольный срез, обработанный нормальной сывороткой. *Условные обозначения:* Апч – апикальная часть, БзЧ – базальная часть, ОАпЧ – основание апикальной части, ОбМс – оболочка микроспоры, Эп – эпидерма.

На начальных этапах органогенеза (в момент инициации щитков) появлялся четкий градиент иммуногистохимического окрашивания (рис. 3).

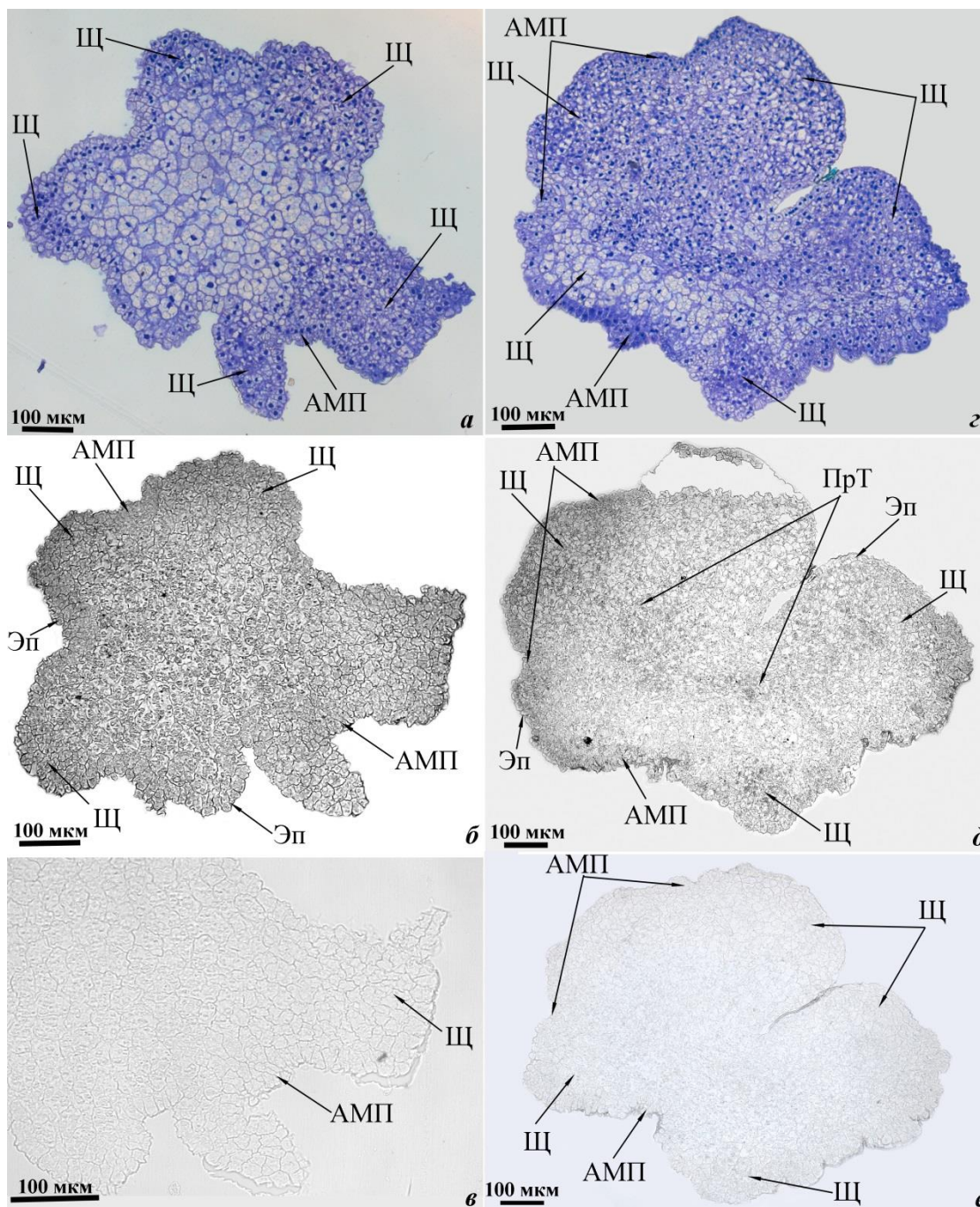
Интенсивно окрашивались клетки апикальной части, таблитчатые меристематические клетки в ее основании, клетки прокамбиальных тяжей, формирующихся в направлении от базальной зоны таблитчатых меристематических клеток к местам инициации щитков и апикальных меристем, и клетки дистального участка базальной части полиэмбриоида. Наиболее интенсивное иммуногистохимическое окрашивание наблюдалось в клетках дистального участка базальной части полиэмбриоида (рис. 3в, д). Клетки апикальной части полиэмбриоида, формирующихся прокамбиальных тяжей и базальной зоны таблитчатых меристематических клеток окрашивались менее интенсивно (рис. 3в, д). На этой стадии развития наблюдалось гомогенное распределение эндогенной ИУК во всех клетках апикальной части полиэмбриоида (рис. 3д). Клетки эпидермы характеризовались той же

