

Комплексная селекция *in vitro* на устойчивость клеточных линий кормовой свеклы к токсину возбудителя бактериоза и низким температурам

Н. Я. Губанова, О. В. Дубровная, Т. В. Чугункова

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины
Ул. Васильковская, 31/17, Киев, 03022, Украина

Получены резистентные к токсину Pseudomonas syringae pv. aptata каллусные линии кормовой свеклы. Показана перекрестная устойчивость этих линий и к низким температурам. Изучены цитогенетические особенности каллусных культур в процессе длительного культивирования на селективной среде и после обработки устойчивых линий низкими температурами.

Введение. Создание исходного селекционного материала, устойчивого к экстремальным факторам среды, токсинам патогенов и другим неблагоприятным воздействиям, возможно при использовании методов клеточной селекции.

В условиях *in vitro* на селективных средах можно отбирать клетки с мутантными генотипами, а затем получать из них растения, устойчивые к селективному фактору.

Наиболее эффективно использование данного метода у тех сельскохозяйственных культур, для которых разработаны приемы массовой регенерации растений из клеток и протопластов. Применение клеточной селекции *in vitro* позволило получить селекционные формы томатов, картофеля, пшеницы, риса, клевера и люцерны, устойчивые к грибным и бактериальным токсинам [1—7]. Получены клеточные линии и растения, устойчивые и к другим стрессовым факторам окружающей среды, в том числе и к низким температурам [8—10].

Существует несколько способов отбора резистентных клеточных линий: жесткая селекция с использованием сублетальных доз стрессового фактора и многократным пассированием в селективных условиях; мягкая селекция на адаптированных концентрациях селективного агента на протяжении

нескольких пассажей; ступенчатая селекция с постепенным повышением концентрации стрессового фактора и чередованием селективных и неселективных условий.

Выбор схем клеточной селекции на устойчивость к болезням непосредственно зависит от механизмов действия токсинов. Проведение селекции на резистентность к токсинам целесообразно проводить в тех случаях, когда патогены сначала выделяют токсины, которые убивают растительные клетки, а затем используют продукты их распада для питания, так как в данном случае существует корреляция между устойчивостью *in vitro* и *in vivo*.

У свеклы метод клеточной селекции используется недостаточно широко, в основном для создания форм, устойчивых к засолению [11—13]. Вместе с тем устойчивость к болезням и температурным стрессам — одна из задач, которую также пытаются решить с помощью культуры *in vitro*. Так, используя метод ступенчатой селекции, получены каллусные линии сахарной свеклы, резистентные к церкоспорозу [14].

Благодаря существованию общих механизмов устойчивости к различным селективным факторам отобранные клеточные линии и растения иногда проявляют резистентность к двум и более видам стресса [15, 16]. Однако работ по изучению перекрестной устойчивости *in vitro* культуры кормовой свеклы в доступной нам литературе не обнаружено.

Следует отметить, что в последние годы большой вред свекловичным посевам, наряду с грибными и вирусными, наносят бактериальные болезни, вызывающие пятнистости листьев (возбудитель *Pseudomonas syringae* pv. *aptata*). Поэтому целью наших исследований было использование токсина данного возбудителя в качестве селективного фактора для отбора устойчивых к бактериозу клеточных линий кормовой свеклы, проверка их на перекрестную устойчивость к низким температурам, а также цитологический анализ полученных в результате селекции каллусных линий.

Материалы и методы. Объектом исследования служила высокоорганогенная каллусная линия N 25, полученная из листовых эксплантов диплоидных растений кормовой свеклы сорта Панфильская, предварительно выращенных в культуре *in vitro*. Абсолютный возраст каллуса — 2 пассажа, относительный — 10 сут. Как контрольную использовали питательную среду DS-2 [17], которую разливали в равном объеме (по 10 мл) в одномерные тонкостенные стаканы диаметром 50 мм.

Суспензионную культуру получали на жидкой среде DS-2 (рН 5,7—5,8) в колбах при постоянном встряхивании и температуре 26 ± 2 °С. Для получения резистентных к токсину клеток суспензионную культуру высевали на агаризованную среду DS-2 с различными концентрациями токсина.

Токсин возбудителя бактериоза свеклы выделяли из культуральной среды после выращивания бактерий осаждением сернокислым аммонием 50 %-го насыщения. Токсин очищали диализом и ультрацентрифугированием, а затем лиофильно сушили.

