

Л.С. СИДОР, П.А. ОРЛОВ

Институт генетики и цитологии
Национальной академии наук Беларуси
e-mail: l.sidor@igc.bas-net.by

РЕГЕНЕРАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ПШЕНИЦЫ, РЖИ И ЯЧМЕНЯ В КУЛЬТУРЕ ЛИСТОВЫХ ЭКСПЛАНТОВ



Представлены результаты исследований 16 генотипов пшеницы, 4 видов ячменя и 6 генотипов ржи по их способности к индукции морфогенетических процессов в культуре молодых листочков. Проведен сравнительный анализ частоты индукции каллусов и регенерации. Показано, что наиболее высоким эмбриогенным потенциалом в культуре листовых эксплантов обладают тетра- и гексаплоидные виды пшеницы и дикие виды ячменя, а наименьшим — диплоидные виды пшеницы и генотипы ржи. У изученных видов отмечена генотипическая зависимость процессов каллусогенеза, индукции эмбриогенных каллусов и регенерации.

© Л.С. СИДОР, П.А. ОРЛОВ, 2005

Введение. Успешное использование биотехнологических методов в селекционно-генетических исследованиях зависит от возможности массового получения *in vitro* полноценных фертильных растений. Интенсивность регенерации растений в процессе культивирования может быть увеличена за счет подбора состава питательных сред и условий культивирования [1, 2]. Кроме того, процесс регенерации растений в значительной степени определяется типом экспланта [3]. Для злаков наиболее отзывчивыми в культуре эксплантами являются незрелые зародыши. С их использованием разработаны высокоэффективные клеточные технологии получения регенерантов у пшеницы, ржи, ячменя и прочих злаковых, а также большинство технологий получения трансгенных растений методами биолиственной трансформации и с помощью *Agrobacterium tumefaciens* [4–6]. Однако выращивание донорных растений для получения незрелых зародышей требует много времени и материальных затрат [7], а оптимальными для использования в культуре они являются очень короткий период [8]. Использование в качестве эксплантов молодых листочков устраняет эти недостатки, так как позволяет получать большое количество исходного материала за короткий срок в любое время года. Проведенные в последние годы эксперименты по трансформации каллусов, полученных из листовых эксплантов пшеницы [9] и овса [10], показали возможность их успешного применения в биотехнологии.

В связи с тем, что способность растений к регенерации в настоящее время рассматривается в основном как свойство генотипа [1, 3, 11], актуальным является поиск генотипов с высоким регенерационным потенциалом. Большинство работ по оценке генотипов пшеницы, ржи и ячменя по их способности к регенерации касается межсортовых различий культурных видов *Triticum aestivum* L., *T. durum* Desf., *Secale cereale* L. и *Hordeum vulgare* L. [1, 3, 11–13]. Что касается генетических особенностей регенерации растений в плане межвидовых различий, то они исследовались сравнительно слабо и лишь на небольшом количестве видов [9, 14–16]. В то же время известно, что многие виды злаковых, не имеющих производственного значения, обладают значительным резервом полезных генов.

В связи с этим задачей нашего исследования было изучение способности к регенера-

пии различных видов пшеницы, ржи и ячменя в культуре листовых эксплантов и оценка возможности их использования в программах, включающих культивирование клеток и тканей.

