



ЭМБРИОИДОГЕННАЯ СПОСОБНОСТЬ КАЛЛУСОВ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ *IN VITRO* ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ БАЛАНСОМ СОДЕРЖАНИЯ ЭНДОГЕННЫХ ФИТОГОРМОНОВ

Сельдимирова О.А., Галин И.Р., Круглова Н.Н., Веселов Д.С.

Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, Уфа, 450054, пр. Октября, 69, E-mail: o_seldimirova@mail.ru

Резюме

Изучали влияние соотношения концентраций эндогенных фитогормонов (ИУК, АБК и цитокининов) в каллусах пшеницы сорта Башкирская 26 и ячменя сорта Steptoe и его АБК-дефицитного мутанта AZ34. Установлено, что в каллусах с различной способностью к эмбриоидогенезу наиболее сильно изменялось относительное содержание ИУК в сравнении с другими гормонами. Относительные содержания АБК и цитокининов изменялись незначительно. Абсолютные значения содержания цитокининов были сходными во всех типах каллусов у обоих изученных злаков. Эмбриоидогенные каллусы характеризовались повышенным уровнем содержания ИУК по отношению к АБК и цитокининам. В неэмбриоидогенных каллусах наблюдалось значительное увеличение относительного содержания ИУК по отношению к АБК и цитокининам. Обсуждается роль эндогенных фитогормонов в индукции эмбриоидогенеза. Сделан вывод об определяющей роли баланса ИУК и АБК в эмбриоидогенной способности каллусов.

Ключевые слова: пшеница, ячмень, каллус, эмбриоидогенез, эндогенные фитогормоны

Цитирование: Сельдимирова О.А., Галин И.Р., Круглова Н.Н., Веселов Д.С. Эмбриоидогенная способность каллусов пшеницы и ячменя *in vitro* определяется балансом содержания эндогенных фитогормонов. *Биомика*. 2018. Т. 10(4). С. 381-386. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-49

EMBRYOIDOGENIC ABILITY OF WHEAT AND BARLEY CALLI *IN VITRO* IS DETERMINED BY THE BALANCE OF ENDOGENOUS PHYTOHORMONES

Seldimirova O.A., Galin I.R., Kruglova N.N., Veselov D.S.

Ufa Institute of Biology – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Russia, Ufa, 450054, Prospect Oktyabrya 69, E-mail: o_seldimirova@mail.ru

Resume

The influence of the ratio of the concentrations of endogenous phytohormones (IAA, ABA and cytokinins) in calli of wheat (cv. Bashkirskaya 26) and barley (cv. Steptoe and its ABA-deficient mutant AZ34) was studied. It was established that in the calli with different embryoidogenic ability the relative content of IAA was most strongly changed in comparison with other hormones. The relative contents of ABA and cytokinins did not change significantly. Absolute values of cytokinin content were similar in all types of calli in both studied cereals. Embryoidogenic calli were characterized by an elevated level of IAA in relation to ABA and cytokinins. In non-embryoidogenic calli there was a significant increase in the relative content of IAA in relation to ABA and cytokinins. The role of endogenous phytohormones in the induction

of embryoidogenesis is discussed. A conclusion was drawn on the determining role of the balance of IAA and ABA in the embryoidogenic ability of calli.

Keywords: wheat, barley, callus, embryoidogenesis, endogenic phytohormones

Citation: Seldimirova O.A., Galin I.R., Kruglova N.N., Veselov D.S. Embryoidogenic ability of wheat and barley calli *in vitro* is determined by the balance of endogenous phytohormones. *Biomics*. 2018. V. 10(4). P. 381-386. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-49 (In Russian)

Введение

Эффективность соматического эмбриогенеза (СЭ) в каллусных культурах *in vitro* в значительной степени определяет практическую значимость растительных биотехнологий. Установлено, что способность каллусов к эмбриоидогенезу зависит от многих факторов, важнейший из которых – гормональный. Роль подбора оптимальных концентраций экзогенных фитогормонов в индукции СЭ и повышении эмбриоидогенной способности каллусов хорошо изучена [Jiménez, Thomas, 2006; Сельдимирова, Круглова (Seldimirova, Kruglova), 2015; Nic-Can, Loyola-Vargas, 2016]. Влияние же эндогенных гормонов на способность клеток каллуса к дифференцировке по пути эмбриоидогенеза исследовано недостаточно [Jiménez, Thomas, 2006]. Высказано мнение, что компетентность клеток к СЭ в значительной степени обусловлена количеством и соотношением эндогенных регуляторов роста, однако данные об участии эндогенных фитогормонов в этих процессах весьма ограничены [Dolgikh et al., 2003; Jiménez, Thomas, 2006]. В то же время, лучшее понимание взаимосвязи между концентрациями эндогенных гормонов в клетках каллусов с их компетентностью к СЭ позволит расширить диапазон генотипов растений, клонирование которых в культуре *in vitro* основано на феномене эмбриоидогенеза.

