

УДК 633.11:581.143.5

## **ФОРМИРОВАНИЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО ОЧАГА КАК НАЧАЛЬНЫЙ ЭТАП МОРФОГЕНЕЗА IN VITRO В КАЛЛЮСАХ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ У ПШЕНИЦЫ**

**О.А. СЕЛЬДИМИРОВА, А.А. КАТАСОНОВА, Н.Н. КРУГЛОВА**

*Институт биологии Уфимского научного центра Российской академии наук  
450054 Уфа, просп. Октября, 69  
e-mail: kruglova@anrb.ru*

Проведены цитогистологический и ультраструктурный анализы формирования морфогенетических очагов, их преобразования в поверхностную меристематическую зону в каллюсах, полученных в культуре *in vitro* незрелых зародышей и в культуре *in vitro* пыльников яровой мягкой пшеницы. Дана оценка морфогенетического очага как начального этапа морфогенеза *in vitro*.

*Ключевые слова:* *Triticum aestivum* L., эмбриокультура *in vitro*, культура *in vitro* пыльников, морфогенез, каллюс.

В основе получения растений-регенерантов в каллюсных культурах лежит исключительное свойство растительной клетки — ее тотипотентность как свойство иметь все морфогенетические возможности, присущие данной особи и реализующиеся различными путями морфогенеза [3]. Конечный результат этого свойства, способы и формы его осуществления могут быть различными в зависимости от степени тотипотентности клетки [5]. В каллюсных культурах *in vitro* возможна реализация потенции ко всем присущим растению путям морфогенеза (органогенез по типам геммогенеза, ризогенеза, гемморизогенеза, а также эмбриоидогенез, гистогенез) [3—5, 18, 22].

Анализируя клеточные и тканевые особенности начального этапа морфогенеза *in vitro* в каллюсах, большинство исследователей склоняются к мысли, что морфогенез начинается с формирования в каллюсе групп меристематических клеток — так называемых «очагов морфогенеза». Однако единое мнение о том, где конкретно в каллюсе располагаются морфогенетические очаги, отсутствует. Ряд исследователей полагает, что такие очаги формируются на поверхности каллюса [11, 25, 29, 32, 35, 40, 42], другие считают, что морфогенез начинается в группах интенсивно делящихся меристематических клеток, располагающихся в толще каллюса, который сам состоит главным образом из вакуолизированных паренхиматозных клеток [12, 27, 28, 38, 44].

В связи с этим цель данной работы заключалась в детальном цитогистологическом и ультраструктурном анализе начальных этапов морфогенеза *in vitro* в каллюсах различного происхождения у пшеницы.

### **Методика**

Объектом исследования был сорт яровой мягкой пшеницы Башкирская 26. Изучали два типа каллюсов различного происхождения. Морфоген-

ные каллюсы из незрелых зародышей (15—17 сут после искусственного опыления, стадия органогенеза по периодизации [15]) получали и культивировали согласно Суханову, Папазян [19] в модификации Шаяхметова [21]. Морфогенные каллюсы в культуре *in vitro* пыльников получали и культивировали, как описано в работе [13]. Для световой микроскопии (СМ) каллюсы фиксировали в смеси FAA [24]. Постоянные микротомные препараты готовили по общепринятой методике [2]. Срезы окрашивали с помощью ШИК-реакции [8]. Для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) каллюсы готовили, как описано в работе [6]. Ультратонкие срезы анализировали с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEM-1200 EX (JEOL, Япония). Полутонкие срезы окрашивали согласно [33]. Постоянные препараты и полутонкие срезы просматривали и фотографировали на микровизоре проходящего света  $\mu$ Vizo-103 («ЛОМО ФОТОНИКА», Санкт-Петербург).

### Результаты и обсуждение

Ранее экспериментально установлено, что морфогенные каллюсы пшеницы, полученные как в культуре *in vitro* незрелых зародышей [14], так и в культуре *in vitro* пыльников [16], представляют собой структуры, имеющие плотную компактную консистенцию, матовый желтовато-белый цвет и, как правило, узловатую форму. Доказано, что именно такие каллюсы способны к морфогенезу, а в последующем — к регенерации растений [14, 16].

Согласно данным цитогистологического анализа, на начальных этапах развития клетки морфогенных каллюсов обоих типов, несмотря на определенную гетерогенность, в основном однородны и плотно прилегают друг к другу (рис. 1, *а, б*). По таким признакам, как округлая или изодиаметрическая форма, незначительная вакуолизация, высокое ядерно-цитоплазмное отношение и тонкие клеточные стенки, большинство клеток каллюса можно охарактеризовать как меристематические.

В ходе дальнейшего развития в каллюсах обоих типов начинают четко выделяться два типа клеток. К первому относятся клетки, обособляющиеся в виде небольших групп в толще каллюса. Они характеризуются относительно малыми размерами, интенсивно окрашивающейся цитоплазмой и наличием крупного центрально расположенного ядра, окруженного мелкими вакуолями (см. рис. 1, *в—е*). Такие клетки интенсивно делятся (см. рис. 1, *д, е*), деления быстро следуют одно за другим без перехода клеток к росту растяжением. Ко второму типу относятся клетки, которые увеличиваются в размерах, вакуолизируются и приобретают паренхиматозный характер (см. рис. 1, *в—д*). В дальнейшем мы исследовали только клетки первого типа, которые по данным цитогистологического анализа можно рассматривать как меристематические.