Материалы и методы. Материалом исследований служили 16 генотипов пшеницы, представляющих 13 диких и культурных видов *Triticum*, 4 диких вида ячменя (*H. marinum* Huds., *H. leporinum* Link., *H. glaucum* Steud., *H. geniculatum* All) и 6 генотипов ржи — *Secale silvestre* Host., *S. cereale* (сорта Нива, Местная), *S. cereale ssp. vavilovii* Kobyl. и *S. cereale ssp. derzhavinii* (сорта Одесская, Державинская 50), полученные во ВНИИ растениеводства, Санкт-Петербург. В качестве эксплантов использовали базальные участки 3–5-дневных проростков. Растительный материал стерилизовали диоксидом в течение 8 мин и промывали стерильной дистиллированной водой. В стерильных условиях от основания проростка скальпелем отрезали участки длиной 0,6–0,8 см, освобождали от coleoptиле и разрезали на два сегмента, которые помещали в чашки Петри диаметром 9 см. Чашки заклеивали парафином и помещали в термостат с постоянной температурой (26 °C). Все этапы культивирования эксплантов и каллусов проводили на питательной среде MS в двух вариантах, различающихся содержанием миоинозита (100 и 300 мг/л). Для получения каллусной ткани использовали агаризованную среду MS, содержащую соли по Мурасиге-Скугу [17], витамины по Гамборгу [18], глутамин (150 мг/л), 2,4-Д (2 мг/л) и сахарозу (30 г/л). Через 4 нед образовавшиеся каллусы пассировали на ту же среду и культивировали на свету 3 нед (длина светового дня — 16 ч, интенсивность освещения — 1500–2000 лк). Затем каллусы переносили на такую же среду MS с уменьшенной концентрацией 2,4-Д (1 мг/л) для дифференцировки клеточных культур. Через 3 нед каллусы пассировали на среду для регенерации, содержащую соли по Мурасиге-Скугу, витамины по Гамборгу, НУК (0,5 мг/л), кинетин (0,5 мг/л) и сахарозу (30 г/л). Растения с хорошо сформировавшейся корневой системой пересаживали в почву.

Эффективность каллусообразования оценивали по отношению числа эксплантов, образовавших каллус через месяц культивирова-

ния, к общему числу посаженного материала. Частоту эмбриогенеза и регенерации растений определяли как число эмбриогенных каллусов и каллусов, давших регенеранты, к общему числу каллусов. Достоверность межвидовых и межродовых различий средних значений оценивали с помощью критерия соответствия χ^2 . Достоверность различий между показателями на двух вариантах сред оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. Выполненные нами исследования показали, что способность к каллусообразованию в культуре листовых эксплантов наблюдалась у всех изученных генотипов, но варьировала в широком диапазоне: от 6–17 % у видов ячменя до 100 % у видов пшеницы и ржи (таблица). Наименьшая частота каллусогенеза была присуща ячменям (24,5 и 31,7 % в среднем при максимальном значении у *H. glaucum* 50 и 60,4 %). У ржи наименьшая способность к каллусогенезу была характерна для дикого вида *S. silvestre*. Для остальных генотипов этот показатель был устойчиво высоким (от 50 до 100 %). У пшеницы гексаплоидные генотипы в целом имели максимальные показатели частоты индукции каллусов. Различия по частоте каллусогенеза между пшеницей, рожью и ячменем были статистически достоверны.

О генотипических различиях по инициации каллусов в культуре зародышей ячменя, пшеницы и других злаков сообщалось разными авторами [3, 7, 15, 16]. В культуре листовых эксплантов пшеницы не была найдена генотипическая зависимость процессов каллусообразования [7, 19]. У овса эффективность индукции каллуса в культуре молодых листочков зависела от генотипа и возраста экспланта [20]. В нашем исследовании достоверные различия по способности к каллусогенезу между видами наблюдались для пшеницы на среде MS-100 ($\chi^2 = 85,86$; $P < 0,01$) и для ржи и ячменя на обоих вариантах сред (для ячменя на MS-100 $\chi^2 = 10,5$; $P < 0,05$ и на MS-300 $\chi^2 = 40,4$; $P < 0,01$; для ржи на MS-100 $\chi^2 = 42,46$ и на MS-300 $\chi^2 = 38,07$; $P < 0,01$). Повышение в среде инициации содержания миоинозита в целом увеличило частоту каллусообразования (рис. 1). У 13 из 16 изученных генотипов пшеницы и

