

## ... ГЕНЕТИКА ...

УДК: 581.143.633:11

### Роль генотипа, состава среды и типа экспланта в формировании первичного каллюса изогенных линий пшеницы

О.А.Авксентьева, В.А.Петренко

*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)*

Исследованы процессы индукции каллюсогенеза изогенных по генам контроля типа *Vrn* и темпов *Ppd* развития линий озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808. У изученных генотипов установлена генотипическая зависимость частоты каллюсогенеза, а также показано, что эффективность процесса и тип каллюсной ткани обусловлены выбранным эксплантом. Установлено, что морфогенетическим потенциалом обладают каллюсы из зрелых зародышей и листовых эксплантов. Выявлены различия среди изогенных линий в размерах клеток каллюсных тканей и скорости их формирования.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum* L., изогенные линии, гены контроля типа *Vrn* и темпов *Ppd* развития пшеницы, эксплант, частота каллюсогенеза, тип каллюса, цитолого-гистологическая характеристика.

### Роль генотипу, складу середовища та типу експланту у формуванні первинного калюсу ізогенних ліній пшениці

О.О.Авксентьева, В.А.Петренко

Досліджено процеси індукції калюсогенезу ізогенних за генами контролю типу *Vrn* та темпів *Ppd* розвитку ліній озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Миронівська 808. У вивчених генотипів встановлено генотипову залежність процесів калюсогенезу, а також показано, що ефективність процесу та тип калюсної тканини обумовлені обраним експлантом. Встановлено, що морфогенетичний потенціал проявляють калюси зі зрілих зародків та листових експлантів. Виявлені розбіжності серед ізогенних ліній за розміром клітин калюсних тканин та швидкістю їх формування.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum* L., ізогенні лінії, гени контролю типу *Vrn* та темпів *Ppd* розвитку, експлант, ефективність калюсогенезу, тип калюсу, цитолого-гістологічна характеристика.

### Role of the genotype, composition of medium and type of explant in formation of the first callus of wheat isogenic lines

O.A.Avksentyeva, V.A.Petrenko

The processes of callusogenesis induction of winter wheat *Triticum aestivum* L., cultivar Myronovskaya 808 isogenic by genes of the control of type *Vrn* and rates *Ppd* of development were investigated. In the studied genotypes genotypic dependence of callusogenesis processes was noted and it was shown that callusogenesis and the type of callus tissue were caused by the type of explants. It was established that the callus from mature germs and leaf explants had morphogenetic potential. The distinctions among isogenic lines in callus tissue cell sizes and rate of primary callus formation were revealed.

**Key words:** *Triticum aestivum* L., isogenic lines, genes of the control of type *Vrn* and rates of development *Ppd*, explant, efficacy of callusogenesis, type of callus, cytological and histological characteristic.

#### Введение

Способность растений к каллюсогенезу в настоящее время, в основном, рассматривается как свойство генотипа (Лутова, 2003; Кунах, 2005; Туанкова, Загорская, 2001). Злаки представляют труднейший объект с точки зрения экспериментальной биотехнологии. Одной из причин, обуславливающих сложность получения каллюсной ткани у злаков по сравнению с двудольными, может быть неспособность к раневой реакции (образование раневого каллюса). У однодольных не описано образование каллюса в естественных условиях, что давало основание для заключения о невозможности получения тотипотентной каллюсной ткани злаков на первых этапах развития метода культуры ткани *in vitro* (Калинин и др., 1980). В настоящее время успешно культивируются *in vitro* культуры каллюсов пшеницы, ячменя, кукурузы, риса и других представителей злаков (Чеченева,

2003). Процесс индукции каллюсогенеза в значительной мере определяется составом питательной среды. Особенностью сред, используемых для культивирования злаков, является внесение синтетического аналога индолилуксусной кислоты – 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) в качестве ауксинов – необходимых фитогормонов для индукции каллюсогенеза. Показана также возможность использования АБК для индукции андроклинного каллюса пшеницы (Круглова, Зайнутдинова, 2001). Кроме того, злаки требовательны к органическим источникам азота – отдельным аминокислотам и амидам (глицин, аспарагин и др.). Также важнейшим фактором, определяющим успешность получения первичного каллюса, является выбор экспланта. Для злаков наиболее распространенным эксплантом являются незрелые зародыши. Однако в последние годы значительно расширился спектр используемых и успешно культивируемых эксплантов – зрелые зародыши, узлы кущения, пыльники (для андрогенеза) и листовые экспланты (Сидор, Орлов, 2005; Бавол и др., 2008; Wang, Wei, 2004).