В связи с этим цель работы заключалась в изучении содержания в каллусах эндогенных фитогормонов (АБК, ИУК, и цитокининов (ЦК)) и влияния соотношения их концентраций на способность каллусов к СЭ.

Материалы и методы

Объектом исследования послужили зародышевые каллусы пшеницы (сорт Башкирская 26) и ячменя (сорт Steptoe и его АБК-дефицитный мутант AZ34). Донорные растения выращивали в полевых условиях научного стационара Уфимского Института биологии РАН (Уфимский район Республики Башкортостан). В качестве эксплантов для индукции каллуса использовали незрелые зародыши на 13-15 сутки после массового цветения. Базовой питательной средой для индукции каллусогенеза служила среда, содержащая макро- и

микросоли и витамины по прописи Мурасиге-Скуга (МС) [Murashige, Skoog, 1962]. Для получения каллусов пшеницы использовали базовую среду, дополненную 2.0 или 5.0 мг/л 2,4-Д. Часть каллусов, полученных на среде с 2.0 мг/л культивировали в течение полугода на среде того же состава, пересаживая каллусы на свежую среду каждые 4 недели [Круглова, Сельдимирова (Kruglova, Seldimirova), 2011]. Для получения каллусов ячменя использовали базовую среду, дополненную 0.5 мг/л 6-БАП и 12.5 мг/л $\text{CuSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ или 0.5 мг/л 6-БАП, 12.5 мг/л $\text{CuSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ и 0.5 мг/л АБК [Сельдимирова и др. (Seldimirova et al.), 2017]. Содержание эндогенных гормонов определяли методом твердофазного иммуоферментного анализа [Веселов (Veselov), 1998]. При расчете относительного соотношения количества гормонов за единицу принимали абсолютное значение содержания в каллусах АБК.

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

Результаты и обсуждение

Ранее нами [Круглова, Сельдимирова (Kruglova, Seldimirova), 2011] было установлено, что культивирование *in vitro* незрелых зародышей пшеницы на среде МС, дополненной 2.0 мг/л 2,4-Д, вело к формированию эмбриоидогенных каллусов (ЭК), компетентных к СЭ при переносе их на безгормональную среду МС. Культивирование же незрелых зародышей на среде МС, дополненной 5.0 мг/л 2,4-Д, вело к формированию неэмбриоидогенных каллусов (НЭК), не способных формировать эмбриониды. Кроме того, было выявлено, что длительное культивирование *in vitro* каллусов на среде МС, дополненной 2.0 мг/л 2,4-Д, приводило к потере каллусами компетентности к СЭ.

В ходе выполнения экспериментов было изучено содержание эндогенных фитогормонов в каллусах пшеницы, различающихся по компетентности к СЭ. Полученные данные отражены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание эндогенных фитогормонов в каллусах пшеницы
Table 1. The levels of endogenous phytohormones in wheat calli

Тип каллуса Callus type	Содержание эндогенных фитогормонов, нг/г сырой массы The levels of endogenous phytohormones, ng/g of fresh weight			Относительное содержание эндогенных фитогормонов The relative levels of endogenous phytohormones		
	АБК ABA	ИУК IAA	ЦК cytokinins	АБК ABA	ИУК IAA	ЦК cytokinins
ЭК EC	1.1±0.1	13.1±1.2	1.3±1.2	1	11.9	1.2
НЭК-5 NEC-5	0.7±0.1	16.8±1.5	1.2±0.1	1	24	1.7
НЭК-дк NEC-lc	1.0±0.2	21.4±2.1	1.8±0.3	1	21.8	1.8

ЭК – эмбриоидогенные каллусы, НЭК-5 – неэмбриоидогенные каллусы, полученные на среде, дополненной 5.0 мг/л 2,4-Д, НЭК-дк – неэмбриоидогенные каллусы, полученные в результате длительного культивирования на среде, дополненной 2.0 мг/л 2,4-Д

EC – embryoidogenic calli, NEC-5 – non-embryoidogenic calli, obtained on medium, supplemented with 5.0 mg/l 2,4-D, NEC-lc – non-embryoidogenic calli, obtained as a result of long cultivation on medium, supplemented with 2.0 mg/l 2,4-D.