Температурную обработку каллуса осуществляли в следующих режимах: закаливание при 2—6 °С от 7 до 14 сут; обработка отрицательными температурами -2 и -5 °С с экспозицией от 1 до 21 ч.

Экспериментальный материал выращивали на свету с 16-ч фотопериодом при температуре 26 ± 2 °С. Учет сформировавшихся микророзеток проводили через 5—10 недель после начала опыта. Массу каллусной ткани в процессе культивирования определяли по Кучеренко [18].

Цитологический анализ резистентных каллусных линий проводили в период наибольшей митотической активности на 25—27-й день пассажа (длительность пассажа 80 дней) и 6—7-й день пассажа у линии 25 (длительность пассажа 20 дней). Каллусную ткань фиксировали в смеси спирт : уксусная кислота (3 : 1) в течение суток. Окрашивали 2 %-м ацетоорсеином в течение 7 дней и готовили давленные препараты.

Результаты и обсуждение. В результате проведения серии опытов (три повторности, каждый длительностью три пассажа) была определена чувствительность каллусной ткани кормовой свеклы к различным концентрациям фитотоксина и установлена доза, оказывающая сублетальное воздействие. Следует отметить, что токсин в дозах 0,5—1,0 г/л вызывал в первом пассаже очень слабое ингибирование роста каллуса и регенерацию стеблевых почек. Значительное ингибирование роста каллуса (до 50 %) было выявлено при концентрации токсина 2,0—3,0 г/л, что, однако, не позволяет вести селекцию на устойчивость. Концентрация токсина в среде 6 г/л оказалась летальной, так как к концу первого пассажа все каллусы погибли. Наиболее оптимальной для наших целей оказалась доза 4,0 г/л. При такой концентрации к концу первого пассажа (через 11 недель) на отдельных коричневых каллусных культурах формировались крупные стеблевые почки, а также отдельные микророзетки. Во втором и третьем пассажах выявлено около 14 % жизнеспособных клеточных клонов.

Далее проводили жесткую селекцию с использованием сублетальной дозы токсина (4 г/л) по схеме: селективная среда (2—3 пассажа) — контрольная среда (2—3 пассажа) — селективная среда (2—3 пассажа). В результате проведенной работы по такой схеме было получено 30 каллусных клонов, сохраняющих постоянный рост после вторичного переноса на селективную среду с сублетальной дозой. После четырех циклов отбора каллусы помещали на среду без токсина и в течение года вели пересадки на обычную среду DS-2, а затем снова пересаживали на селективную среду.

Частота сохранения признака устойчивости к токсину среди отобранных каллусных клонов составила около 40 %.

Из них получены четыре каллусные линии кормовой свеклы, у которых признак резистентности к токсину сохраняется на протяжении длительного времени (более 2 лет).

Активность роста каллуса является важной характеристикой устойчивости к стрессовым факторам. Все полученные токсинрезистентные каллусные линии кормовой свеклы отличались очень медленным ростом (табл. 1).

Относительный прирост сырой массы у данных линий при росте как на селективной среде, так и на контрольной был в 7—10 раз меньше, чем у исходной линии 25. В отличие от исходных, у резистентных каллусов, кроме замедленного роста, отмечены также мелкозернистая плотная структура и изменение пигментации с оранжевой на светло-желтую. Подобные морфологические изменения

Таблица 1

Относительный прирост сырой массы у резистентных каллусных линий кормовой свеклы

Клеточная линия	Масса каллуса ($M \pm m$), г, после недель пассажа		
	3	5	10
25 (контроль)	2,250 \pm 0,15	—*	—
3	0,260 \pm 0,01	0,390 \pm 0,05	0,980 \pm 0,07
8	0,120 \pm 0,02	0,210 \pm 0,02	0,830 \pm 0,03
11	0,320 \pm 0,03	0,470 \pm 0,07	1,050 \pm 0,03
13	0,280 \pm 0,01	0,410 \pm 0,03	0,990 \pm 0,04

*Не определяли.

наблюдались и у других резистентных к токсинам и культуральным фильтратам каллусных культур [2, 4, 6].