Ультраструктурный анализ подтвердил, что клетки в каллюсах обоих типов характеризуются электронноплотной цитоплазмой (за счет содержания большого количества свободных рибосом) (рис. 2), крупными центрально расположенными ядрами (см. рис. 2, *а, д*), тонкими клеточными стенками с многочисленными плазмодесмами (см. рис. 2, *б, и*). В цитоплазме выявлены малочисленные короткие каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума (гЭПР) (см. рис. 2, *а, з*). Пластиды и митохондрии ювенильны по внутренней структуре и почти одинаковы по размеру (см. рис. 2, *в, ж*). В пластидах содержится небольшое коли-

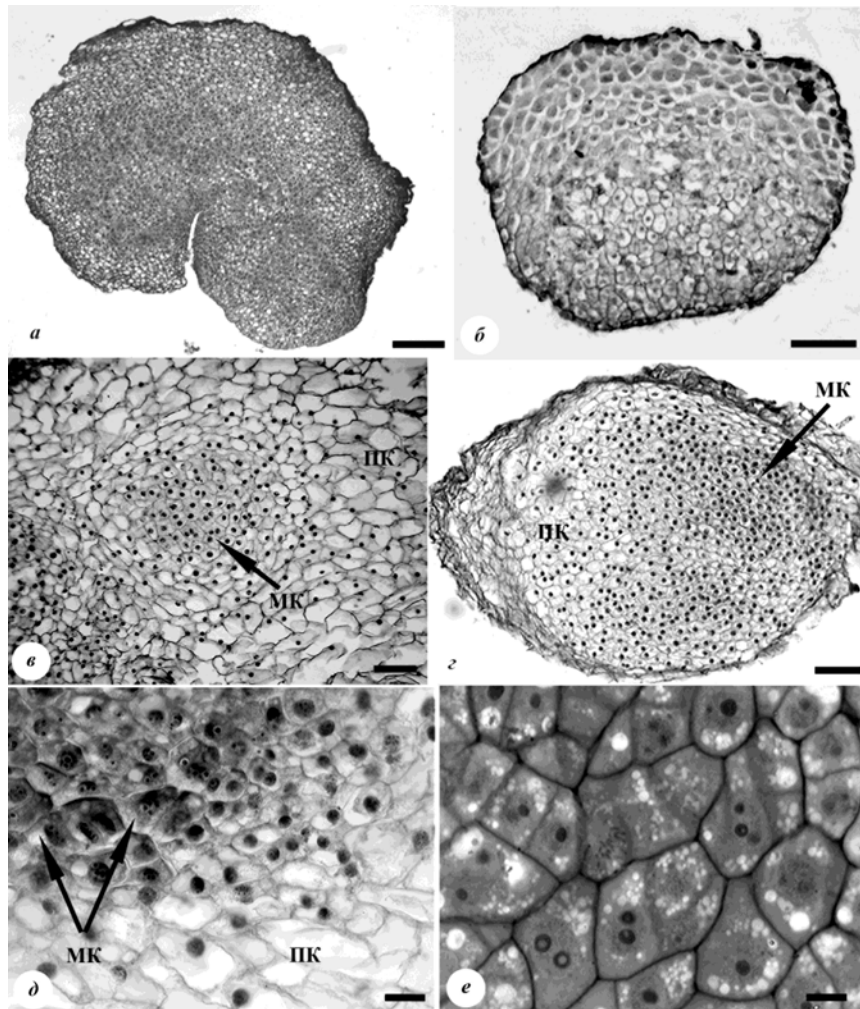


Рис. 1. Формирование в каллусе морфогенетического очага:

*a, в, д* — каллус, полученный в культуре *in vitro* незрелых зародышей; *б, з, д* — каллус, полученный в культуре *in vitro* пыльников; *a, б* — общий вид морфогенного каллуса; *в, з* — формирование в каллусе морфогенетического очага; *д* — увеличено с *в*; *е* — клетки морфогенетического очага; *a–д* — постоянные препараты (СМ); *е* — полутонкий срез (СМ); МК — меристематические клетки; ПК — паренхиматозные клетки (масштаб: *a* — 200 мкм, *б, з* — 100, *в* — 50, *д* — 25, *е* — 10 мкм)

чество крахмала в виде единичных мелких крахмальных зерен. Аппарат Гольджи (АГ) неактивен и представлен небольшим количеством диктиосом, состоящих из 3–4 цистерн (см. рис. 2, *з*).

Несмотря на значительное сходство, в ультраструктуре клеток каллюсов разного происхождения обнаруживаются некоторые различия. Так, клетки в каллюсах, полученных в культуре *in vitro* пыльников, более вакуолизированные (см. рис. 2, *д*), в цитоплазме вдоль клеточной стенки просматриваются длинные каналы агранулярного эндоплазматического ретикулаума (аЭПР) (см. рис. 2, *е*), с функционированием которого, по-видимому, связан интенсивный синтез липидов (см. рис. 2, *и*).

Тем не менее ультраструктурные особенности клеток в каллюсах обоих типов характерны для интенсивно делящихся клеток [17], что подтверждает их статус как меристематических и позволяет рассматривать группу таких клеток как морфогенетический очаг.

