

2. Cibelli J.B., Grant, K. A., Chapman, K. B., Cunniff, K., Worst, T., Green, H. L., Walker, S. J., Gutin, P. H., Vilner, L., Tabar, V., et al. Parthenogenetic stem cells in nonhuman primates // Science.- 2002. – vol. 295. – P. 819.
3. Lunney J.K. *Advances in Swine Biomedical Model Genomics* // Int. J. Biol. Sci. – 2007. – vol. 3, № 3. – P. 179–184.
4. Miyoshi K, Rzucidlo SJ, Pratt SL, Stice SL. Utility of rapidly matured oocytes as recipients for production of cloned embryos from somatic cells in the pig. Biol Reprod 2002. – vol. 67, №2. – P. 540–545.
5. Nagashima H., Fujimura T., Takahagi Y., Kurome M., Wako N., Ochiai T., Esaki R., Kano K., Saito S., Okabe M., Murakami H. Development of efficient strategies for the production of genetically modified pigs // Theriogenology. – 2003. – vol. 59, № 1. – P. 95–106.
6. Niemann H., Rath D. Progress in reproductive biotechnology in swine // Theriogenology. – 2001.— vol. 56, №8. – P. 1291–1304.
7. Onishi A, Iwamoto M, Akita T, Mikawa S, Takeda K, Awata T, Hanada H, Perry ACF: Pig cloning by microinjection of fetal fibroblast nuclei // Science. – 2000. – vol. 289. - P. 1188–1190.
8. Prather R.S., Hawley R.J., Carter D.B., Lai L., Greenstein J.L. Transgenic swine for biomedicine and agriculture // Theriogenology. – 2003. – vol. 59, №1. – P. 115–123.
9. Sağırkaya H. Production of chimeric cattle embryos by reaggregation of blastomeres obtained from day 4 bovine embryos // Turk. J. Vet. Anim. Sci. – 2004. – vol. 28. – P.623–631
10. Surani M.A. Influence of genome imprinting on gene expression, phenotypic variations and development //Hum.Reprod. – 1991. – vol. 6, №1. – P.45–51.
11. Tarkowski A.K. An air-drying method for chromosome preparation from mouse eggs // Cytogenetics.— 1966. – vol. 5, №3. – P.394–400.

#### **Резюме**

Изложены результаты исследований вопроса получения партеногенетических эмбрионов свиней *in vitro*. Показана возможность партеногенетического развития созревших *in vitro* ооцитов свиней после обработки этанолом до 16-клеточной стадии.

The results of investigations of reception parthenogenetic pig embryos *in vitro* are given in account. The possibility of parthenogenetic development of *in vitro* matured porcine oocytes after treatment with ethanol to 16-cell stage embryos has been showed.

#### **ПИРАЛОВ Г.Р., АБРАИМОВА О.Е.**

*Институт зернового хозяйства УААН,*

*Украина, 49600, Днепрпетровск, ул. Дзержинского, 14, e-mail: inst\_zerna@mail.ru*

#### **КУЛЬТУРА ТКАНИ НЕКОТОРЫХ ГЕНОТИПОВ КУКУРУЗЫ ЗАРУБЕЖНОЙ СЕЛЕКЦИИ**

К настоящему времени в культуре ткани кукурузы исследованы многие её генотипы: линии, их стерильные аналоги, гибриды, мутанты и т. д. Установлено, что кукуруза в биотехнологических исследованиях является объектом сложным, что выражается в дифференциации и поляризации её генотипов в способности к каллусогенезу и регенерации. Поэтому одной из практических задач в этой области является поиск путей расширения круга отзывчивых генотипов кукурузы и усиления реакции низкоотзывчивых образцов, выявление и оптимизация всех факторов, влияющих на процессы выращивания растительного материала в культуре *in vitro*. В таком поиске определенный интерес приобретают генотипы кукурузы, обладающие диаметрально противоположной реакцией в культуре *in vitro*: как высокоотзывчивые,

"модельные", так и низкоотзывчивые. Для выявления таких генотипов мы сравнили особенности каллусогенеза и регенерации в культуре ткани пяти линий кукурузы зарубежной селекции Chi31, W64a, B73, W38 и A357. Линия Chi31 известна своим высоким морфогенетическим потенциалом [3] и использовалась в качестве стандарта. Наиболее контрастной ей по реакции в культуре ткани, судя по данным литературы, является линия B73 [4]. Данные о морфогенетическом потенциале генотипа W64a противоречивы [2], а линии W38 и A357 исследованы недостаточно.