Несмотря на большое количество исследований по каллюсогенезу злаков *in vitro* (Евсеева и др., 2007; Machii et al., 1998), многие вопросы этого уникального пути развития растений остаются нерешенными. В частности, малочисленны сведения о влиянии индивидуальных генов на проявление тотипотентности клеток *in vitro* у объектов с трудной регенерацией, к которым относятся злаки. В связи с этим актуальной задачей является выявление роли конкретных генетических систем и генов в способности растительных эксплантов к культивированию. Для решения этих вопросов необходимо создание генетических моделей, включающих в себя изогенные линии, где известна функциональная связь между экспрессией гена и его фенотипическим проявлением (Стельмах и др., 2000). На генетической модели, включающей сорт мягкой озимой пшеницы Мироновская 808 и его почти изогенные линии по генам *Vrn* (vernalization) – контроль типа развития и генам *Ppd* (photoperiod) – контроль темпов развития, ранее нами была показана детерминация ряда физиолого-биохимических характеристик жизнедеятельности растений пшеницы (Жмурко, Авксентьева, 2007). Установлено влияние данных генетических систем на углеводный обмен (Жмурко, Авксентьева, 2007), активность окислительно-восстановительных ферментов (Авксентьева, 2007), фитогормональный баланс (Авксентьева, Жмурко, 2006), ростовую реакцию и общую продуктивность пшеницы. В настоящее время данные генетические системы активно исследуются на молекулярно-генетическом уровне регуляции цветения злаков (Loukoianov et al., 2005; Trevaskis et al., 2006; White et al., 2008). Возможно, что эти генетические системы также участвуют в контроле процессов каллюсогенеза при культивировании изогенных линий *in vitro*.

Целью данной работы было исследование первичных каллюсов набора почти изогенных линий и установление зависимости их индукции и динамики формирования от генотипа изолинии, модификаций состава среды культивирования и типа выбранного экспланта.

### Материалы и методы

Материалом исследований служили семь генотипов озимой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. – три моногеннодоминантные изогенные линии по системе генов контроля типа развития пшеницы (яровой/озимый) – *Vrn* (vernalization), три изогенные линии по системе генов контроля фотопериодической чувствительности (темпов развития пшеницы) – *Ppd* (photoperiod) и озимый сорт Мироновская 808. Наличие в генотипе хотя бы одного доминантного гена *Vrn* определяет яровой тип развития пшеницы, озимый тип развития характерен для генотипов носителей только рецессивных генов *vrn*. Доминантные гены *Ppd* детерминируют снижение чувствительности к фотопериоду, а сильная реакция на фотопериод характерна для генотипов, рецессивных по всем трём генам *ppd*. Согласно современной номенклатуре, формальному обозначению генов соответствует: *Vrn 1 – Vrn A1a Vrn B1b Vrn D1b (Vrn A1a)*, *Vrn 2 – Vrn A1b Vrn B1a Vrn D1b (Vrn B1a)*, *Vrn 3 – Vrn A1b Vrn B1b Vrn D1a (Vrn D1a)*; *Ppd 1 – Ppd D1a Ppd B1b Ppd A1b (Ppd D1a)*, *Ppd 2 – Ppd D1b Ppd B1a Ppd A1b (Ppd B1a)*, *Ppd 3 – Ppd D1b Ppd B1b Ppd A1a (Ppd A1a)*. Почти изогенные линии обеих генетических систем были получены беккроссированием на основе сорта Мироновская 808 (Stelmah, 1998) и предоставлены кафедре физиологии и биохимии растений Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина Селекционно-генетическим институтом УААН в рамках договора о сотрудничестве.