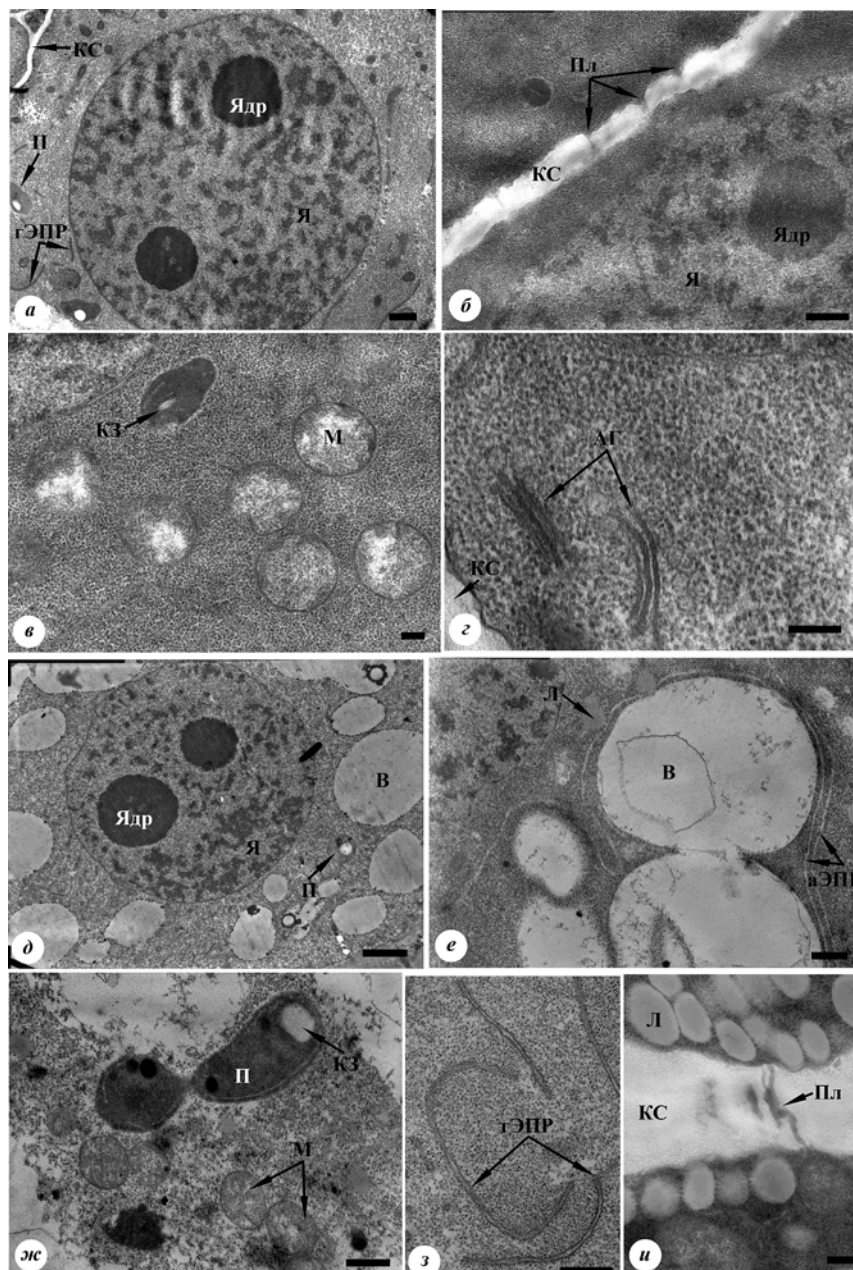


Рис. 2. Ультраструктурные особенности клеток морфогенетического очага (ТЭМ):

*a–г* — каллос, полученный в культуре *in vitro* незрелых зародышей; *д–и* — каллос, полученный в культуре *in vitro* пыльников; *a, д* — общий вид клетки; *б, и* — фрагменты клеточных стенок; *в, г, е–з* — фрагменты цитоплазмы с органеллами; АГ — аппарат Гольджи; аЭПР — агранулярный эндоплазматический ретикулум; В — вакуоль; гЭПР — гранулярный эндоплазматический ретикулум; КЗ — крахмальное зерно; КС — клеточная стенка; Л — липидное включение; М — митохондрия; П — пластида; Пл — плазмодесма; Я — ядро; Ядр — ядрышко (масштаб: *a* — 1 мкм, *б, е–з* — 500 нм, *в, и* — 200 нм, *г* — 100 нм, *д* — 2 мкм)

По мере дальнейшего культивирования каллусов *in vitro* меристематические очаги, первоначально состоявшие из достаточно однородных клеток, постепенно приобретают отчетливую зональность. Выделяется центральная зона, клетки которой сохраняют меристематическую активность и находятся в состоянии пролиферации, и периферическая