степенью иммуногистохимического окрашивания, что и клетки апикальной части полиэмбриоида (рис. 3б, д).



**Рис. 3. Иммулокализация ИУК в клетках полиэмбриоида в начале фазы органогенеза на стадии инициации щитков.** Серия продольных срезов через один и тот же полиэмбриоид. *а, г* – гистологический контроль, *б, д* – срезы, обработанные иммунной сывороткой, *в, е* – контрольные срезы, обработанные нормальной сывороткой. *Условные обозначения:* АпЧ – апикальная часть, БзЧ – базальная часть, ОБМс – оболочка микроспоры, ТМК – таблитчатые меристематические клетки, ПрТ – прокамбиальный тяж, ФЩ – формирующийся щиток, Эп – эпидерма.

Далее, во время инициации апикальных меристем побега наиболее интенсивное иммуногистохимическое окрашивание обнаруживалось в клетках щитков, в клетках соответствующих им апикальных меристем побегов и клетках кольцевидной системы тяжей прокамбия, отходящих к щиткам и формирующимся апикальным меристемам побегов, в клетках эпидермы формирующихся органов (рис. 4).



**Рис. 4. Иммунолокализация ИУК в клетках полиэмбриоида в фазе органогенеза.** Серия поперечных срезов через апикальную часть одного и того же полиэмбриоида. *а, г* – гистологический контроль, *б, д* – срезы, обработанные иммунной сывороткой, *в, е* – контрольные срезы, обработанные нормальной сывороткой. Условные обозначения: АМП – апикальная меристема побега, ПрТ – прокамбиальный тяж, Щ – щиток, Эп – эпидерма.

Эпидермальные клетки апикальной части полиэмбриоида окрашивались более интенсивно в местах инициации щитков и соответствующих им меристем побега (рис. 4*б, д*), чем в тех участках апикальной части полиэмбриоида, где инициации органов не наблюдалось. Остальные клетки апикальной части полиэмбриоида окрашивались менее интенсивно. Такая же картина сохранялась и в ходе дальнейшего развития.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Хорошо известно, что ауксины играют важную роль в процессах роста и развития, многие из которых зависят от полярного транспорта ауксина в органах и тканях [Jenik, Barton, 2005; Weijers, Jürgens, 2005; Petrasek, Friml, 2009; Медведев, 2012; Розов и др., 2013; Prasad, Dhonukshe, 2013 и мн. др.]. 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 растений [Медведев, 2012; Розов и др., 2013]. Эксперименты в культуре *in vitro* с эмбриоидами различного происхождения и изолированными зиготическими зародышами показали зависимость формирования эмбриональных паттернов от транспорта ауксина и его распределения [Schiavone, Cooke, 1987; Liu et al., 1993; Fischer, Neuhaus, 1996; Fischer et al., 1997; Hadfi et al., 1998; Fischer-Iglesias et al., 2001].