Частота каллусогенеза и регенерации у разных видов пшеницы, ржи и ячменя

Генотип	Каллусогенез		Эмбриогенез		Регенерация	
	%					
	MS-100	MS-300	MS-100	MS-300	MS-100	MS-300
<i>Triticum boeoticum</i> (w 1)	46,4	100*	26,8	6,3*	0	0
<i>T. urartu</i> (w 2)	25,0	95*	0	0	0	0
<i>T. monococcum</i> (w 3)	28,9	97,4*	30	5,1*	10	0*
Среднее для диплоидов	34,0 a†	97,7* a	18,9 a	4,0* a	1,4 a	0 a
<i>T. dicoccoides</i> (w 4)	46,4	100*	50,0	64,3*	0	7,1*
<i>T. araraticum</i> (w 5)	70,0	100*	73,3	17,5*	0	0
<i>T. dicoccum</i> , var. <i>dicoccum</i> (w 6)	34,6	100*	100	91,3*	0	2,5
<i>T. dicoccum</i> , var. <i>aeruginosum</i> (w 7)	44,4	100*	68,8	16*	12,5	0*
<i>T. timopheevi</i> (w 8)	64,9	100*	41,2	92,1*	2,9	2,6
<i>T. militinae</i> (w 9)	47,2	100*	65,8	59,2	2,6	0*
<i>T. turanicum</i> (w 10)	47,8	100*	58,3	30,8*	0	0
<i>T. aethiopicum</i> (w 11)	25,0	100*	26,7	71,4*	0	3,6
<i>T. turgidum</i> (w 12)	34,9	98,9*	35,7	100*	21,4	0*
<i>T. durum</i> , cv. <i>Candéal 19</i> (w 13)	21,2	100*	50	13,0*	0	6,5*
Среднее для тетраплоидов	43,0 a	99,8* a	52,2 b	59,3 b	4,0 a	2,0 a
<i>T. aestivum</i> , cv. <i>Диамант</i> (w 14)	63,2	100*	41,7	90,5*	0	0
<i>T. aestivum</i> , cv. <i>Красноярская</i> (w 15)	46,4	100*	17,2	73,0*	3,4	1,6
<i>T. aestivum</i> , линия <i>Phar</i> (w 16)	72,9	100*	37	71,4*	3,7	0
Среднее для гексаплоидов	61,7 b	100* a	32,6 c	79,0* c	2,2 a	0,8 a
Среднее для пшеницы	45,6 A‡	99,6* A	40,6 A	49,9* A	3,0 A	1,4 A
<i>Hordeum marinum</i> (b 1)	28,6	44,8*	53,8	30*	15,4	0*
<i>H. leporinum</i> (b 2)	8,7	6,0	0	0	0	0
<i>H. geniculatum</i> (b 3)	17,2	22,4	0	52,9*	0	29,4*
<i>H. glaucum</i> (b 4)	50,0	60,4	0	10*	0	0
Среднее для ячменя	24,5 B	31,7 B	31,8 AB	26,9 B	9,1 A	7,5 B
<i>Secale silvestre</i> (r 1)	30,8	60*	0	12,5*	0	0
<i>S. cereale</i> , cv. <i>Нува</i> (r 2)	50	77,5*	0	30*	0	0
<i>S. cereale</i> , cv. <i>Местная</i> (r 3)	94,4	100	30	5,1*	0	0
<i>S. ssp. vavilovii</i> (r 4)	100	100	30	19,5*	0	2,6
<i>S. ssp. derzhavinii</i> , cv. <i>Одесская</i> (s 5)	92,3	100	19,0	38,9*	0	0
<i>S. ssp. derzhavinii</i> , cv. <i>Державинская 50</i> (r 6)	85,7	76,1	6,7	19,2*	0	0
Среднее для ржи	73,3 C	80,3 C	14,8 B	18,1 B	0 B	0,9 A

Примечание. *Достоверные различия между показателями на двух средах ($P < 0,05$). †Одинаковыми буквами обозначены недостоверные, разными — достоверные различия средних показателей между видами пшеницы разной плоидности ($P < 0,05$). ‡Одинаковыми буквами обозначены недостоверные, разными — достоверные различия средних показателей между видами пшеницы ржи и ячменя ($P < 0,05$).

у 3 из 6 генотипов ржи этот показатель достигал 100 %, тогда как на MS-100 такой уровень каллусообразования отмечался только у одного генотипа ржи *S. cereale ssp. vavilovii*. У всех видов пшеницы увеличение частоты индукции каллуса было статистически достоверно. Для ячменя и ржи эти различия не были достоверны. Это свидетельствует о том, что зависимость инициации каллусов от генотипа у

ржи и ячменя выражена сильнее, в то время как у пшеницы она в большей степени определяется другими факторами — составом среды и возрастом экспланта, что согласуется с литературными данными [15, 22].