Для получения каллюса в качестве эксплантов использовали зрелые зародыши, апикальные участки асептических корней и листовые экспланты. При использовании в качестве эксплантов зрелых зародышей семена стерилизовали 3% раствором NaOCl на протяжении 15 минут, затем трижды промывали стерильной дистиллированной водой, оставляли на сутки для проклеивания, после чего вычленили зародыши и переносили их в чашки Петри на питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) с полным набором макро- и микросолей, содержащую 0,7% агара, 2,4-Д – 2 мг/л и 0,1 мг/л глицина. Для использования апикальных участков корней в качестве эксплантов предварительно выращивали 4–5-дневные асептические проростки пшеницы на безгормональной среде МС в темноте

при 25°C. Затем вычленили апикальные сегменты корней длиной 1–1,5 см и переносили их на среду МС для индукции каллюсогенеза. При использовании листовых эксплантов также предварительно выращивали асептические проростки на безгормональной среде МС в течение 5–7 дней. Затем в асептических условиях из колеоптиля вычленили первичный лист, используя для культивирования его базальную часть размером 1–1,5 см. Экспланты культивировали при 26°C в темноте в течение 10–14 суток. После образования первичного каллюса чашки Петри переносили в условия культивирования при освещенности 2 тыс. люкс и 16-часовом фотопериоде. Частоту индукции каллюсогенеза (в процентах) определяли как отношение числа эксплантов, образовавших каллюс, к исходному количеству эксплантов. Модификации среды культивирования включали следующие варианты: стандартная среда МС + 0,1 мг/л глицин, стандартная среда МС + 0,1 мг/л глицин + 10 мг/л AgNO<sub>3</sub>. Цитолого-гистологические исследования проводили, готовя временные давленные препараты каллюсной ткани, используя микроскоп PZO Warszawa (Польша, 1985). Прирост каллюсной ткани определяли как увеличение занимаемой площади в единицу времени (мм<sup>2</sup>/сутки). Приведенные результаты получены в трёх независимых сериях экспериментов, представленных не менее чем пятью чашками Петри (по 5–7 эксплантов в каждой). Статистическую обработку данных методом дисперсионного анализа проводили с помощью программы «Statistica 6.0».

### Результаты и обсуждение

Нами исследовалось влияние генотипа на частоту каллюсогенеза изогенных по генам контроля типа и скорости развития линий пшеницы (6 изолиний и сорт, который является носителем только рецессивных генов обеих генетических систем – *Vrn* и *Ppd*). В опытах мы использовали различные типы эксплантов для получения первичного каллюса: зрелые зародыши, апикальные участки асептических корней и листовые экспланты. Результаты исследований показали, что все генотипы формировали каллюс, но с различной частотой – 8–81 % (табл. 1). Зрелые зародыши и апикальные участки асептических корней являлись более эффективными эксплантами для получения первичного каллюса по сравнению с первичными листьями. Частота индукции каллюсообразования при использовании листовых эксплантов была минимальной и составляла 8,8–22,2 %. При этом самым высоким потенциалом каллюсообразования характеризовалась изолиния *Ppd B1a*, а минимальным – изолиния *Ppd A1a*. При формировании первичного каллюса из зрелых зародышей частота каллюсогенеза у всех *Ppd* изолиний была значительно выше, чем у *Vrn* изолиний. Максимальной частотой каллюсогенеза характеризовались изолинии *Vrn D1a*, *Vrn B1a* и *Ppd B1a*, минимальной – *Vrn A1a* и *Ppd D1a*. При использовании корней в качестве первичного экспланта максимальной частотой каллюсогенеза характеризовались изолинии *Vrn D1a* и *Ppd D1a*, минимальной – *Vrn B1a* и *Ppd B1a*, а также сорт – полный рецессив по данным системам генов. Следовательно, тип экспланта определяет максимальные и минимальные показатели частоты каллюсогенеза.

Таблица 1.