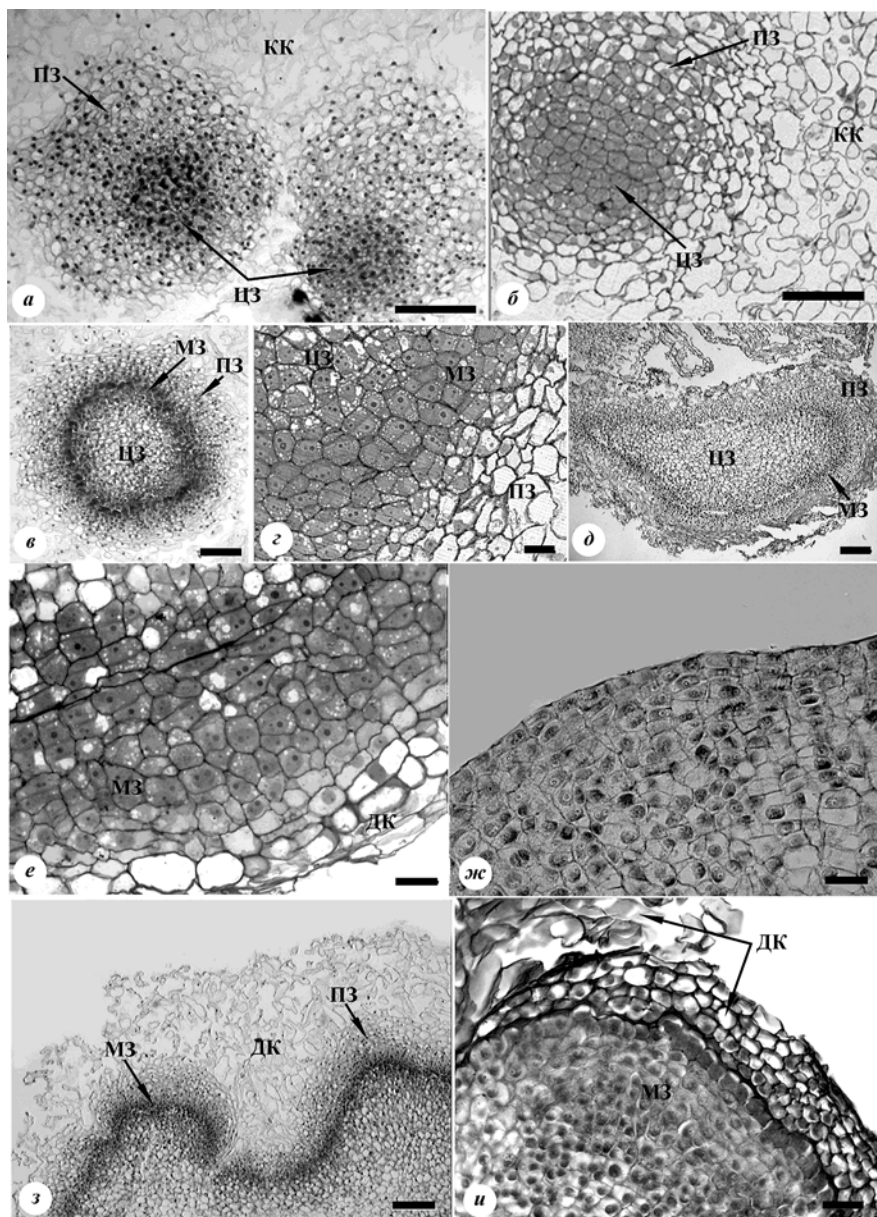


Рис. 3. Преобразование морфогенетического очага в поверхностную меристематическую зону:

*a, в, д–ж* — каллус, полученный в культуре *in vitro* незрелых зародышей; *б, г, з, и* — каллус, полученный в культуре *in vitro* пыльников; *a, б* — двухслойный морфогенетический очаг; *в, г* — трехслойный морфогенетический очаг; *д–и* — формирование поверхностной меристематической зоны; *a, в, д, ж–и* — постоянные препараты (СМ); *б, г, е* — полутонкие срезы (СМ); ДК — дегенерирующие клетки; КК — клетки каллуса; МЗ — меристематическая зона; ПЗ — периферическая зона; ЦЗ — центральная зона (масштаб: *a, з* — 200 мкм, *б, в, д–ж* — 100, *г* — 25, *и* — 50 мкм)

зона, клетки которой становятся более крупными и вакуолизируются (рис. 3, *a, б*). Клетки каллуса, окружающие меристематические очаги, располагаются рыхло и разнообразны по форме; большая их часть разрушается (см. рис. 3, *a, б*).

В ходе дальнейшего развития в большинстве клеток центральной зоны меристематического очага, за исключением клеток нескольких

внешних слоев, отмечено появление вакуолей. В итоге меристематический очаг представлен тремя зонами клеток (см. рис. 3, *в*, *з*): центральная — слабовакуолизованных клеток, промежуточная — меристематических и периферическая — сильновакуолизованных клеток.

По мере развития меристематический очаг увеличивается в размерах за счет делений клеток промежуточной зоны. При этом клетки периферической зоны подвергаются постепенной деструкции (см. рис. 3, *д*, *е*, *з*, *и*). Под дегенерирующими поверхностными клетками формируется зона, состоящая из нескольких слоев меристематических клеток (см. рис. 3, *е—и*).