Моделирование потоков ауксина и его распределения основано, главным образом, на экспериментальном выявлении локализации его переносчиков в клетках растений. При этом в качестве объекта исследований чаще всего используют такое модельное растение, как арабидопсис [Friml et al., 2003; Weijers et al., 2005; Kramer, 2008; Mravec et al., 2008; Möller, Weijers, 2009; Fozard et al., 2013] и, в отдельных случаях, злаки [Forestan, et al., 2010]. Такие модели в некоторых случаях подтверждены с помощью искусственных репортерных конструкций, позволяющих оценить уровень гормонов по экспрессии чувствительных к гормонам генов, которая проявляется в ферментативной активности или люминесценции в клетках трансформированных растений. При этом исследования также проводились преимущественно с использованием арабидопсиса [Friml et al., 2003; 2004; Zhang et al., 2010; Rademacher et al., 2012]. Это связано с тем, что трансформировать двудольные растения гораздо проще, чем однодольные. Как следствие информация о транспорте и распределении ауксина в однодольных растениях весьма ограничена.

Так, у пшеницы было проведено изучение распределения меченного экзогенного ауксина в зародышах, выращенных *in planta*, и зародышах с множественными щитками и соответствующими им апикальными меристемами побегов, полученных *in vitro* в результате обработки ингибитором полярного транспорта ауксина N-1-нафтилфталамовой кислоты (НФК) [Fischer-Iglesias et al., 2001]. Однако экстраполяция данных по экзогенным гормонам на эндогенную гормональную систему не всегда правомочна.

Кроме того, описанные выше методы имеют один общий недостаток – исследования можно проводить только на свежем материале.

Одно из решений такой проблемы – применение иммуногистологической локализации фитогормонов, в том числе ИУК, с помощью антител, меченных коллоидным золотом [Veselov et al., 1992; Веселов, 1998; Высоцкая и др., 2007]. Этот метод позволяет выявлять присутствие гормонов в клетках обычных нетрансформированных растений, в том числе, злаков. Неоспоримое преимущество этого метода – возможность получения срезов из материала, заключенного как в эпоксидные смолы, так и в парафин, что обеспечивает длительную сохранность препаратов, и, тем самым, удобство для исследования и регистрации данных.

С использованием этого метода нами ранее было изучено распределение эндогенной ИУК в клетках зародышей пшеницы *in vivo* в динамике развития [Сельдимирова и др.,

2017а]. Так, многоклеточный зародыш в фазе бластомеризации перед переходом к органогенезу характеризовался интенсивным иммуногистохимическим окрашиванием клеток апикальной части и отсутствием окрашивания в базальной части. В момент перехода от фазы бластомеризации к фазе органогенеза и на начальных этапах органогенеза наиболее интенсивное иммуногистохимическое окрашивание наблюдалось в местах инициации органов зародыша [Сельдимирова и др., 2017а].

В отличие от зародышей *in vivo* полиэмбриоиды *in vitro* характеризовались равномерным распределением ИУК в клетках апикальной части, как в фазе бластомеризации, так и в момент перехода к фазе органогенеза (рис. 1б, 2б, 3д). Это может быть следствием влияния экзогенной 2,4-Д, входящей в состав питательной среды.

2,4-Д относится к слабым липофильным кислотам, которые легко могут диффундировать по градиенту концентрации из питательной среды в культивируемые экспланты через плазмалемму [Гамбург и др., 1990; Швецов, Еникеев, 2011]. Предполагают, что имеет место и активный транспорт, что доказывается экспериментами с применением ингибитора полярного транспорта ауксина – трийодбензойной кислоты [Bronsema et al., 1996]. Следует отметить, что скорость поступления 2,4-Д в экспланты очень высока [Bronsema et al., 1998; Швецов, Еникеев, 2011]. Так, количественное измерение [ $^{14}\text{C}$ ] 2,4-Д через 16 часов воздействия показало стократное увеличение содержания 2,4-Д в культивируемых зародышах кукурузы по сравнению с первоначальной концентрацией [ $^{14}\text{C}$ ] 2,4-Д в среде [Bronsema et al., 1998]. При этом показано, что максимальное количество поглощенной 2,4-Д локализуется в участке экспланта, противоположным тому, который находится в контакте с питательной средой [Bronsema et al., 1998].