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что ЭК пшеницы характеризуются относительно высоким уровнем содержания ИУК и низкими уровнями содержания АБК и ЦК (относительное соотношение количества АБК : ИУК : ЦК составило приблизительно 1 : 12 : 1). НЭК пшеницы, полученные на среде с высоким содержанием 2,4-Д, характеризовались 2-кратным увеличением содержания ИУК и цитокининов по отношению к АБК (соотношение АБК : ИУК : ЦК составило приблизительно 1 : 24 : 2). Интересно, что такая же картина наблюдалась и для НЭК, полученных в результате длительного культивирования (соотношение АБК : ИУК : ЦК составило приблизительно 1 : 22 : 2).

Согласно данным, полученным нами ранее [Сельдимирова и др., 2017], способные к регенерации каллусы ячменя сорта Steptoe были получены при культивировании незрелых зародышей *in vitro* на среде МС, дополненной 0.5 мг/л 6-БАП и 12.5 мг/л $\text{CuSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Каллусы АБК-дефицитного мутанта ячменя AZ34, полученные на той же среде характеризовались очень низкой способностью к регенерации, которая значительно повышалась при добавлении в среду для индукции каллусогенеза 0.5 мг/л АБК. Проведенный нами гистологический анализ [Сельдимирова и др., неопубл. (Seldimirova et al., unpublished)], показал, что регенерация в каллусах ячменя сорта Steptoe осуществляется посредством эмбриоидогенеза. В каллусах АБК-дефицитного мутанта ячменя AZ34, полученных на среде без добавления экзогенной АБК наблюдается «затухание» процесса СЭ – происходит остановка эмбриоидогенеза на ранних стадиях развития.

Включение экзогенной АБК в среду для индукции каллусогенеза у AZ34 ведет к нормальному развитию в каллусах эмбриоидов и последующей регенерации из них растений.

Данные по содержанию эндогенных фитогормонов в каллусах ячменя приведены в таблице 2, из которой видно, что ЭК ячменя сорта Steptoe (как и ЭК пшеницы) характеризуются относительно высоким уровнем содержания ИУК и низкими уровнями содержания АБК и ЦК (относительное соотношение количества АБК : ИУК : ЦК составило приблизительно 1 : 7 : 3). У НЭК АБК-дефицитного мутанта ячменя AZ34, полученных при тех же условиях, что и ЭК родительской формы, но характеризующихся торможением процесса СЭ, было отмечено увеличение содержания ИУК (значительное) и ЦК по отношению к АБК (соотношение АБК : ИУК : ЦК составило приблизительно 1 : 22 : 6). ЭК AZ34, полученные на среде с добавлением АБК, формировали полноценные эмбриоиды, а относительное содержание в них АБК : ИУК : ЦК составило приблизительно 1 : 2 : 1.

Таким образом, полученные нами данные позволяют подтвердить предположение, что ИУК – ключевой эндогенный гормон при индукции СЭ. ЭК, как пшеницы, так и ячменя, характеризуются более низким соотношением концентраций эндогенных ИУК:АБК по сравнению с НЭК, что совпадает с мнением других исследователей [Dolgikh et al., 2003; Jiménez, Thomas, 2006; Zhou et al., 2017]. Такое мнение подтверждается результатами исследований [Dolgikh et al., 2003], показавшими возможность усиления эмбриоидогенной способности каллусов

кукурузы, путем культивирования зародышей на среде для индукции каллусогенеза, содержащей ко-факторы ИУК-оксидазы – пара-кумаровую кислоту

или 2,4-дихлорфенол, или в результате обработки зародышей экзогенной АБК.