По данным ультраструктурного анализа, клетки поверхностной меристематической зоны в каллюсах обоих типов характеризуются плотной цитоплазмой (рис. 4, *а—в*, *д—и*) и тонкими клеточными стенками с многочисленными плазмодесмами (см. рис. 4, *а*, *д*, *ж*). В пластидах продолжает аккумулироваться крахмал, причем в клетках каллюсов, полученных в культуре *in vitro* пыльников, крахмальные зерна крупнее, а их количество больше, чем в клетках каллюсов, полученных в культуре *in vitro* незрелых зародышей (см. рис. 4, *б*, *з*). Возрастает количество митохондрий, система крист становится хорошо развитой (см. рис. 4, *в*, *е*). В клетках каллюсов, полученных в культуре *in vitro* незрелых зародышей, увеличиваются количество и длина каналов гЭПР (см. рис. 4, *ж*), значительно повышается активность АГ: возрастает количество диктиосом, цистерны которых заканчиваются многочисленными секреторными пузырьками (см. рис. 4, *и*). В клетках каллюсов, полученных в культуре *in vitro* пыльников, увеличивается количество каналов аЭПР (см. рис. 4, *б*). Клетки поверхностной меристематической зоны активно делятся, вследствие чего происходят нарастание массы каллюса и инвагинация его поверхности (см. рис. 3, *ж*, *з*; рис. 4, *д*). В противоположность этому клетки нижележащих зон каллюса вакуолизируются, некоторые в значительной степени, в них отмечается автолиз (см. рис. 4, *з*, *к*). По сравнению с каллюсами, полученными в культуре *in vitro* незрелых зародышей, где вакуолизованные клетки плотно упакованы (см. рис. 4, *к*), в каллюсах, полученных в культуре *in vitro* пыльников, вакуолизованные клетки отделены друг от друга толстыми клеточными стенками и крупными межклетниками. Часть клеток разрушается (см. рис. 4, *з*).

Полученные данные дают основание сделать вывод, что в дальнейшем реализация различных путей морфогенеза *in vitro* каллюсов обоих типов связана именно с деятельностью клеток меристематической зоны.

Многие авторы также связывают процессы эмбриоидогенеза [26, 30—32, 35, 37, 39, 40, 43—46 и др.] и органогенеза [10—12, 28, 30, 32, 37, 39, 45] в каллюсах с деятельностью клеток поверхностной меристематической зоны, однако, к сожалению, большинство авторов не иллюстрирует данные.

В литературе имеются сведения о подобной последовательности развития морфогенетических очагов и меристематической зоны и таком же их строении [1, 7, 12, 20, 43, 44]. В работах других авторов [1, 7] последовательность развития морфогенетических очагов рассмотрена как метаморфоза каллюсов, а каждый этап развития морфогенетических очагов — как особый тип каллюсных тканей. Однако на основании полученных данных мы считаем, что такие этапы развития морфогенетических очагов представляют собой последовательные события одного и