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 эмбриоидов [Chee, Cantliffe, 1989; Michalczuk et al., 1992; Cooke, Cohen, 1993; Rodriguez, Wetzstein, 1998]. Полиэмбриоиды формируются при более высокой концентрации 2,4-Д, чем та, которая необходима для формирования эмбриоидов, повторяющих развитие зиготических зародышей. Возможно, что повышение концентрации 2,4-Д ведет к значительному накоплению ее в клетках полиэмбриоида, и, как следствие, к нарушению полярного транспорта эндогенной ИУК. Вполне вероятно, что равномерное распределение ИУК в полиэмбриоиде при переходе к органогенезу (рис. 3д) может быть следствием нарушения ее полярного транспорта под воздействием экзогенной 2,4-Д. В свою очередь, поступление ИУК в морфогенетически компетентные клетки апикальной части полиэмбриоида приводит к инициации множественных щитков и соответствующих им апикальных меристем побега. Нельзя исключать и возможность инициации множественных щитков в результате ауксиновой активности 2,4-Д, накапливающейся в клетках апикальной части полиэмбриоида. Однако эти предположения требуют доказательств и дальнейших исследований.

Во время формирования апикальной меристемы побега наиболее интенсивное иммуногистохимическое окрашивание наблюдается в зоне инициации корневой меристемы, прокамбиальных тяжах, отходящих к щиткам, в самих щитках и в формирующихся апикальных меристемах побега (рис. 4б, д). В целом же полученные нами данные демонстрируют, что на этой стадии развития в полиэмбриоидах осуществляется полярный

транспорт ауксина. «Восстановление» полярного транспорта ауксина может быть следствием нейтрализации воздействия 2,4-Д в результате ее деградации в клетках полиэмбриоида или выделением ее обратно в питательную среду. Способность клеток поглощать и накапливать 2,4-Д, а затем выделять ее, показана в экспериментах с использованием изолированных зародышей кукурузы [Bronesma et al., 1996, 1998], а также суспензионных культур сои [Швецов, Еникеев, 2011] и табака [Delbarre et al., 1996]. Кроме того, выделению наружу 2,4-Д клетками полиэмбриоидов возможно способствует перенос полиэмбриоидов в момент перехода к органогенезу на питательную среду для регенерации, не содержащую 2,4-Д.

Таким образом, нами было установлено, что гомогенное распределение ИУК в апикальной части полиэмбриоидов на стадии перехода от фазы бластомеризации к фазе органогенеза – одна из возможных причин формирования множественных щитков и соответствующих им апикальных меристем побегов.

Полученные данные еще раз подтверждают важную (и, по-видимому, определяющую) роль ауксинов в формировании паттернов трехмерной организации растительного организма и становления его полярности и симметрии. Переход от гомогенного распределения эндогенной ИУК к гетерогенному – основной фактор смены типов полярности и симметрии, а направленные потоки ауксина – основные индукторы органогенеза у растений [Медведев, 2012; Розов и др., 2013].

Изучение различных аспектов формирования полиэмбриоидов *in vitro* представляет несомненный интерес, поскольку оно позволит внести вклад в решение таких фундаментальных проблем биологии как механизмы становления полярности и симметрии в процессе эмбриогенеза растений, морфологическая природа органов зародыша однодольных растений и эволюционное становление однодольности.

В исследованиях использовали приборную базу 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. Веселов С.Ю. Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста. Уфа: БашГУ. 1998. 138 с.
2. Высоцкая Л.Б., Веселов С.Ю., Веселов Д.С., Филиппенко В.Н., Иванов Е.А., Иванов И.И., Кудоярова Г.Р. Иммуногистохимическая локализация и количественное определение ИУК при исследованиях регуляции роста корней // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 6. С. 926–931.
3. Гамбург К.З., Рекославская Н.И., Швецов С.Г. Ауксины в культурах тканей и клеток растений. Новосибирск: Наука, 1990. 243 с.
4. Круглова Н.Н. Морфогенез в культуре пыльников пшеницы: эмбриологический подход. Уфа: Гилем. 2001. 203 с.
5. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б. Методические рекомендации по использованию морфогенетического потенциала пыльника в биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы. Уфа: ИБ УНЦ РАН. 2002. 32 с.

6. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цитогистологические аспекты. Уфа: Гилем. 2011. 124 с.
7. Медведев С.С. Механизмы формирования и физиологическая роль полярности в растениях // Физиология растений. 2012. Т. 59. № 4. С. 543–555.
8. От микроспоры – к сорту / Т.Б. Батыгина, Н.Н. Круглова, В.Ю. Горбунова, Г.Е. Титова, О.А. Сельдимирова. М.: Наука. 2010. 174 с.
9. Розов С.М., Загорская А.А., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Ауксин: биосинтез, метаболизм, транспорт // Успехи соврем. биологии. 2013. Т. 133. № 1. С. 50–62.
10. Сельдимирова О.А., Абрамов С.Н., Круглова Н.Н. Развитие микроспориальных эмбриодов в культуре *in vitro* пыльников пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. 2004. Т. 36. № 4. С. 320–326.
11. 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.
12. 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. 2017а. № 3(1). С. 114–118.
13. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Титова Г.Е., Батыгина Т.Б. Сравнительный ультраструктурный анализ формирующихся микроспориальных эмбриоидов *in vitro* и зиготических зародышей *in vivo* пшеницы как основа понимания цитофизиологических аспектов их развития // Онтогенез. 2017б. Т. 48. № 3. С. 220–233. DOI: [10.7868/S0475145017030119](https://doi.org/10.7868/S0475145017030119)
14. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Андроклиный эмбриодогенез *in vitro* злаков // Успехи соврем. биологии. 2014а. Т. 134. № 5. С. 503–514.
15. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Формирование полиэмбриоидов в культуре *in vitro* как этап биотехнологии клонирования пшеницы // Известия Уфимского НЦ РАН. 2014б. № 1. С. 22–26.
16. Сельдимирова О.А., Титова Г.Е., Галин И.Р., Круглова Н.Н. Структурные механизмы становления симметрии у микроспориальных эмбриоидов пшеницы: данные сканирующей электронной микроскопии // Известия Самарского НЦ РАН. 2013. Т. 15. № 3(5). С. 1676–1679.
17. 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.
18. 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](https://doi.org/10.7868/S047514501603006X)
19. Швецов С.Г., Еникеев А.Г. Поглощение, выделение 2,4-Д и рубидия в суспензионной культуре клеток сои в зависимости от рН среды и наличия 2,4-динитрофенола // Физиология и биохимия культ. растений. 2011. Т. 43. № 4. С. 339–343.
20. 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.
21. Яковлев М.С., Снегирев Д.П. Влияние ростовых веществ на образование многозародышевых зерновок у пшеницы // Ботан. журнал. 1954. Т. 39. № 2. С. 187–194.