Таблица 2

Содержание эндогенных фитогормонов в каллусах ячменя
Table 1. The levels of endogenous phytohormones in barley calli

Тип каллуса Callus type	Содержание эндогенных фитогормонов, нг/г сырой массы The levels of endogenous phytohormones, ng/g of fresh weight			Относительное содержание эндогенных фитогормонов The relative levels of endogenous phytohormones		
	АБК ABA	ИУК IAA	ЦК cytokinins	АБК ABA	ИУК IAA	ЦК cytokinins
ЭК (Step toe) ЕС (Step toe)	2.7±0.5	19.8±2.4	7.8±1.1	1	7.3	2.9
ЭК (AZ34) ЕС (AZ34)	9.1±1.2	16.0±1.3	6.2±0.8	1	1.8	0.7
НЭК (AZ34) NEC (AZ34)	1.2±0.2	26.4±2.3	7.7±0.5	1	22	6.4

ЭК (Step toe) – эмбриогенные каллусы исходного сорта, ЭК (AZ34) – эмбриогенные каллусы АБК-дефицитного мутанта, полученные на среде, дополненной экзогенной АБК в концентрации 0.5 мг/л, НЭК (AZ34) – неэмбриогенные каллусы АБК-дефицитного мутанта, полученные на среде без добавления экзогенной АБК.

ЕС – embryoidogenic calli of original cultivar, NEC (AZ34) – non-embryoidogenic calli of ABA-deficient mutant, obtained on medium, supplemented with 0.5 mg/l exogenous ABA, NEC-(AZ34) – non-embryoidogenic calli of ABA-deficient mutant, obtained on medium, without exogenous ABA.

НЭК обоих изученных злаков характеризуются значительным увеличением содержания эндогенной ИУК, а также повышением содержания ЦК по сравнению с АБК. Можно предположить, что такое высокое содержание ИУК и цитокининов значительно повышает пролиферативную активность каллусов и тем самым делает невозможным переход каллусных клеток к дифференциации. НЭК пшеницы, полученные на средах с высоким содержанием 2,4-Д, а также путем длительного культивирования каллусов на среде с 2,4-Д свидетельствуют в пользу мнения о возможности увеличения концентрации эндогенных ауксинов под влиянием экзогенных синтетических ауксинов. В работе [Ribnicky et al., 1996] показано, что 2,4-Д способствовала накоплению эндогенной ИУК, повышение концентрации которой, в свою очередь, поддерживало пролиферативное состояние каллусов и препятствовало инициации СЭ. Удаление же 2,4-Д из среды вело к снижению уровня эндогенного ауксина и делало возможным дифференциацию и созревание эмбриоидов. Кроме того, того 2,4-Д сама легко проникает в культивируемые экспланты [Bronsema et al., 1998; Швецов, Еникеев (Shvetsov, Enikeev), 2009] и используется клетками как ауксин [Ribnicky et al., 1996; Швецов, Еникеев (Shvetsov, Enikeev), 2009], поскольку синтетические аналоги ауксина, в том

числе и 2,4-Д, эффективно связываются с рецепторами ауксина [Song, 2014].

Также, увеличение содержания ИУК и ЦК по отношению к АБК в НЭК обоих злаков можно объяснить антагонистическими взаимодействиями АБК и ауксинов/цитокининов [Sun, Li, 2014]. Это особенно четко видно на примере НЭК у AZ34: очень низкие абсолютные значения содержания АБК в клетках каллусов приводят к значительному увеличению концентраций ИУК и ЦК.

Кроме того, отличия в содержании эндогенной АБК в каллусах AZ34, культивируемых *in vitro* на средах с внесением и без экзогенной АБК наглядно демонстрирует важную роль эндогенной АБК в процессе СЭ, которая достаточно хорошо изучена [Alwael et al., 2017; Zhou et al., 2017 и мн. др.].

В литературе имеются данные о том, что именно уровни эндогенных ЦК являются маркером компетентности клеток каллусов к инициации СЭ [Besse et al., 1992]. Однако следует отметить тот факт, что абсолютные значения концентрации цитокининов во всех вариантах исследования были сходными. На основании этих данных можно сделать вывод, что определяющую роль в способности каллусов к индукции СЭ играет соотношение концентраций именно эндогенных ИУК и АБК.

Таким образом, в условиях выполненных экспериментов эмбриогенная способность

кallусов изученных злаков определяется балансом эндогенных ИУК и АБК. Полученные данные дают возможность искусственного повышения способности к индукции СЭ и в целом к регенерации растений в каллусной культуре *in vitro* злаков.

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

Работа выполнена при частичной поддержке грантом РФФИ №17-04-01477.