Частота индукции каллюсогенеза изогенных по генам *Vrn* и *Ppd* линий пшеницы, %

Генотип изолинии	Частота каллюсогенеза, %		
	Зрелые зародыши	Апикальные корни	Листовые экспланты
<i>Vrn A1a Vrn B1b Vrn D1b</i>	18,5 ± 0,9	56,8 ± 1,9	-*
<i>Vrn A1b Vrn B1a Vrn D1b</i>	35,8 ± 1,2	22,7 ± 0,9	-
<i>Vrn A1b Vrn B1b Vrn D1a</i>	33,3 ± 1,1	61,4 ± 2,3	-
<i>Vrn A1b Vrn B1b Vrn D1b</i>	29,6 ± 0,9	47,7 ± 1,5	-
<i>HCP<sub>05</sub></i>	2,4	5,3	
<i>Ppd D1a Ppd B1b Ppd A1b</i>	62,9 ± 2,1	65,5 ± 1,5	13,3 ± 0,8
<i>Ppd D1b Ppd B1a Ppd A1b</i>	81,5 ± 3,7	60,0 ± 1,1	22,2 ± 1,1
<i>Ppd D1b Ppd B1b Ppd A1a</i>	74,0 ± 4,2	63,6 ± 2,0	8,8 ± 0,5
<i>Ppd D1b Ppd B1b Ppd A1b</i>	59,3 ± 1,1	49,0 ± 2,2	20,0 ± 0,9
<i>HCP<sub>05</sub></i>	4,8	2,1	3,7

Примечание: \* – исследования не проводились.

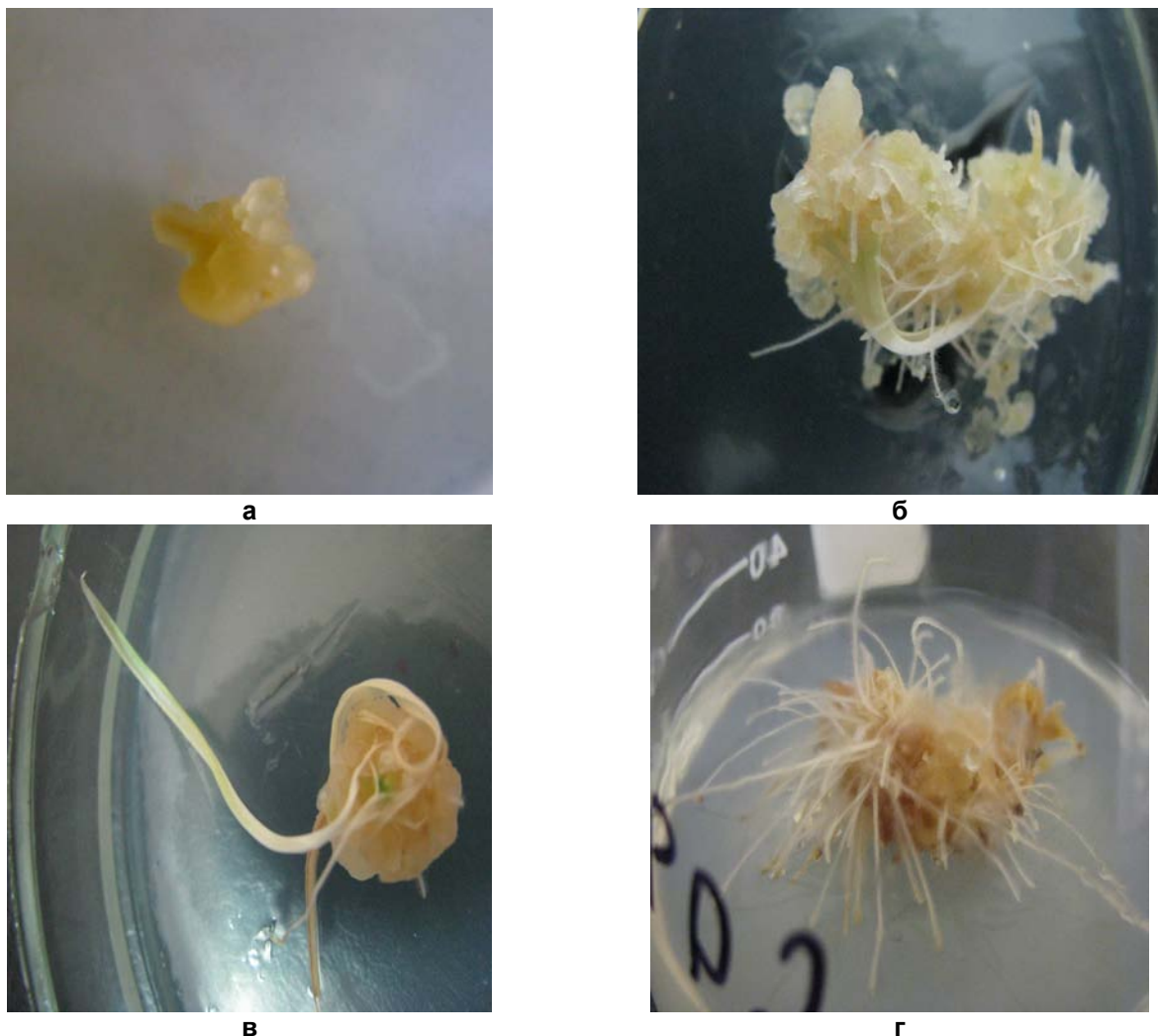
При культивировании каллюсов нами опробовались некоторые модификации среды культивирования. Добавление в среду культивирования раствора AgNO<sub>3</sub>, согласно литературным данным, повышает выход образовавшихся каллюсов и увеличивает стерильность условий культивирования за счет подавления внутренней инфекции эксплантов (Бу и др., 2006; Бавол и др., 2008). Использование в наших экспериментах данной модификации среды культивирования значительно повысило стерильность при культивировании каллюсов из зрелых зародышей и асептических корней, а в случае листовых эксплантов – стимулировало индукцию каллюсогенеза. При