22. 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. DOI: [10.1016/S0176-1617\(96\)80135-0](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80135-0)
23. Bronsema F.B.F., van Oostveen W.J.F., Prinsen E., van Lammeren A.A.M. Distribution of [<sup>14</sup>C] dichlorophenoxyacetic acid in cultured zygotic embryos of *Zea mays* L. // J. Plant Growth Regul. 1998. V. 17. № 2. P. 81–88. DOI: [10.1007/PL00007021](https://doi.org/10.1007/PL00007021)
24. Chée R.P., Cantliffe D.J. Inhibition of somatic embryogenesis in response to 2,3,5-triiodobenzoic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in *Ipomoea batatas* (L.) Lam. Cultured *in vitro* // J. Plant Physiol. 1989. V. 135. № 3. P. 398–403. DOI: [10.1016/S0176-1617\(89\)80094-X](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(89)80094-X)
25. Chuang Ch.-Ch., Ouyang T.-W. A set of potato media for wheat anther culture // Sympos. on Plant Tissue Culture: Proceed. Peking: Sci. Press., 1978. P. 52–56.
26. Cooke T.J., Cohen J.D. The role of auxin in plant embryogenesis // Plant Cell. 1993. V. 5. № 11. P. 1494–1495. DOI: [10.1105/tpc.5.11.1494](https://doi.org/10.1105/tpc.5.11.1494)
27. Delbarre A., Muller P., Imhoff V., Guern J. Comparison of mechanisms controlling uptake and accumulation of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, naphthalene-1-acetic acid, and indole-3-acetic acid in suspension-cultured tobacco cells // Planta. 1996. V. 198. № 4. P. 532–541. DOI: [10.1007/BF00262639](https://doi.org/10.1007/BF00262639)
28. 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)
29. 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)
30. 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)
31. 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)
32. Fozard J.A., King J.R., Bennett M.J. Modelling auxin efflux carrier phosphorylation and localization // J. Theor. Biol. 2013. V. 319. P. 34–49. DOI: [10.1016/j.jtbi.2012.11.011](https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2012.11.011)
33. 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)
34. Friml J., Yang X., Michniewicz M., Weijers D., Quint A., Tietz O., Benjamins R., Ouwerkerk P.B., Ljung K., Sandberg G., Hooykaas P.J., Palme K., Offringa R. A PINOID-dependent binary switch in apical-basal PIN polar targeting directs auxin efflux // Science. 2004. V. 306. № 5697. P. 862–865. DOI: [10.1126/science.1100618](https://doi.org/10.1126/science.1100618)
35. Hadfi K., Speth V., Neuhaus G. Auxin-induced developmental patterns in *Brassica juncea* embryos // Development. 1998. V. 125. № 5. P. 879–887.
36. Jenik P.D., Barton M.K. Surge and destroy: the role of auxin in plant embryogenesis // Development. 2005. V. 132. № 16. P. 3577–3585. DOI: [10.1242/dev.01952](https://doi.org/10.1242/dev.01952)
37. Kramer E.M. Computer models of auxin transport: a review and commentary // J. Exp. Bot. 2008. V. 59. № 1. P. 45–53. DOI: [10.1093/jxb/erm060](https://doi.org/10.1093/jxb/erm060)

38. 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.5.6.62](https://doi.org/10.1105/tpc.5.6.62)
39. Lynn J.A. Rapid toluidine blue staining of Epon-embedded and mounted «adjacent» sections // *Amer. J. Clin. Path.* 1965. V. 44. № 1. P. 57–58.
40. Michalczyk 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)
41. Möller B., Weijers D. Auxin control of embryo patterning // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009. V. 1. № 5: a001545/ DOI: [10.1101/cshperspect.a001545](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001545)
42. Mravec J., Kubeš M., Bielach A., Gaykova V., Petrášek J., Skupa P., Chand S., Benková E., Zažímalová E., Friml J. Interaction of PIN and PGP transport mechanisms in auxin distribution-dependent development // *Development*. 2008. V. 135. № 20. P. 3345–3354. DOI: [10.1242/dev.021071](https://doi.org/10.1242/dev.021071)
43. 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)
44. Prasad K., Dhonukshe P. Polar auxin transport: cell polarity to patterning // *Polar auxin transport / Eds R.Chen, F. Baluska*. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2013. P. 25–44. DOI: [10.1007/978-3-642-35299-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-35299-7_2)
45. Rademacher E.H., Lokerse A.S., Schlereth A., Llavata-Peris C.I., Bayer M., Kientz M., Rios A.F., Borst J.W., Lukowitz W., Jurgens G. Different auxin response machineries control distinct cell fates in the early plant embryo // *Dev. Cell*. 2012. V. 22. № 1. P. 211–222. DOI: [10.1016/j.devcel.2011.10.026](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.10.026)
46. 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)
47. 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)
48. 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.
49. Veselov S.U., Kudoyarova G.R., Egutkin N.L., Guili-Zade V.Z., Mustafina A.R., Kof E.M. Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole-3-acetic acid // *Physiol. Plant*. 1992. V. 86. № 1. P. 93–96. DOI: [10.1111/j.1399-3054.1992.tb01316.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb01316.x)
50. Weijers D., Jürgens G. Auxin and embryo axis formation: the ends in sight? // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2005. V. 8. № 1. P. 32–37. DOI: [10.1016/j.pbi.2004.11.001](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.11.001)
51. Zhang J., Nodzyński T., Penčík A., Rolčík J., Friml J. PIN phosphorylation is sufficient to mediate PIN polarity and direct auxin transport // *PNAS*. 2010. V. 107. № 2. P. 918–922. DOI: [10.1073/pnas.0909460107](https://doi.org/10.1073/pnas.0909460107)