Регенерационную способность у злаковых культур часто связывают с появлением в каллусной ткани плотных участков, образованных мелкими меристематическими клетками.

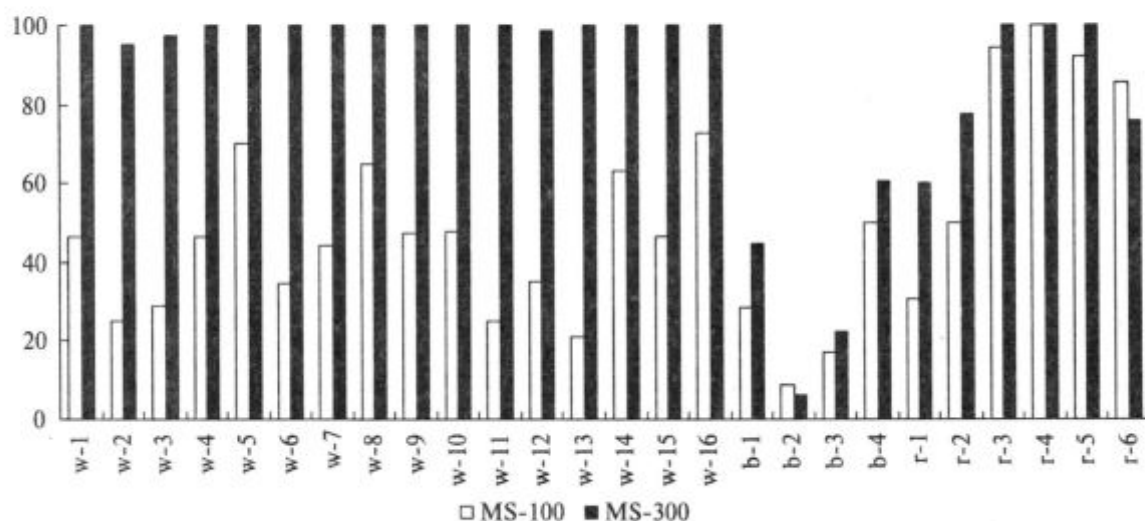


Рис. 1. Влияние концентрации миоинозита на частоту образования каллусов (по вертикали) из листовых эксплантов различных видов пшеницы, ячменя и ржи (генотипы см. в таблице)

Такой каллус принято считать гетерогенным или эмбрионным в отличие от неэмбрионного — гомогенной каллусной ткани, состоящей из сильно вакуолизированных клеток [16, 21]. В наших исследованиях после переноса на среду для дифференциации в каллусах наблюдалось образование плотных зеленых или ярко-желтых глобулярных участков. Такие каллусы относили к эмбрионным. При дальнейшем культивировании часть из них формировала регенеранты (рис. 2), другие прекращали дифференцировку.

Проведенные исследования выявили значительное разнообразие изученных генотипов по способности к индукции эмбриогенеза и регенерации в культуре листовых эксплантов (таблица). Не все изученные генотипы были способны к образованию эмбрионных каллусов и регенерации (рис. 3 и 4). Наибольшая частота образования эмбрионных каллусов наблюдалась у пшеницы, наименьшая — у ржи. Различия по частоте индукции эмбриогенеза между ними были статистически достоверны.

Достоверные различия по частоте индукции эмбрионных каллусов между генотипами пшеницы (на MS-100 $\chi^2 = 58,95$; на MS-300 $\chi^2 = 425,6$; $P < 0,01$), ржи ($\chi^2 = 15,29$; $P < 0,01$ на MS-300) и ячменя ($\chi^2 = 10,33$; $P < 0,05$ на MS-300) свидетельствуют о генотипической зависи-