#### Материалы и методы

Каллусы получали из незрелых зародышей (длина 1,0-2,0 мм, возраст – 15 дней). Растения доноры выращивали в весенне-летний период в поле. Подготовку и стерилизацию первичных эксплантов проводили по общепринятой методике [2]. Их высаживали на среды, содержащие макро- и микроэлементы сред MS и N6, дополненные L-пролином (690 мг/л), гидролизатом казеина (100 мг/л) и сахарозой (20 г/л). Концентрация 2,4-D – 1,0 мг/л, агара – 7 г/л. Культуру получали и выращивали в темноте при  $t=25-27^{\circ}\text{C}$ . Каждые 20-25 дней материал переносили на свежую среду. Для дифференциации и регенерации каллусы в возрасте 60-90 дней пересаживали на среды того же состава содержащие 0,1 мг/л ауксина, проростки длиной примерно в 1 см – на безгормональные среды. Растения в фазе 2-3 листочков с хорошо развитой и тщательно отмытой от агара корневой системой переносили в вегетационные сосуды и выращивали в стеклянных боксах при  $t=22-27^{\circ}\text{C}$  и освещении лампами ДРИ 2000-6 с фотопериодом 16/8 (день/ночь) или же в естественных условиях. Данные обрабатывали по Плохинскому [1] (однофакторный дисперсионный анализ).

#### Результаты и обсуждение

В первые дни культивирования зародыши увеличивались в размерах и в течение 2-3 недель формировали каллусную ткань. Она различалась по текстуре, степени развитости поверхности, наличию признаков дифференциации, скорости роста и чаще, как видно из таблицы 1, образовывалась на среде MS. Наиболее активно каллусы образовывались генотипами Chi31 и A357 (более 90%), при этом все их новообразования оказывались рыхлыми. Частота индукции каллусов остальными генотипами была ниже и варьировала в интервале 38,0-89,5%%, к тому же часть новообразований этих линий была компактной.

Частота образования эмбриогенных каллусов варьировала в зависимости от генотипа и среды от 0 до 60,9%%, а наибольшие её показатели выявились у линии Chi31 и A357 (25,9-60,9%%). У линии W64a они составили всего 1,8-6,0%%. Определенный интерес представляет реакция линии B73. Частота образования её каллусов была относительно высокой, составив 62,1-89,5%%, но они отличались крайне медленным ростом и очень мелкими размерами. Частота встречаемости среди них эмбриогенных новообразований не превышала 1,2%.

Компактную каллусную ткань поддерживали в культуре 3-4 месяца, рыхлую – более полугода. Наиболее активным ростом характеризовалась рыхлая эмбриогенная каллусная ткань линии Chi31.

Таблица 1

#### Частота образования каллусной ткани и её морфологические особенности.

Генотип	Среда	Высажено зародышей шт.	Получено каллусов, %					
			всего	эмбриогенных	из них			
					компактных		рыхлых	
					всего	эмбриогенных	всего	эмбриогенных
Chi31	MS	174	98,8	60,9a*	0	0	98,3	60,9a
	N6	131	98,5	25,9b	0	0	98,5	25,9b
A357	MS	105	91,4a	53,3	0	0	91,4a	53,3
	N6	101	100b	42,6	0	0	100b	42,6

W38	MS	127	55,9a	12,6	0a	0a	55,9a	12,6a
	N6	166	38,0b	9,0	38,0b	9,0b	0b	0b
W64a	MS	218	72,9a	1,8a	67,4a	1,4a	5,5	0,5
	N6	249	44,6b	6,0b	39,8b	6,0b	4,8	0
B73	MS	48	89,5a	0	0a	0a	89,6a	0
	N6	161	62,1b	2	39,7b	1,2b	22,4b	0
Всего	MS	672	80,4a	27,1a	21,9a	0,4a	58,5a	26,6a
	N6	808	62,4b	13,5b	28,0b	4,0b	34,4b	9,5b

\* разными латинскими буквами обозначены достоверно различающиеся варианты опыта при попарном сравнении ( $P=0,05$ )

Процесс дифференциации и регенерации морфогенных каллусов носил спонтанный характер и уже в первые 15-20 дней культивирования зародышей на среде с исходным содержанием 2,4-D на каллусах обнаруживались крупные и мелкие глобулы, соматические эмбриониды, мелкие листовидные структуры и т.д. Частота регенерации при снижении в среде концентрации ауксина и выживаемость растений после их пересадки в почву представлены в таблице 2.