сравнении изолиний *Vrn* и *Ppd* в целом можно констатировать, что изолинии *Ppd* обладают большим потенциалом каллюсообразования по сравнению с *Vrn* линиями. Между собой эти линии различаются по типу развития: *Vrn* – это яровые формы пшеницы, а *Ppd* и сорт – озимые (Стельмах и др., 2000).

Таким образом, нами показано возможное участие исследуемых генетических систем в контроле процесса формирования первичного каллюса у данных изолиний. Однако следует отметить, что тип экспланта также оказывает влияние на различия в частоте индукции каллюсогенеза среди исследуемых изолиний.

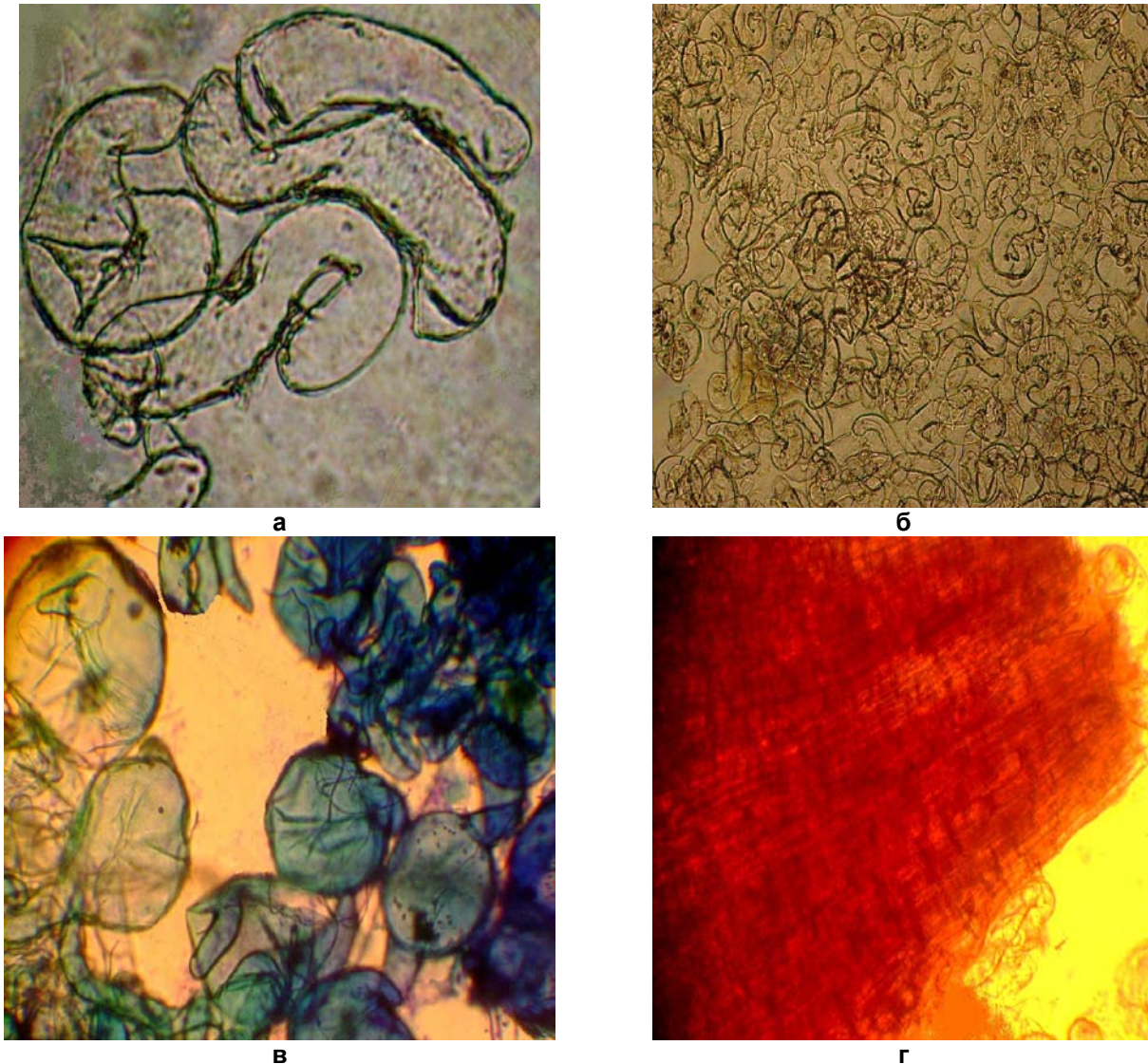
При использовании различных типов эксплантов нами установлены различия в типах и скорости формирования образовавшегося первичного каллюса. Начало каллюсогенеза при формировании каллюсных тканей из асептических корней происходило быстрее всего – на 2–5 сутки со дня перенесения на среду культивирования. При использовании зрелых зародышей – на 7–10 сутки, продолжительнее всего формировался каллюс из листовых эксплантов – на 30–35 сутки. Различия зафиксированы также по степени оводненности, плотности, цвету, наличию элементов дифференцировки и проявлению морфогенетического потенциала.

Из асептических корней формировался сильно оводненный, рыхлый, почти прозрачный, слегка беловатый каллюс (рис. 1а). Из зрелых зародышей – более плотный, менее оводненный, желтоватый каллюс (рис. 1б), характеризующийся наличием элементов дифференциации, что подтвердили микроскопические исследования (рис. 2г). Такого же типа каллюс – плотный и желтоватый формировался при использовании в качестве эксплантов первичных листьев.



**Рис. 1. Каллюсогенез изогенных линий мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L.**

- а – первичный рыхлый гомогенный каллюс из апикальных участков асептических корней  