Литература

1. Веселов С.Ю. Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста. Уфа: БашГУ, 1998. 138 с.
2. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*: цито-гистологические аспекты. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
3. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Баланс эндогенных и экзогенных гормонов и пути морфогенеза в андроклиновых каллусах пшеницы *in vitro* // *Известия Уфимского НЦ РАН*. 2015. № 1. С. 33–39.
4. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н., Веселов Д.С., Яновская А.А. Оптимизация состава питательной среды для индукции каллусообразования у ячменя сорта Steptoe и его АБК-дефицитного мутанта AZ34 // *Биомика*. 2017. Т. 9. С. 298–303.
5. Швецов С.Г., Еникеев А.Г. Поглощение и выделение клетками сои 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты в суспензионной культуре // *Физиология и биохимия культурных растений*. 2009. Т. 43. С.339–343.
6. Alwael H.A., Naik P.M., Al-Khayri J.M. Synchronization of somatic embryogenesis in date palm suspension culture using abscisic acid // *Date Palm Biotechnology Protocols Volume I. Methods in Molecular Biology*. V. 1637 / Eds Al-Khayri J., Jain S., Johnson D. Humana Press, New York, 2017. P. 215–226. DOI: 10.1007/978-1-4939-7156-5_18
7. Besse I., Verdeil J. L., Duval Y., Sotta B., Maldiney R., Miginiac R. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Clonal fidelity: Endogenous cytokinins and indoleacetic acid in embryogenic callus cultures // *J. Exp. Bot.* 1992. V. 43. P. 983–989. DOI: 10.1093/jxb/43.7.983
8. 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. P. 363–371. DOI: 10.1016/S0176-1617(96)80135-0
9. Dolgikh Y.I., Pustovoitova T.N., Zhdanova N.E. Hormonal Regulation of Somatic Embryogenesis on Maize // *Phytohormones in Plant Biotechnology and Agriculture* / Eds Macháčková I., Romanov G.A. Springer, Dordrecht, 2003. P. 243–247. DOI:10.1007/978-94-017-2664-1_22
10. Jiménez V.M., Thomas C. Participation of Plant Hormones in Determination and Progression of Somatic Embryogenesis // *Somatic Embryogenesis. Plant Cell Monographs*, V. 2 / Eds Mujib A., Šamaj J. Springer, Berlin, Heidelberg, 2006. P. 103–118. DOI: 10.1007/7089_034
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures // *Physiol Plant.* 1962. V. 15. P. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
12. Nic-Can G.I., Loyola-Vargas V.M. The Role of the auxins during somatic embryogenesis // *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications* / Eds Loyola-Vargas V., Ochoa-Alejo N. Springer, Cham, 2016. P. 171–182. DOI: 10.1007/978-3-319-33705-0_10
13. Ribnicky D.M., Ilic N., Cohen J.D., Cooke T.J. The effects of exogenous auxins on endogenous indole-3-acetic acid metabolism (The implications for carrot somatic embryogenesis) // *Plant Physiol.* 1996. V. 112. P. 549–558. DOI: 10.1104/pp.112.2.549
14. Song Y. Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide // *J. Integr. Plant. Biol.* 2014. V. 56. P. 106–113. DOI: 10.1111/jipb.12131
15. Sun J., Li C. Cross talk of signaling pathways between ABA and other phytohormones. Abscisic Acid: Metabolism, Transport and Signaling / Ed. Zhang DP. Springer, Dordrecht, 2014. P. 243–253. DOI: 10.1007/978-94-017-9424-4_12
16. Zhou X., Zheng R., Liu G., Xu Y., Zhou Y., Laux T., Zhen Y., Harding S.A., Shi J., Chen J. Desiccation treatment and endogenous IAA levels are key factors influencing high frequency somatic embryogenesis in *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8: 2054. DOI: 10.3389/fpls.2017.02054

References

1. Alwael H.A., Naik P.M., Al-Khayri J.M. Synchronization of somatic embryogenesis in date palm suspension culture using abscisic acid. *Date Palm Biotechnology Protocols Volume I. Methods in Molecular Biology*. V. 1637 / Eds Al-Khayri J., Jain S., Johnson D. Humana Press, New York, 2017. P. 215–226. DOI: 10.1007/978-1-4939-7156-5_18
2. Besse I., Verdeil J. L., Duval Y., Sotta B., Maldiney R., Miginiac R. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Clonal fidelity: Endogenous cytokinins and indoleacetic acid in embryogenic callus cultures. *J. Exp. Bot.* 1992. V. 43. P. 983–989. DOI: 10.1093/jxb/43.7.983
3. 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. P. 363–371. DOI: 10.1016/S0176-1617(96)80135-0