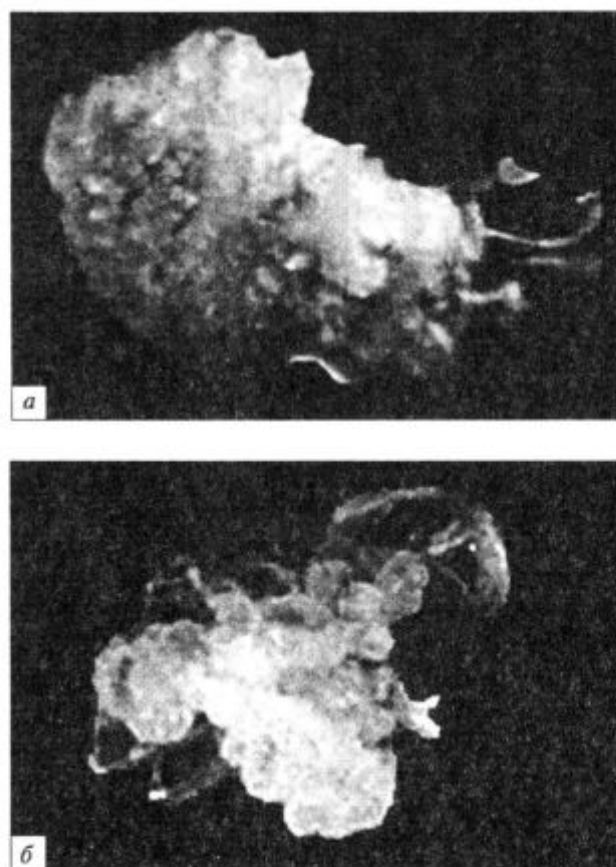


Рис. 2. Дифференциация регенерантов из эмбрионных каллусов: а — пшеницы *T. dicoccoides*; б — ячменя *H. marinum*

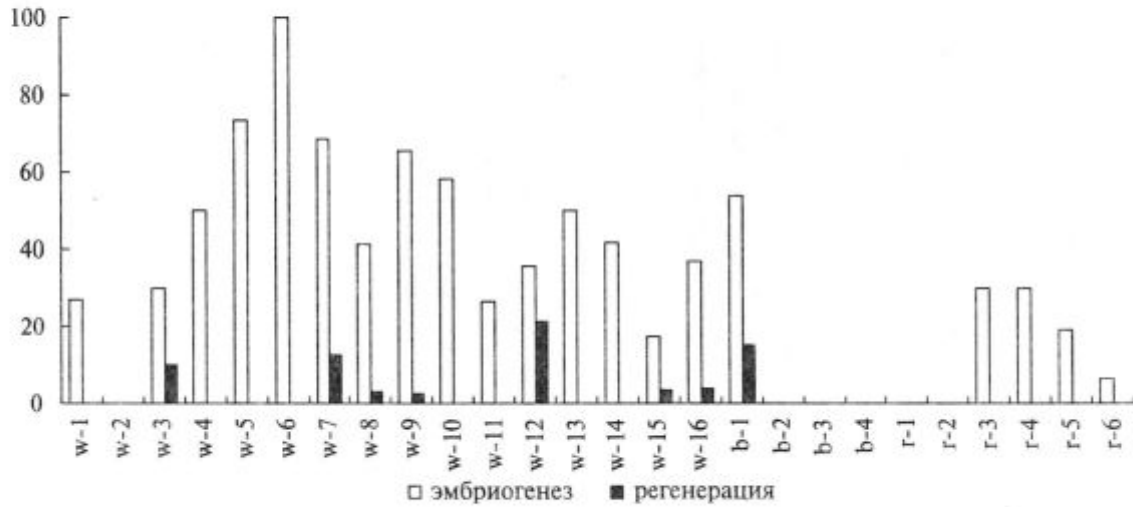


Рис. 3. Частота формирования эмбрионных каллусов и регенерации растений (по вертикали) из листовых эксплантов различных видов пшеницы, ячменя и ржи на среде MS-100: w — wheat, b — barley, r — rye