 б – компактный гетерогенный каллюс из зрелых зародышей  
 в – морфогенез по типу гемморизогенеза из зрелых зародышей  
 г – морфогенез по типу интенсивного ризогенеза из апикальных участков корней



**Рис. 2. Цитолого-гистологическая характеристика каллюсной ткани изогенных линий пшеницы**

*а* – типичные каллюсные клетки злаков

*б* – общий вид каллюсной ткани *Triticum aestivum* L.

*в* – клетки формирующейся каллюсной ткани (10 суток) изолинии Prd B1a, окрашенные метиленовым синим

*г* – дифференцированные элементы каллюсной ткани: трахеидальные элементы проводящей системы при длительном культивировании (45 суток) компактного каллюса

В дальнейших исследованиях при пассировании каллюсных тканей, сформированных из различных эксплантов, на среду для индукции морфогенеза нами показаны различия в морфогенетическом потенциале в зависимости от типов каллюса и генотипа исходной изолинии. Плотный, желтоватый морфогенный каллюс, сформированный из зрелых зародышей, проявлял регенерационную способность. На 10–15 сутки культивирования на среде для регенерации были отмечены гемморизогенез – формирование coleoptилей и корней (рис. 1в). Морфогенез прозрачного, гомогенного, рыхлого каллюса, сформированного из асептических корней, проходил только по пути интенсивного ризогенеза – формирование корней (рис. 1г). Многими исследователями отмечено, что такой тип морфогенеза не является регенерационно способным, т.е. в дальнейшем при культивировании невозможно формирование полноценных фертильных растений-регенерантов (Круглова, Зайнутдинова, 2001; Чеченева, 2006; Бавол и др., 2008). При перенесении каллюсных тканей исследуемых изолиний на среду для индукции морфогенеза не все из них проявляли