Показано, что устойчивые к низким температурным стрессам клеточные линии характеризуются медленным ростом, что обусловлено снижением содержания фитогормонов в клетке [19]. Поскольку наши резистентные к токсину бактериоза клеточные линии кормовой свеклы также оказались медленнорастущими, можно было предположить, что они проявят определенную устойчивость и к низким температурам. Поэтому нами была проведена серия экспериментов по изучению перекрестной устойчивости данных линий к температурному стрессу. Из литературных данных [16, 19] известно, что предварительная обработка опытного материала низкими положительными температурами 2—6 °С способствует повышению устойчивости культуры клеток к отрицательным температурам. Поэтому опыты с температурными стрессами проводили в два этапа — первоначально закаливание и последующая обработка отрицательными температурами.

Закаливание опытного материала осуществляли в двух режимах: 7 сут при 2 °С и 14 сут с последовательной с недельным интервалом сменой температур — 6 и 2 °С. Каллусы, прошедшие такое закаливание, не отличались по массе и пролиферации микророзеток от исходных. Последующая обработка закаленных каллусов отрицательной температурой -2 °С в течение 1, 8 и 16 ч не привела к гибели клеточных линий ни в одном из испытанных вариантов.

Однако у контрольных каллусов линии 25 через 5 недель отмечалось резкое замедление прироста биомассы (табл. 2) и снижение частоты пролиферации микророзеток до 50 %.

У резистентных к токсину каллусов подобная обработка не влияла на их способность формировать микророзетки и прирост биомассы.

Повторная обработка экспериментального материала температурой -5 °С в течение 21 ч оказалась критической для исходного каллуса (линии 25). Несмотря на его закаливание и предобработку температурой -2 °С, наблюдалась 100 %-я гибель каллуса (табл. 3). У токсинрезистентных клеточных линий при такой обработке через 7 недель выявлено около 40 % живых каллусов.

Регенерационная способность этих культур в зависимости от линии была на уровне 45—60 %. Однако количество стеблевых почек на них уменьшалось пропорционально увеличению экспозиции обработки и формировались розетки высотой до 20 мм. Среди каллусов с исходно светло-желтой окраской появлялись непигментированные, белого цвета каллусы. После переноса на свежую питательную среду каллусы с перекрестной устойчивостью хорошо росли в течение двух пассажей при низких положительных температурах (4 °С).

Следует отметить, что в результате обработки отрицательной температурой (-5 °С) с экспозицией в течение 14 ч исходной линии 25 было выделено три медленнорастущих штамма. Эти штаммы были высажены на среду с сублетальной дозой токсина. Показано, что данные штаммы оказались более жизнеспособными, чем исходная линия. Так, если у контрольной линии в третьем пассаже выявлено около 14 % живых каллусов, то у изучаемых штаммов их количество возросло до 23 %.

Проведенные цитологические исследования свидетельствуют о том, что первичный каллус, образовавшийся на экспланте листа, был исходно гетерогенным по числу хромосом. При доминировании диплоидных клеток (81 %) выявлены тетрап-

Таблица 2

Относительный прирост сырой биомассы у исходной и токсинрезистентных клеточных линий кормовой свеклы под действием отрицательной температуры ($-2^{\circ}\text{C}/16\text{ ч}$)

Клеточная линия	Масса каллуса ($M \pm m$), г, после недель пассажа		
	3	5	10
25 (контроль)	$0,730 \pm 0,15$	$1,225 \pm 0,25$	$2,800 \pm 0,40$
3	$0,245 \pm 0,02$	$0,390 \pm 0,02$	$0,990 \pm 0,05$
8	$0,130 \pm 0,02$	$0,240 \pm 0,03$	$0,850 \pm 0,07$
11	$0,335 \pm 0,03$	$0,485 \pm 0,05$	$1,070 \pm 0,04$

Таблица 3

Влияние обработки отрицательной температурой клеточных линий кормовой свеклы на пролиферацию микророзеток

Клеточная линия	Количество высаженных каллусов	Режим температурной обработки, $^{\circ}\text{C}$	Экспозиция, ч	Количество живых каллусов	Из них формировали розетки
25 (контроль)	100	-5	7	20	10
	100	-5	14	10	3
	100	-5	21	0	0
3	100	-5	7	75	70
	100	-5	14	60	48
	100	-5	21	35	21
8	100	-5	7	80	80
	100	-5	14	65	45
	100	-5	21	40	24
11	100	-5	7	70	63
	100	-5	14	50	42
	100	-5	21	35	14

лоидные и анеуплоидные клетки с околотетраплоидным числом хромосом (табл. 4).