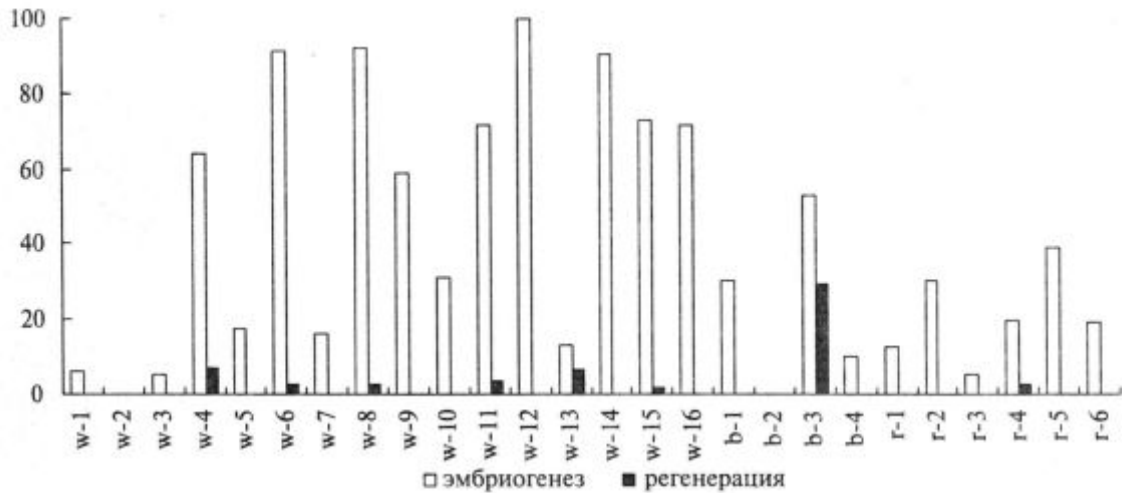


Рис. 4. Частота формирования эмбрионных каллусов и регенерации растений (по вертикали) из листовых эксплантов различных видов пшеницы, ячменя и ржи на среде MS-300

мости данных процессов. Наблюдались также достоверные различия между генотипами по частоте регенерации у пшеницы (на MS-100 $\chi^2 = 28,2$; на MS-300 $\chi^2 = 27,82$; $P < 0,05$) и ячменя ($\chi^2 = 15,89$; $P < 0,01$ на MS-300). У ржи только один из изученных генотипов — *S. cereale ssp. vavilovii* — показал способность к регенерации. Увеличение концентрации миоинозита в среде дифференциации вызвало различную реакцию: у диплоидных видов пшеницы частота образования эмбрионных каллусов заметно снизилась, в то время как у гексаплоидных генотипов возросла более чем в два раза. У

ржи, ячменя и тетраплоидных видов пшеницы наблюдалось как увеличение, так и уменьшение образования эмбрионных каллусов в зависимости от генотипа. Все это подтверждает имеющиеся в литературе данные [1, 22] о влиянии генотипа, среды культивирования и взаимодействия генотип — среда культивирования на частоту индукции эмбрионных каллусов и регенерационную способность у злаков.

Наблюдаемые различия по частоте индукции эмбрионных каллусов между ди-, тетра- и гексаплоидными пшеницами были статистически достоверны. У диплоидных видов она

была наименьшей. Наибольшей частотой образования эмбриогенных каллусов (от 71 до 100 %) характеризовались сорта мягкой пшеницы *T. aestivum* и тетраплоидные виды *T. dicoccum*, var. *dicoccum*, *T. timopheevi*, *T. aethiopicum* и *T. turgidum* на среде MS-300, причем для *T. dicoccum*, var. *dicoccum* этот показатель был стабильно высоким на двух вариантах среды (100 и 91 %). Также устойчиво высокая частота индукции эмбриогенных каллусов была характерна для тетраплоидных видов *T. militinae* и *T. dicoccoides*. Однако не всегда высокая частота эмбриогенеза являлась показателем регенерационной способности. Так, сорт Диамант, обладая наиболее высокой частотой образования эмбриогенных каллусов среди сортов мягкой пшеницы, не был способен к образованию регенерантов так же, как и тетраплоидные виды *T. araraticum* и *T. turanicum*, имевшие на среде MS-100 довольно высокую частоту эмбриогенеза (73,3 и 58,3 % соответственно). В целом из 16 изученных генотипов пшеницы способность к регенерации проявили 11 форм, принадлежащих к 9 видам. У двух из них — *T. timopheevi* и *T. aestivum*, сорт Красноярская — регенеранты образовывались на обоих вариантах среды. Регенерационная способность была выше у тетраплоидных видов пшеницы, у диплоидных видов она была наименьшей, хотя различия в частоте регенерации между ними не были статистически достоверны.