морфогенный потенциал. Наиболее успешно культивировались среди каллюсных тканей первого и второго типа каллюсы изолиний *Vrn D1a* и *Ppd A1a*.

Цитолого-гистологические исследования каллюсов различных типов (прозрачного гомогенного и компактного гетерогенного) показали некоторые различия в морфологических особенностях данных каллюсных тканей (рис. 2). У морфогенного компактного каллюса из зрелых зародышей нами были выявлены элементы дифференциации в виде сформированных участков проводящей ткани (рис. 2г). При микроскопировании каллюсной ткани различных изолиний нами были обнаружены типичные для злаков каллюсные клетки – вытянутые, с закругленными концами, не плотно прилегающие друг к другу (рис. 2а, б, в). Однако клетки различных изолиний имели свои морфологические особенности и различия по размерам. Максимальными по длине были клетки изолиний *Vrn D1a* и *Ppd A1a*, минимальными – линии *Ppd B1a* и сорта (табл. 2). Результаты изучения прироста каллюсных тканей среди исследованных изолиний показали, что максимально быстро прирастает первичный каллюс сорта и изолинии *Ppd B1a*, медленнее всего – изолинии *Vrn D1a*. Т.е. наиболее быстро растущие каллюсные ткани имеют минимальные по размерам клетки и наоборот. Таким образом, прирост каллюсных тканей осуществляется за счет более интенсивного новообразования клеток, а не за счет увеличения их размеров.

Таблица 2.

**Длина клеток и прирост каллюсных тканей изогенных по генам *Vrn* и *Ppd* линий пшеницы, сорт Мироновская 808**

Генотип изолинии	Культура зрелых зародышей	
	Длина клеток, мкм	Прирост, мм <sup>2</sup> /сутки
<i>Vrn A1a Vrn B1b Vrn D1b</i>	180,2 ± 0,6	0,39 ± 0,002
<i>Vrn A1b Vrn B1a Vrn D1b</i>	185,6 ± 0,7	0,41 ± 0,002
<i>Vrn A1b Vrn B1b Vrn D1a</i>	216,1 ± 0,9	0,09 ± 0,001
<i>Vrn A1b Vrn B1b Vrn D1b</i>	150,4 ± 0,3	0,94 ± 0,003
<i>HCP<sub>05</sub></i>	10,1	0,21
<i>Ppd D1a Ppd B1b Ppd A1b</i>	141,1 ± 0,7	0,68 ± 0,002
<i>Ppd D1b Ppd B1a Ppd A1b</i>	132,2 ± 0,4	0,76 ± 0,004
<i>Ppd D1b Ppd B1b Ppd A1a</i>	193,5 ± 0,9	0,65 ± 0,003
<i>Ppd D1b Ppd B1b Ppd A1b</i>	155,6 ± 0,3	1,36 ± 0,009
<i>HCP<sub>05</sub></i>	8,3	0,33

В результате проведенных исследований нами показано, что генетические системы *Vrn* и *Ppd*, детерминирующие тип и скорость развития озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возможно, контролируют процессы индукции каллюсогенеза и особенности формирования каллюсных клеток изучаемых изолиний. Вид выбранного экспланта определяет тип сформированного каллюса: зрелые зародыши и листовые экспланты формируют компактный гетерогенный каллюс, обладающий морфогенным потенциалом; асептические корни – дают начало рыхлому, гомогенному каллюсу, не способному к полноценной регенерации. Генотип изолинии детерминирует скорость роста каллюсной ткани, размеры и особенности морфологии каллюсных клеток. Изолинии *Vrn B1a* и *Ppd B1a*, которые отстают по темпам развития от других линий, проявляют максимальные показатели частоты формирования каллюса и скорости его роста в условиях *in vitro*.