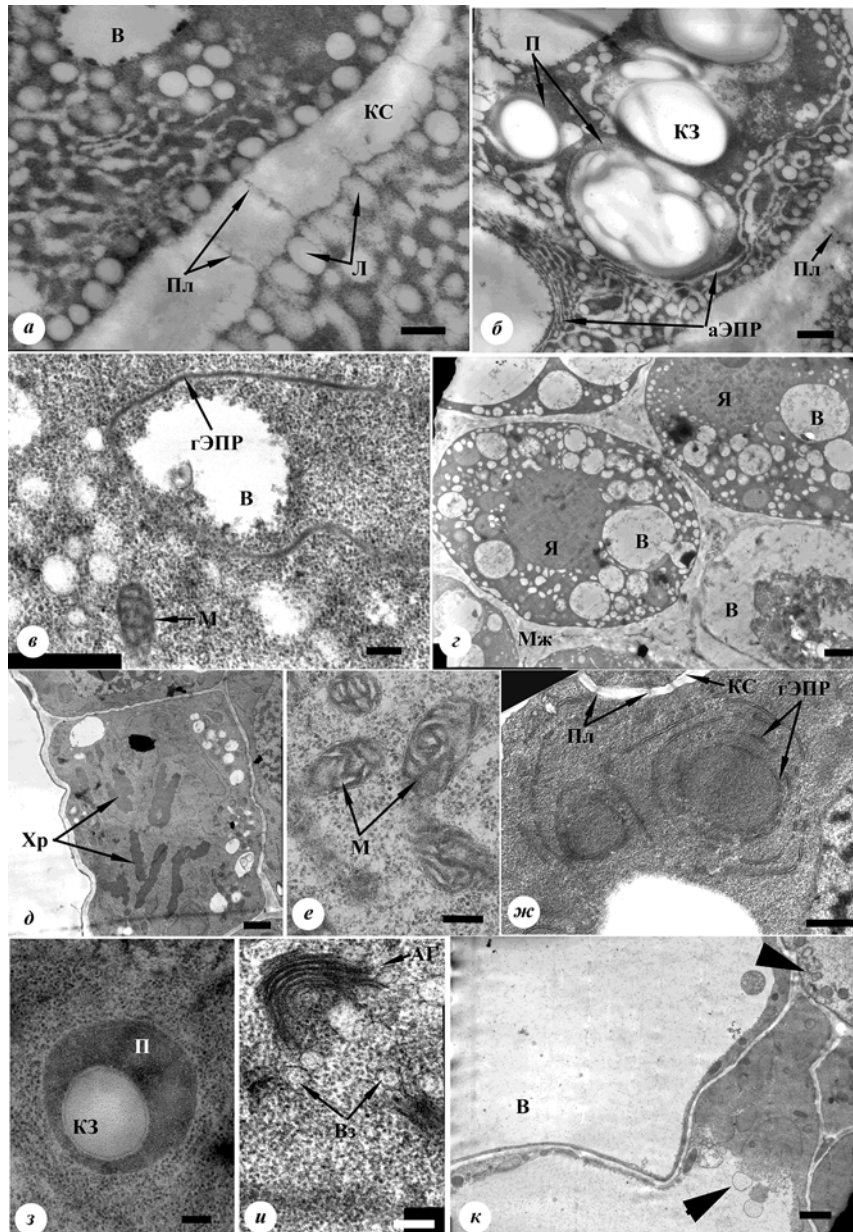


Рис. 4. Ультраструктурные особенности клеток поверхностной меристематической зоны (ТЭМ):

*a–г* — каллус, полученный в культуре *in vitro* пыльников; *д–к* — каллус, полученный в культуре *in vitro* незрелых зародышей; *a–в, д–и* — фрагменты клеток поверхностной меристематической зоны; *г, к* — ультраструктура клеток, лежащих под поверхностной меристематической зоной; АГ — аппарат Гольджи; аЭПР — агранулярный эндоплазматический ретикулум; В — вакуоль; В<sub>з</sub> — секреторная везикула; гЭПР — гранулярный эндоплазматический ретикулум; КЗ — крахмальное зерно; КС — клеточная стенка; Л — липидное включение; М — митохондрия; Мж — межклетник; П — пластида; Пл — плазмодесма; Хр — хромосома; Я — ядро; наконечниками стрелок указано явление автолиза (масштаб: *a, б* — 500 нм, *в, з* — 200 нм, *г, д, к* — 2 мкм, *е, и* — 100 нм, *ж* — 1 мкм)

того же процесса, тогда как формирование морфогенетического очага и его дальнейшее преобразование в поверхностную меристематическую зону — начальный этап, характерный для различных путей морфогенеза *in vitro* в морфогенных каллусах.



Сообщалось также [36], что в качестве маркера эмбрионных клеток и ранних этапов соматического эмбриогенеза может быть использован ген *SERK*, первоначально идентифицированный в суспензионной культуре моркови [41]. Многие авторы выявили, что самый высокий уровень экспрессии ортологов гена *SERK* характерен для клеток поверхностной меристематической зоны каллюсов и для формирующихся из этих клеток проэмбриоидов [31, 39]. Кроме того, показано, что ортологи гена *SERK* экспрессируются в клетках поверхностной меристематической зоны каллюсов независимо от индуцированного пути морфогенеза *in vitro* (эмбриоидогенеза или органогенеза) [37, 45]. Самый высокий уровень экспрессии *SnCDKA* — другого маркерного гена соматического эмбриогенеза — также наблюдался в эмбрионных каллюсах со сформированной поверхностной меристематической зоной, причем по данным локализации *in situ* активность гена выявляется только в нескольких слоях клеток поверхностной меристематической зоны [34].

Евсеева и др. [9] показали, что в качестве молекулярного маркера морфогенеза в каллюсах пшеницы, полученных в культуре *in vitro* незрелых зародышей, можно использовать так называемый пролиферативный антиген инициалей, обнаруженный только в морфогенных каллюсах и характеризующий процесс перехода клеток морфогенетического очага к морфогенезу. Авторы пришли к выводу, что клетки морфогенетического очага выполняют функцию, аналогичную инициальным клеткам в апикальных меристемах стебля и корня пшеницы.

Таким образом, сопоставление полученных нами и литературных данных дает основание сделать вывод, что формирование морфогенетического очага и его дальнейшее преобразование в поверхностную меристематическую зону — универсальный начальный этап различных путей морфогенеза *in vitro* в морфогенных каллюсах. Эти данные подтверждают концепцию Батыгиной [23] об универсальности путей морфогенеза *in situ*, *in vivo* и *in vitro* в различных системах размножения растений.

Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (гранты № 08-04-97045, № 09-04-90756) и программой «Ведущие научные школы РФ» (грант № НШ 7637.2010.4).

1. *Амирова А.К.* Соматический эмбриогенез и регенерация растений в длительно культивируемых каллюсных тканях пшеницы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Алматы, 2004. — 30 с.
2. *Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г. и др.* Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 2004. — 312 с.
3. *Батыгина Т.Б., Васильева В.Е., Маметьева Т.Б.* Проблемы морфогенеза *in vivo* и *in vitro* (эмбриоидогенез у покрытосеменных) // Ботан. журн. — 1978. — **63**, № 1. — С. 87—111.
4. *Батыгина Т.Б., Васильева В.Е.* Размножение растений. — СПб.: Изд-во Санкт-Петерб. ун-та, 2002. — 232 с.
5. *Батыгина Т.Б.* Хлебное зерно: атлас. — Л.: Наука, 1987. — 103 с.
6. *Гайер Г.* Электронная гистохимия. — М., 1974. — 341 с.
7. *Денебаева М.Г.* Цитофизиологические особенности длительно культивируемых эмбрионных каллюсных тканей ячменя: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Алматы, 2003. — 24 с.
8. *Дженсен У.* Ботаническая гистохимия. — М.: Мир, 1965. — 378 с.
9. *Евсеева Н.В., Ткаченко О.В., Лобачев Ю.В. и др.* Биохимическая оценка морфогенетического потенциала каллюсных клеток пшеницы *in vitro* // Физиология растений. — 2007. — **54**, № 2. — С. 306—311.
10. *Игнатова С.А.* Биотехнологические основы получения гаплоидов, отдаленных гибридов и соматических регенерантов зерновых и бобовых культур в различных системах *in vitro*: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Одесса, 2004. — 48 с.