Проявленная генотипами пшеницы способность к регенерации в культуре листовых эксплантов свидетельствует о возможности вовлечения довольно большого количества видов в селекционные программы, требующие использования биотехнологических методов. Однако при этом необходима предварительная проверка регенерационной способности генотипов в выбранных условиях культивирования.

Изученные генотипы ржи наряду с диплоидными видами пшеницы показали наиболее низкую способность к эмбриогенезу и регенерации в культуре листовых эксплантов. Хотя все генотипы были способны образовывать эмбриогенные каллусы, частота их образования была довольно низкой. Наименьшая интенсивность эмбриогенеза наблюдалась у *S. silvestre*, наибольшая — у сорта Одесская. Образование регенерантов наблюдалось только у *S. cereale* ssp.

vavilovii. Стабильно высокая частота каллусогенеза и способность к регенерации выделяют данный вид среди исследованных генотипов ржи и позволяют рекомендовать его для использования в программах, включающих культивирование клеток и тканей.

Наиболее ярко генотипические различия проявились при культивировании листовых эксплантов ячменя — все четыре вида проявили различную реакцию. *H. leporinum* не показал положительного ответа в культуре. Образовавшиеся с очень низкой частотой каллусы при дальнейшем культивировании были не способны к росту и дифференцировке. В них очень быстро развивались некротические процессы. *H. glaucum* характеризовался наиболее активными процессами каллусогенеза и пролиферации, но также не был способен к регенерации, несмотря на образование эмбриогенных каллусов. Регенерационной способностью обладали два вида — *H. geniculatum* и *H. marinum*, причем для *H. marinum* было характерно образование большого количества регенерантов — в среднем 16 на каллус (у *H. geniculatum* — 3, у различных видов пшеницы и ржи — 1–2 регенеранта на каллус).

Выводы. Проведенные исследования выявили существенное разнообразие различных видов пшеницы, ржи и ячменя по их способности к индукции морфогенетических процессов *in vitro*. Это позволяет сделать вывод, что наиболее отзывчивыми в культуре листовых эксплантов оказались тетра- и гексаплоидные виды пшеницы и дикие виды ячменя *H. geniculatum* и *H. marinum*. Увеличение в среде индукции содержания миоинозита существенно повышает частоту каллусообразования у пшеницы. Отсутствие взаимосвязи между частотой каллусной индукции и регенерационной способностью каллусов пшеницы, ржи и ячменя подтверждает существование у злаковых разных генетических систем контроля этих процессов. Отмеченная генотипическая зависимость процессов эмбриогенеза и регенерации среди изученных видов пшеницы, ржи и ячменя свидетельствует о необходимости предварительного изучения регенерационной способности видов, которые привлекаются в программы исследований, включающих использование биотехнологических методов.

SUMMARY. Regeneration potential of different wheat, rye and barley species in leaf explant culture. Comparative analysis of the induction ability of morphogenetic processes *in vitro* has been carried out in 16 wheat genotypes, 4 barley species and 6 rye genotypes. It has been shown that tetra- and hexaploid wheat species as well as wild barley species exhibited the highest embryogenic potential in the leaf explant culture while diploid wheat species and rye genotypes showed the lowest one. Genotypic dependence of processes of callus formation, induction of embryogenic calli and regeneration was revealed in the studied species.