#### Список литературы

- Авксентьева О.А. Содержание ауксинов и фенолов в листьях изогенных по генам VRN линий пшеницы // Вестник Луганского аграрного университета. – 2007. – С. 6–12.
- Авксентьева О.А., Жмурко В.В. Фитогормональный баланс в листьях изогенных по генам *Vrn* линий пшеницы // Матеріали міжнародної наукової конференції, присвяченої 80-річчю з дня народження академіка А.М.Гродзинського «Алелопатія та сучасна біологія». – Київ, 2006. – С. 178–183.
- Бавол А.В., Дубровная О.В., Лялько И.И. Регенерация растений из различных типов эксплантов мягкой пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. – 2008. – Т.40, №2. – С. 150–156.
- Ву Л.М., Вэй Ю.М., Чжен Ю.Л. Влияние нитрата серебра на культуру незрелых зародышей пшеницы // Физиология растений. – 2006. – Т.53, №4. – С. 592–596.
- Евсеева Н.В., Ткаченко О.В., Лобачев Ю.В. Биохимическая оценка морфогенетического потенциала каллюсных клеток пшеницы *in vitro* // Физиология растений. – 2007. – Т.54, №2. – С. 306–311.
- Жмурко В.В., Авксентьева О.А. Детерминация генами VRN накопления углеводов в листьях изогенных линий пшеницы // Материалы чтений, посвященных 300-летию со дня рождения К.Линнея / Ред. И.Д.Соколов. – Луганск: Элтон-2, 2007. – С. 118–121.

- Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – К.: Наукова думка, 1980. – 488с.
- Круглова Н.Н., Зайнутдинова Э.М. Андроклиний каллус пшеницы в динамике развития: цитолого-гистологический анализ // Вестник Башкирского университета. – 2001. – №2 (1). – С. 137–141.
- Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. – К.: Логос, 2005. – 730с.
- Лутова Л.А. Биотехнология высших растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2003. – 228с.
- Сидор Л.С., Орлов П.А. Регенерационный потенциал различных видов пшеницы, ржи и ячменя в культуре листовых эксплантов // Цитология и генетика. – 2005. – Т.40, №5. – С. 28–34.
- Стельмах А.Ф., Файт В.И., Мартынюк В.Р. Генетические системы типа и контроля скорости развития мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 2000. – Т.34, №2. – С. 39–45.
- Чеченева Т.Н. Изменчивость злаков в культуре in vitro и в процессе регенерации растений // Физиология и биохимия культ. растений. – 2006. – Т.38, №2. – С. 163–175.
- Loukoianov A., Luilin Yan, Blech A. Regulation of VRN-1 vernalization genes in normal and transgenic polyploid wheat // Plant Physiology. – 2005. – Vol.138. – P. 2364–2373.
- Machii H., Mizuno H., Hirabayashi T. et al. Screening wheat genotypes for high callus induction and regeneration capability from anther and immature embryo cultures // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1998. – Vol.53, №1. – P. 67–74.
- Stelmakh A.F. Genetic systems regulating flowering in wheat // Wheat: Prospects for global improvement. – Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands, 1998. – P. 491–501.
- Trevaskis B., Hemming M., Peacock J., Dennis E. *HWRN2* responds to daylength, whereas *HWRN1* is regulated by vernalization and developmental status // Plant Physiology. – 2006. – Vol.140. – P. 1397–1405.
- Tyankova N.D., Zagorska N.A. Genetic control of in vitro response in wheat (*Triticum aestivum* L.) // In Vitro Cell. Dev. Biol., Plant. – 2001. – Vol.37, №5. – P. 524–530.
- Wang C., Wei Z. Embryogenesis and regeneration of green plantlets from wheat (*Triticum aestivum* L.) leafbase // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2004. – Vol.77, №2. – P. 149–153.
- White W., Herndlil M., Hunt L. et al. Simulation-based analysis of effects of *Vrn* and *Ppd* loci on flowering in wheat // Crop Science. – 2008. – Vol.48. – P. 678–687.

---

**Представлено: О.А.Задорожною**  
**Рекомендовано до друку: А.В.Некрасовою**

© О.О.Авксентьєва, В.А.Петренко, 2009