11. Ковалева О.Н. Цитологический анализ клонов, полученных от незрелых зародышей ячменя сорта Вгусе // Науч.-техн. бюл. ВНИИ растениеводства. — 1992. — Вып. 218. — С. 66—71.
12. Косулина Л.Г. Особенности процесса регенерации в каллюсной культуре зрелых зародышей пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // С.-х. биология. Сер. Биология растений. — 1995. — № 1. — С. 78—84.
13. Круглова Н.Н., Батыгина Т.Б. Методические рекомендации по использованию морфогенетического потенциала пыльника в биотехнологических исследованиях яровой мягкой пшеницы. — Уфа: ИБ УНЦ РАН, 2002. — 39 с.
14. Круглова Н.Н., Катасонова А.А. Незрелый зародыш пшеницы как морфогенетически компетентный эксплантат // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — **41**, № 2. — С. 124—131.
15. Круглова Н.Н. Периодизация развития зародыша пшеницы для биотехнологических исследований // Аграрная Россия. — 2008. — № 3. — С. 20—22.
16. Круглова Н.Н., Сельдмирова О.А., Зайцев Д.Ю. Цитофизиологические особенности различных типов андроклинных каллюсов пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — **39**, № 1. — С. 42—50.
17. Наумова Т.Н. Ультраструктурные аспекты эмбриогенеза // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т. 2. Семья / Ред. Т.Б. Батыгина. — СПб.: Мир и семья, 1997. — С. 557—567.
18. Орлов П.А. Клеточные и генно-инженерные технологии модификации растений. — Минск: Тонпик, 2006. — 248 с.
19. Суханов В.М., Папазян Н.Д. Условия получения каллюса и регенерантов в культуре незрелых зародышей пшеницы // Апомиксис и цитоэмбриология растений. — 1983. — № 5. — С. 124—128.
20. Турашева С.К. Совершенствование биотехнологических методов создания андрогенных дигаплоидов мягкой пшеницы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Астана, 2003. — 28 с.
21. Шахметов И.Ф. Соматический эмбриогенез и селекция злаковых культур. — Уфа: Изд-во Башк. ун-та, 1999. — 165 с.
22. Эмбриологические основы андроклинии пшеницы: атлас / Н.Н. Круглова, Т.Б. Батыгина, В.Ю. Горбунова и др. — М.: Наука, 2005. — 99 с.
23. Battygina T.B. Problems of morphogenesis in situ, in vivo and in vitro // Int. Symp. «Plant tissue cell culture: application to crop improvement»: Proceed. — Prague: Acad. Sci. press, 1984. — P. 43—55.
24. Berlin G.P., Miksche G.P. Botanical microtechnique and cytochemistry. — Yowa: State Univ. press, 1976. — 326 с.
25. Besspalhok J.C., Hattori F.K. Friable embryogenic callus and somatic embryo formation from cotyledon explants of african marigold (*Tagetes erecta* L.) // Plant Cell Rep. — 1998. — **17**, N 11. — P. 870—875.
26. Caliskan M., Turet M., Cuming A.C. Formation of wheat (*Triticum aestivum* L.) embryogenic callus involves peroxide-generating germin-like oxalate oxidase // Planta. — 2004. — **219**, N 1. — P. 132—140.
27. Chaturvedi R., Razdan M.K., Bhojwani S.S. Production of haploids of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) by anther culture // Plant Cell Rep. — 2003. — **21**, N 6. — P. 531—537.
28. Fakhrai H., Fakhrai F., Evans P.K. In vitro culture and plant regeneration in *Vicia faba* subsp. Equina (var. Spring Blaze) // J. Exp. Bot. — 1989. — **40**, N 7. — P. 813—817.
29. Fernandez S., Michaux-Ferriere N., Coumans M. The embryogenic response of immature embryo cultures of durum wheat (*Triticum durum* Desf.): histology and improvement by AgNO<sub>3</sub> // Plant Grow. Regul. — 1999. — **28**, N 3. — P. 147—155.
30. Fernando S.C., Verdeil J.-L., Hoher V. et al. Histological analysis of plant regeneration from plumule explants of *Cocos nucifera* // Plant Cell, Tissue, Organ Cult. — 2003. — **72**, N 3. — P. 281—284.
31. Hu H., Xiong L., Yang Y. Rice SERK1 gene positively regulates somatic embryogenesis of cultured cell and host defense response against fungal infection // Planta. — 2005. — **222**, N 1. — P. 107—117.
32. Konieczny R., Czaplicki A.Z., Golezyk H., Przywara L. Two pathways of plant regeneration in wheat anther culture // Plant Cell, Tissue, Organ Cult. — 2003. — **73**, N 2. — P. 177—187.
33. Lynn J.A. Rapid toluidine blue staining of Epon-embedded and mounted «adjacent» sections // Amer. J. Clin. Path. — 1965. — **44**, N 1. — P. 57—58.
34. Montero-Cortes M., Rodriguez-Paredes F., Burgeff C. et al. Characterisation of a cyclindependent kinase (CDKA) gene expressed during somatic embryogenesis of coconut palm // Plant Cell, Tissue, Organ Cult. — 2010. — **102**, N 2. — P. 251—258.
35. Motoike S.Y., Saraiva E.S., Ventrella M.C. et al. Somatic embryogenesis of *Myrciaria aureana* (Brazilian grape tree) // Ibid. — 2007. — **89**, N 1. — P. 75—81.