РЕЗЮМЕ. Проведено порівняльний аналіз здатності до індукції морфогенетичних процесів *in vitro* 16 генотипів пшениці, 4 видів ячменю та 6 генотипів жита. Було показано, що найвищий потенціал в культурі листових експлантів мають тетра- і гексаплоїдні види пшениці та дикі види ячменю, а найнижчий — диплоїдні види пшениці і генотипи жита. У вивчених видів відзначено генотипову залежність процесів калусогенезу, індукції ембріогенних калусів і регенерації.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bregitzer P. Plant regeneration and callus type in barley: effects of genotype and culture medium // *Crop Sci.* — 1992. — 32, № 5 — P. 1108–1112.
2. Dahleen L.S., Bregitzer P. An improved media system for high regeneration rates from barley immature embryo-derived callus cultures of commercial cultivars // *Crop Sci.* — 2002. — 42, № 3 — P. 934–938.
3. Machii H., Mizuno H., Hirabayashi T., Li H., Hagio T. Screening wheat genotypes for high callus induction and regeneration capability from anther and immature embryo cultures // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* — 1998. — 53, № 1. — P. 67–74.
4. Eudes F., Acharya S., Laroche A., Selinger L.B., Cheng K.J. A novel method to induce direct somatic embryogenesis, secondary embryogenesis and regeneration of fertile green cereal plants // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* — 2003. — 73, № 2. — P. 147–157.
5. Ward K.A., Jordan M.C. Callus formation and plant regeneration from immature and mature embryos of rye (*Secale cereale* L.) // *In vitro Cell. Dev. Biol., Plant.* — 2001. — 37, № 3. — P. 361–368.
6. Peters N. R., Ackerman S., Davis E. A. A modular vector for *Agrobacterium* mediated transformation of wheat // *Plant Mol. Biol. Rep.* — 1999. — 17. — P. 323–331.
7. Копертех Л.Г., Стрибная Л.А. Регенерация растений из листовых эксплантов пшеницы // *Физиология растений.* — 2003. — 50, № 3. — С. 410–414.
8. Hassan G., Zipf A., Sharma G.C. Plant regeneration from mature *Avena* tissue explants // *Cereal Res. Commun.* — 1999. — 27, № 1/2. — P. 35–42.
9. Chugh A., Khurana P. Regeneration via somatic embryogenesis from leaf basal segments and genetic transformation of bread and emmer wheat by particle bombardment // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* — 2003. — 74, № 2. — P. 151–161.
10. Gless C., Lorz H., Jahne-Gartner A. Transgenic oat plants obtained at high efficiency by microprojectile bombardment of leaf base segments // *J. Plant Physiol.* — 1998. — 152. — P. 151–157.
11. Hanzel J.J., Miller J.P., Brinkman M.A., Fendos E. Genotype and media effects on callus formation and regeneration in barley // *Crop Sci.* — 1985. — 25, № 1. — P. 27–31.
12. Linacero R., Vazquez A.M. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissues of rye (*Secale cereale* L.) // *Plant Sci.* — 1986. — 44. — P. 219–222.
13. Wernike W., Milkovits L. Developmental gradients in wheat leaves — response of leaf segments in different genotypes cultured *in vitro* // *J. Plant Physiol.* — 1984. — 115. — P. 49–58.
14. Kachhwaha S., Kothari S.L. Plant regeneration from immature embryo explants of *Hordeum spontaneum* and *Hordeum vulgare* // *Cereal Res. Commun.* — 1996. — 24, № 1. — P. 27–32.
15. Rybczynski J.J., Zdunczyk W. Somatic embryogenesis and plant regeneration in the genus *Secale*. I. Somatic embryogenesis and organogenesis from cultured immature embryos of five wild species of rye // *Theor. Appl. Genet.* — 1987. — 73, № 2. — P. 267–271.
16. Карабаев М.К., Джардемалиев Ж.К., Дарнанбаева Г.Т., Бутенко Р.Г. Генетические особенности каллусообразования и регенерации в культуре клеток пшеницы и эгилопса // *С.-х. биология.* — 1991. — № 3. — С. 69–75.
17. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* — 1962. — 15. — P. 473–497.
18. Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // *Exp. Cell Res.* — 1968. — 50. — P. 151–158.
19. Wang C.T., Wei Z.M. Embryogenesis and regeneration of green plantlets from wheat (*Triticum aestivum*) leaf base // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* — 2004. — 77, № 2. — P. 149–156.
20. Gless C., Lorz H., Jahne-Gartner A. Establishment of a highly efficient regeneration system from leaf base segments of oat (*Avena sativa* L.) // *Plant Cell Rep.* — 1998. — 17. — P. 441–445.
21. Батыгина Т.Б. Эмбриогенез и морфогенез половых и соматических зародышей // *Физиология растений.* — 1999. — 46, № 6. — С. 884–898.
22. Tyankova N.D., Zagorska N.A. Genetic control of *in vitro* response in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *In Vitro Cell. Dev. Biol., Plant.* — 2001. — 37, № 5. — P. 524–530.

Поступила 13.04.05