4. Dolgikh Y.I., Pustovoitova T.N., Zhdanova N.E. Hormonal Regulation of Somatic Embryogenesis on Maize // *Phytohormones in Plant Biotechnology and Agriculture* / Eds Macháčková I., Romanov G.A. Springer, Dordrecht, 2003. P. 243–247. DOI:10.1007/978-94-017-2664-1_22
5. Jiménez V.M., Thomas C. Participation of Plant Hormones in Determination and Progression of Somatic Embryogenesis. *Somatic Embryogenesis. Plant Cell Monographs*, V. 2 / Eds Mujib A., Šamaj J. Springer, Berlin, Heidelberg, 2006. P. 103–118. DOI: 10.1007/7089_034
6. Kruglova N.N., Seldimirova O.A. Regeneraciya pshenicy *in vitro* i *ex vitro*: cito-gistologicheskie aspekty. Ufa: Gilem, 2011. 124 s. [Regeneration of wheat *in vitro* and *ex vitro*: cyto-histological aspects] (In Russian).
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol Plant*. 1962. V. 15. P. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
8. Nic-Can G.I., Loyola-Vargas V.M. The Role of the auxins during somatic embryogenesis. *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications* / Eds Loyola-Vargas V., Ochoa-Alejo N. Springer, Cham, 2016. P. 171–182. DOI: 10.1007/978-3-319-33705-0_10
9. Ribnicky D.M., Ilic N., Cohen J.D., Cooke T.J. The effects of exogenous auxins on endogenous indole-3-acetic acid metabolism (The implications for carrot somatic embryogenesis). *Plant Physiol*. 1996. V. 112. P. 549–558. DOI: 10.1104/pp.112.2.549
10. Seldimirova O.A., Kruglova N.N. Balans endogennyh i ekzogennyh gormonov i puti morfogeneza v androklinnyh kallusah pshenicy *in vitro*. *Izvestia Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN*. 2015. No 1. S. 33–39. [Balance of endogenous and exogenous hormones and ways of morphogenesis in androclinic the calli of wheat *in vitro*] (In Russian).
11. Seldimirova O.A., Kruglova N.N., Veselov D.S., Janovskaja A.A. Optimizaciya sostava pitatel'noj sredy dlya indukcii kallusoobrazovaniya u yachmenya sorta Steptoe i ego ABK-deficitnogo mutanta AZ34. *Biomics*. 2017. V. 9. S. 298–303. [Optimization of nutrient medium composition for induction of callosobruchus the barley varieties Steptoe and its ABA-deficient mutant AZ34] (In Russian).
12. Shvetsov S.G., Enikeev A.G. Pogloshhenie i vydelenie kletkami soi 2,4-dihlorfenoksiuksusnoi kisloty v suspenzionnoi kul'ture. *Fiziologiya i biohimiya kul't. rastenii*. 2009. V. 43. S. 339–343. [Cell uptake and isolation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in suspension culture] (In Russian)
13. Song Y. Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide. *J. Integr. Plant. Biol*. 2014. V. 56. P. 106–113. DOI: 10.1111/jipb.12131
14. Sun J., Li C. Cross talk of signaling pathways between ABA and other phytohormones. *Abscisic Acid: Metabolism, Transport and Signaling* / Ed. Zhang DP. Springer, Dordrecht, 2014. P. 243–253. DOI: 10.1007/978-94-017-9424-4_12
15. Veselov S.Yu. Ispol'zovanie antitel dlya kolichestvennogo opredeleniya, ochistki i lokalizacii reguljatorov rosta. Ufa: BashGU, 1998. 138 s. [The use of antibodies for quantitative determination, purification and localization of growth regulators] (In Russian).
16. Zhou X., Zheng R., Liu G., Xu Y., Zhou Y., Laux T., Zhen Y., Harding S.A., Shi J., Chen J. Desiccation treatment and endogenous IAA levels are key factors influencing high frequency somatic embryogenesis in *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook. *Front. Plant Sci*. 2017. V. 8: 2054. DOI: 10.3389/fpls.2017.02054