Каллусная культура второго пассажа линии 25, использованная в качестве исходной для работ по клеточной селекции, характеризуется большой вариабельностью клеток по пloidности. Наблюдается полиплоидизация штамма, что выражается в появлении значительного количества гиперплоидных клеток. У исходной линии пloidность клеток варьирует от гиподиплоидных до гиперплоидных с пloidностью 6—12х.

При пересадке клеточных культур на среду с токсином уже в первом пассаже обнаруживаются значительные цитологические изменения по сравнению с контрольным каллусом.

Наблюдается резкое увеличение количества анеуплоидных клеток до 18—21% по сравнению с 7,3% у контрольного каллуса.

В клеточных популяциях каллусов обнаруживается значительное количество клеток с отклонениями от нормального процесса митоза. В анафазах клеток разного уровня пloidности отмечены отставания одной или нескольких хромосом, многочисленные мосты, двойные и одиночные фрагменты. Количество клеток с аномалиями митоза колеблется у разных линий от 12 до 16%. В то время как у контрольной линии 25 число таких клеток не превышало 3—4%, хотя спектр аномалий митоза был примерно таким же.

У резистентных линий третьего пассажа на-

Таблица 4
Частота клеток с различным числом хромосом у резистентных каллусных линий кормовой свеклы

Каллусная линия	Пассажи на селективной среде	Всего изучено метафаз	Количество клеток с числом хромосом, %					Анеуплоидные
			x	2x	3x	4x	> 4x	
3	1	86	—	23,3±4,6	12,8±3,6	34,9±5,1	10,4±3,3	18,6±4,2
	3	91	—	14,2±3,7	16,6±3,9	40,1±5,1	16,0±3,8	13,1±3,5
	6	96	—	8,3±2,8	18,8±4,0	52,0±5,1	11,6±3,3	9,3±3,0
8	1	92	—	27,1±4,6	9,7±3,1	35,9±5,0	7,7±2,8	19,6±4,1
	3	84	—	13,0±3,7	19,0±4,3	41,7±5,4	10,9±3,4	15,4±3,9
	6	87	—	10,3±3,3	16,1±3,9	49,4±5,4	16,2±4,0	8,0±2,9
11	1	97	—	25,8±4,4	13,3±3,4	32,0±4,7	8,3±2,8	20,6±4,1
	3	95	—	13,7±3,5	24,2±4,4	37,9±5,0	9,5±3,0	14,7±3,6
	6	89	—	6,7±2,7	20,2±4,2	53,9±4,3	11,3±3,4	7,9±2,7
13	1	84	—	21,4±4,5	9,5±3,2	34,7±5,2	13,0±3,7	21,4±4,5
	3	81	—	11,1±3,5	22,2±4,6	44,4±5,5	7,5±2,9	14,8±3,9
	6	82	—	6,1±2,6	19,5±4,4	52,4±5,5	13,5±3,8	8,5±3,1
25 (контроль)*	0	147	—	81,6±3,2	—	13,0±2,8	—	5,5±1,9
	2	151	4,0±1,6	32,4±3,8	14,6±2,9	28,4±3,7	13,3±2,8	7,3±2,1
	3	152	2,6±1,3	27,0±3,6	10,5±2,5	30,3±3,8	23,0±3,4	6,6±2,0
	6	154	—	20,7±3,3	7,9±2,2	40,9±4,0	26,6±3,6	5,4±1,9

*Контрольный каллус культивировали на обычной среде DS-2.

Таблица 5
Частота клеток с различным числом хромосом у токсинрезистентных каллусных линий кормовой свеклы после обработки отрицательной температурой (-5 °C/21 ч)

Каллусная линия	Пассажи после обработки	Всего изучено метафаз	Количество клеток с числом хромосом, %				Анеуплоидные
			2x	3x	4x	> 4x	
3	1	85	—	9,4±3,3	65,9±5,1	15,2±3,9	9,4±3,2
	4	88	2,3±1,6	11,4±3,4	61,4±5,2	14,7±3,8	10,2±3,2
8	1	87	—	12,6±3,5	62,1±5,2	13,8±3,7	11,5±3,4
	4	91	3,3±1,9	14,2±3,7	60,4±5,1	12,1±3,4	10,0±3,1
11	1	79	—	12,6±3,7	67,1±5,3	12,6±3,7	7,7±3,0
	4	83	—	15,6±4,0	62,7±5,3	10,8±3,4	10,9±3,4