Таблица 2

#### Частота регенерации и жизнеспособность регенерантов $R_0$

Генотип	Среда	Число изученных каллусов, шт.	Число растений на каллус, шт.	Число регенерантов, шт.	
				высаженных в почву	завершивших вегетацию
Chi31	MS	63	2,6	164	54
	N6	17	0,7	12	3
W38	MS	14	0,2	3	2
	N6	25	1,0	24	13
W64a	MS	8	2,2	18	8
	N6	10	0,9	9	6
A357	MS	74	0,3	23	4
	N6	10	0,4	4	1
B73	N6	2	0	0	0

Как видно из этой таблицы, более активно регенерировали каллусы линий Chi31 и W64a, полученные на среде MS более 2 растений на каллус. При высокой частоте образования эмбриогенных каллусов линия A357 отличалась низкой частотой регенерации и плохой выживаемостью растений. Достоверные различия в частоте регенерации выявились только между линией Chi31 (среда MS) с одной стороны, и линиями W38 и A357 (среды MS и N6) с другой.

В целом, из 257 регенерантов всех линий завершило вегетацию 91 растение. Последние существенно отличались от исходных форм особенностями развития вегетативной и генеративной сферы. Наиболее мощными, жизнеспособными, хорошо развитыми, с меньшим числом отклонений от нормы являлись регенеранты линий W38 и W64a. Большинство из них имело сравнительно более толстый стебель и широкие темно-зеленые листья. В отличие от них, регенеранты линий Chi31 и A357 чаще имели тонкий невысокий стебель и узкие, короткие светло-зеленые листья.

Серьезным препятствием в получении потомства регенерантов являлось отсутствие початка или большой разрыв во времени цветения между метелкой и початком. Эта проблема частично снималась тем, что у ряда растений формировались обоопольные верхушечные соцветия, при изоляции которых в цветках завязывались семена. Как видно из таблицы 3, самоопылиться удалось 24 растения. Часть остальных регенерантов опыляли пылью сестринских растений. Все опыленные растения завязали семена.

Некоторые биологические особенности регенерантов R<sub>0</sub>

Генотип	Число растений, шт.					Число початков на растении, шт.	Высота растений, см
	изученных	с метёлкой и початком	без початка	с обоюполюым верхушечным соцветием	само-опылённых		
Chi31	57	40	17	6	6	0-1	7-80
W38	14	13	1	2	3	1-3	20-70
W64a	14	13	1	5	9	0-2	20-60
A357	5	5	0	5	6	1-2	30-50

**Выводы**

Подводя краткий итог выполненной работе, и оценивая морфогенетический потенциал генотипа совокупностью показателей частоты образования тотипотентной каллусной ткани, темпами её прироста, размножаемостью и частотой регенерации, отметим, что у изученных линий он оказался ниже, чем у Chi31. Несмотря на высокую частоту образования эмбриогенных каллусов незрелыми зародышами линии A357, эти каллусы отличались низкой частотой регенерации, а наиболее низкий морфогенетический потенциал выявился у линии B73. Тем не менее, эти линии должны представлять определенный интерес в дальнейших исследованиях особенностей физиологической, и в частности, гормональной регуляции процессов протекающих в культуре *in vitro*.

**Литература**

1. *Плохинский А.* Биометрия // М.: Изд-во МГУ. – 1970. – С. 198.
2. *Чеченева Т.Н., Моргун В.В., Рубан Т.А.* Регенерация растений из различных типов каллусных тканей инбредных линий и гибридов кукурузы // ДАН УССР. Геол., хим. и биол. науки. 1988.– Сер.Б.– № 1.– С. 80-84.
3. *Novak F.J., Dolezelova M., Nesticky M., Piovarci A.* Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Zea mays* L. // *Maydica*.– 1983.– XXVIII, № 4.– P.381-390.
4. *Tomes D.T., Smith O.S.* The effect of parental genotype on initiation of embryogenic callus from elite maize (*Zea mays* L.) germplasm // *Theor. and Appl. Genet.*– 1985.– 70, № 5.– P.505-509.

**Резюме**

В статье приводятся результаты изучения морфогенетического потенциала 5 линий кукурузы зарубежной селекции. Найдено, что на фоне контрольного генотипа китайской селекции Chi31 линии W64a, W38, A357 характеризуются более низким морфогенетическим потенциалом. Самые низкие его показатели выявились у линии B73. Получена и описана большая группа регенерантов R<sub>0</sub>.

В статті наведені результати вивчення морфогенетичного потенціалу 5 ліній кукурудзи зарубіжної селекції. Знайдено, що на фоні контрольного генотипу китайської селекції Chi31 лінії W64a, W38, A357 характеризуються більш низьким морфогенетичним потенціалом. Самим низькочутливим генотипом в експерименті виявилася лінія B73. Одержана та описана велика група регенерантів R<sub>0</sub>.

In the article the results of morphogenetic potential research of 5 maize inbreds of foreign selection is described. It was established, that on the comparison with inbred Chi 31 as control, inbreds W64a, W38 and A357 have lower morphogenetic potential. The least responsive genotype in experiment was inbred B73. The large group of regenerates R<sub>0</sub> was obtained and described.