36. *Namasivayam P.* Acquisition of embryogenic competence during somatic embryogenesis // *Ibid.* — **90**, N 1. — P. 1—8.
37. *Nolan K.E., Irwanto R.R., Rose R.J.* Auxin up-regulates MtSERK1 expression in both *Medicago truncatula* root-forming and embryogenic cultures // *Plant Physiol.* — 2003. — **133**, N 1. — P. 218—230.
38. *Peixe A., Barroso J., Potes A., Pais M.S.* Induction of haploid morphogenic calluses from in vitro cultured anthers of *Prunus armeniaca* cv. Harcot // *Plant Cell, Tissue, Organ Cult.* — 2004. — **77**, N 1. — P. 35—41.
39. *Perez-Nunez M.T., Souza R., Saenz L. et al.* Detection of a SERK-like gene in coconut and analysis of its expression during the formation of embryogenic callus and somatic embryos // *Plant Cell Rep.* — 2009. — **28**, N 1. — P. 11—19.
40. *Saenz L., Azpeitia A., Chuc-Armendariz B. et al.* Morphological and histological changes during somatic embryo formation from coconut plumule explants // *In vitro Cell Dev. Biol. Plant.* — 2006. — **42**, N 1. — P. 19—25.
41. *Schmidt E.D.L., Guzzo F., Toonen M.A.J., de Vries S.C.* A leucine rich repeat containing receptor-like kinase marks somatic plant cells competent to form embryos // *Development.* — 1997. — **124**, N 10. — P. 2049—2062.
42. *Seguí-Simarro J.M., Nuez F.* Embryogenesis induction, callogenesis, and plant regeneration by in vitro culture of tomato isolated microspores and whole anthers // *J. Exp. Bot.* — 2007. — **58**, N 5. — P. 1119—1132.
43. *Steinmacher D.A., Cangahuala-Inocente G.C., Clement C.R., Guerra M.P.* Somatic embryogenesis from peach palm zygotic embryos // *In vitro Cell Dev. Biol. Plant.* — 2007. — **43**, N 2. — P. 124—132.
44. *Steinmacher D.A., Krohn N.G., Dantas A.C.M. et al.* Somatic embryogenesis in peach palm using the thin cell layer technique: induction, morpho-histological aspects and AFLP analysis of somaclonal variation // *Ann. Bot.* — 2007. — **100**, N 4. — P. 699—709.
45. *Thomas C., Meyer D., Himber C., Steinmetz A.* Spatial expression of a sunflower SERK gene during induction of somatic embryogenesis and shoot organogenesis // *Plant Physiol. Biochem.* — 2004. — **42**, N 1. — P. 35—42.
46. *Verdeil J.L., Hocher V., Huet C. et al.* Ultrastructural changes in coconut calli associated with the acquisition of embryogenic competence // *Ann. Bot.* — 2001. — **88**, N 1. — P. 9—18.

Получено 25.04.2010

#### ФОРМУВАННЯ МОРФОГЕНЕТИЧНОГО ОСЕРЕДКА ЯК ПОЧАТКОВИЙ ЕТАП МОРФОГЕНЕЗУ IN VITRO В КАЛЮСАХ РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ В ПШЕНИЦІ

*О.О. Сельдімірова, А.О. Катасонова, Н.М. Круглова*

Інститут біології Уфимського наукового центру Російської академії наук, Уфа

Проведено цитогістологічний та ультраструктурний аналізи формування морфогенетичних осередків, їх перетворення на поверхневу меристематичну зону в калюсах, отриманих у культурі in vitro незрілих зародків і в культурі in vitro пиляків ярої м'якої пшениці. Оцінено морфогенетичний осередок як початковий етап морфогенезу in vitro.

#### FORMATION OF MORPHOGENETIC CENTRE AS AN INITIAL STAGE OF MORPHOGENESIS IN VITRO OF WHEAT CALLI OF DIFFERENT ORIGIN

*O.A. Seldimirova, A.A. Katasonova, N.N. Kruglova*

Institute of Biology of Ufa Scientific Centre, Russian Academy of Sciences  
69 pr. Oktyabrya, Ufa, 450054, Russia

The cyto-histological and ultrastructural analysis of morphogenetic centres formation and their transformation to the superficial meristematic zones in calli, obtained in culture in vitro of anthers and immature embryos of spring wheat, was conducted. The estimation of morphogenetic centre as an initial stage of morphogenesis in vitro is given.

*Key words:* *Triticum aestivum* L., embryo culture in vitro, anther culture in vitro, morphogenesis, callus.