блюдается снижение количества анеуплоидных клеток до 13—15 %, а также клеток с нарушениями митоза до 7—8 %. Обнаруживается дальнейшая полиплоидизация культур — доля клеток с тетраплоидным набором хромосом превышает 40 % на фоне значительного уменьшения исходного модаль-

ного класса 2x. Однако делящихся клеток с плоидностью выше 8x уже не обнаруживается.

При последующем пассировании каллусов на селективной среде наблюдается дальнейшая направленная изменчивость в пользу тетраплоидных клеток — их количество превышает 50 %.

Доля анеуплоидных клеток постепенно снижается и не превышает 10 %. По сравнению с контрольным каллусом у резистентных линий можно отметить значительно меньшее (в 2—3 раза) количество диплоидных клеток, а также высокоплоидных (в 2 раза). Вместе с тем выявляется значительно больше триплоидных клеток.

Таким образом, цитогенетический анализ структуры клеточных популяций резистентных к бактериальному токсину каллусных линий кормовой свеклы выявил сходный тип развития — увеличение степени полиплоидизации с возрастом культур и селективный отбор в пользу субпопуляции тетраплоидных клеток.

Анализ хромосомного состава клеточных популяций токсинрезистентных клеточных линий, подвергшихся обработке отрицательной температурой -5°C в течение 21 ч, через 4 недели после обработки выявил полное исчезновение класса диплоидных клеток. При доминировании тетраплоидных клеток (> 60 %) в популяции отмечены триплоидные, гексаплоидные и октоплоидные клетки, суммарное количество которых находилось на уровне 25—30 % (табл. 5). Анеуплоидные клетки в большинстве случаев имели околотетраплоидное число хромосом и составляли примерно 10 %.

Через три пассажа после температурной обработки в структуре клеточной популяции данных линий значительных изменений не обнаружено. Отмечено появление отдельных диплоидных клеток.

Таким образом, методами клеточной селекции получены четыре медленно растущие каллусные линии кормовой свеклы сорта Панфильская, резистентные к токсину возбудителя бактериальной пятнистости листьев *Ps. syringae* pv. *aptata*. Показана перекрестная устойчивость данных линий и к низким температурам. Отмечены морфологические изменения клеточных культур. Выявлен сходный тип развития каллусных культур — увеличение степени полиплоидизации под влиянием стрессовых факторов.

Н. Я. Губанова, О. В. Дубровна, Т. В. Чугункова

Комплексна селекція *in vitro* на стійкість клітинних ліній кормового буряку до токсину бактеріозу та низьких температур

Резюме

Отримано резистентні до токсину *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* калюсні лінії кормового буряку. Показано перехресну стійкість цих ліній і до низьких температур. Досліджено цитогенетичні особливості калюсних культур у процесі тривалого культивування на селективному середовищі та після обробки стійких ліній низькими температурами.

N. Ya. Gubanova, O. V. Dubrovna, T. V. Chugunkova

Complex *in vitro* selection of cell lines of mangel beet resistant to a toxin of bacteriosis pathogene and low temperatures

Summary

The callus strains of mangel beet resistant to a *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* toxin have been obtained. It is shown that these strains have also crossed resistance to low temperatures. The cytogenetic peculiarities of callus cultures during prolonged cultivation on the selective medium and under the influence of low temperatures have been studied.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аврова А. О., Тютчев С. А., Евстигнева Т. А., Козырева О. П. Селекция томатов *in vitro* на устойчивость к *Alternaria solani* // Тез. докл. 2-го Междунар. симпозиума «Растительная биотехнология и молекулярная биология» (Пушино, 18—20 мая 1993).—Пушино, 1993.—С. 105.
2. Toyoda H., Shimizu K., Chatani N., Kita J., Matsuda K. Selection of bacterial wilt-resistant tomato through tissue culture // Plant Cell, Tissue and Organ Cult.—1990.—22, N 3.—P. 191—196.
3. Хромова Л. М., Седина Г. В., Бутенко Р. Г., Яшина И. М., Русinov А. В. Клеточная селекция картофеля // С.-х. биология.—1983.—№ 6.—С. 3—12.
4. Быстрых Е. Е., Тарабрин Г. А. Оценка устойчивости пшеницы к гельминтоспориозу с использованием токсина возбудителя // Докл. Рос. Акад. с.-х. наук.—1993.—№ 5.—С. 5—7.
5. Ling D. H., Vidhyaseharan P., Borromeo E. C. *In vitro* screening of rice germplasm for resistance to brown spot disease using phytotoxin // Theor. and Appl. Genet.—1985.—71, N 1.—P. 133—135.
6. Масленников С. Е., Посыпанов Г. С., Мезенцева А. В. Разработка методических подходов для получения форм люцерны, устойчивых к фузариозу, с использованием культуры каллусов и клеток // Изв. ТСХА.—1994.—5.—С. 177—185.
7. Мазин В. В., Кирьян И. Г., Ключников Л. А. Использование патогена *Fusarium oxysporum* в клеточной селекции клевера на повышенную устойчивость к болезням // Тез. докл. Науч.-метод. совещ. (пос. Немчиновка, Моск. обл., 15—17 ноября, 1994).—М.: Наука, 1994.—С. 34—35.
8. Michle M. N. Di., Toponi M. A. Cold stress organogenesis in tobacco pith tissue culture // G. Bot. Ital.—1989.—123, N 1.—2, Suppl. N 2.—P. 188.
9. Yamaguchi M., Yamoda A., Hinata K. Varietal differences the response to low temperature treatment for callus formation in anther culture of rice // Jap. J. Bred.—1990.—40, N 2.—P. 193—198.
10. Songstad D. D., Duncan D. R., Widholm J. M. Involvement in chilling tolerance of maize suspension cultures // J. Exp. Botany.—1990.—41, N 224.—P. 284—289.
11. Chandler S. F., Reak K. J., Pua E.-C., Trevor A. The effectiveness of selection for salinity tolerance using *in vitro* shoot cultures // Bot. Gaz.—1988.—149, N 2.—P. 166—172.
12. Le Dily F., Hagege D., Billard J. P., Bossoutrot D. Effect du chlorure de sodium sur la croissance et le potentiel osmotique de cals normaux et habitues de betterave sucriere // Biol. Plant.—1990.—12, N 4.—P. 256—265.
13. Freytag A. H., Wrather J. A., Erichsen A. W. Solt tolerant sugarbeet progeny from tissue cultures challenged with multiple salt // Plant Cell Repts.—1990.—8, N 11.—P. 647—650.

14. Lepoivre P., Carels N. Selection of sugar beet calli to obtain plants resistant to *Cercospora beticola* // Nucl. Techn. and *in vitro* Cult. Plant Improv.: Proc. Int. Symp. (Vienna, 19—23 Aug., 1985).—Vienna, 1986.—P. 305—308.
15. Долгих О. И. Принципы скрининга клеток *in vitro* с целью получения устойчивых к абиотическим стрессам форм растений // 2-й Рос. симпоз. «Новые методы биотехнологии растений» (Пушино, 18—20 мая, 1993): Тез. докл.—Пушино, 1993.—С. 103.
16. Swaaij A., Jacobsen E., Keil J., Feenstra W. Selection, characterization and regeneration of hydroxyproline-resistant cell lines of *Solanum tuberosum*: tolerance to NaCl and freezing stress // *Physiol. plant.*—1986.—68, N 3.—P. 359—366.
17. Doley W. P., Saunders G. W. Hormone-free medium will support callus production and subsequent shoot regeneration from whole leaf explants in same sugar beet (*Beta vulgaris L.*) populations // *Plant Cell Repts.*—1989.—8, N 4.—P. 222—225.
18. Кучеренко Л. А., Маддумге Р. П., Гужов Ю. Л. К методике определения массы каллусных тканей в процессе культивирования // С.-х. биология.—1991.—№ 3.—С. 84—85.
19. Zhu B., Ryn S. B., Li P. H. Effect of abscisic acid biosynthesis inhibitor on cold induced hardiness in cultured plant cell // *Plant Physiol.*—1990.—93, N 1.—P. 84.

УДК 57.085.23:633.63

Поступила в редакцию 11.12.98