

**ФОРМИРОВАНИЕ ТЕТРАПЛОИДОВ РИСА В АНДРОГЕНЕЗЕ *in vitro***

**М.В. Илюшко**, кандидат биологических наук,  
**М.В. Ромашова**, кандидат сельскохозяйственных наук

Федеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока имени А.К. Чайки,  
 692539, Приморский край, п. Тимирязевский, ул. Воложенина, 30  
 E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

*Получение тетраплоидного риса – перспективное направление в повышении урожайности культуры. В настоящее время отсутствуют коммерческие сорта риса из-за слабой озерненности метелки, которая обусловлена низкой фертильностью пыльцы. В научной литературе отмечено, что в андрогенезе *in vitro* в качестве дополнительного исходного материала получают тетраплоидные растения. Целью исследования было изучение особенностей каллусов в культуре пыльников *in vitro* риса, на которых формируются тетраплоидные растения, и характеристика тетраплоидных регенерантов этой культуры. Исследования проведены на 15 гибридах  $F_2$  риса *Oryza sativa* L. подвида *japonica* Kato трех гибридных комбинаций. Показано, что андрогенез *in vitro* – надежный способ получения полиплоидных регенерантов у большинства генотипов: 59 растений (1,9% от всех зеленых регенерантов) являются тетраплоидными. Доля каллусов с тетраплоидами составляет 17,6%. Каллусы, на которых формировались тетраплоидные растения, характеризуются снижением числа гаплоидов и увеличением бессемянных растений негаплоидного происхождения. Максимальное число тетраплоидов на каллусный агрегат составляет 12 шт. Тетраплоиды, полученные в андрогенезе *in vitro*, имеют небольшую озерненность метелки (в среднем 1,0-6,0 шт. на главной метелке), что типично для полиплоидного риса.*

**RICE TETRAPLOID FORMATION IN ANDROGENESIS *in vitro***

**Ilyushko M.V., Romashova M.V.**

Federal Scientific Centre of Agrobiotechnology of the Far East named A.K. Chaika,  
 692539, Primorskiy kray, p. Timiryazevskiy, ul. Volozhenina, 30  
 E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

*Obtaining tetraploid rice is considered as a promising direction in increasing crop yields. There are currently no commercial rice varieties due to poor panicle grazing due to low pollen fertility. In the scientific literature it is stated that in androgenesis *in vitro* tetraploid plants are obtained as an additional starting material. The aim of the study was to study the characteristics of callus in anther culture of rice *in vitro*, on which tetraploid plants are formed, and the characteristics of rice tetraploid regenerants. Studies were performed on 15 rice hybrids  $F_2$ , *Oryza sativa* L. subspecies *japonica* Kato of three hybrid combinations. *In vitro* androgenesis is a reliable way to obtain polyploid regenerants in most genotypes: 59 plants (1.9% of all green regenerants) are tetraploid. The proportion of calli with tetraploids is 17.6%. Calli, on which tetraploid plants were formed, are characterized by a decrease in the number of haploids and an increase in seedless plants of non-haploid origin. The maximum number of tetraploids per callus aggregate is 12 pcs. Tetraploids obtained in androgenesis *in vitro* have a slight grazing of the panicle (on average 1.0-6.0 pcs. on the main panicle), which is typical for polyploid rice.*

**Ключевые слова:** *Oryza sativa*, андрогенез *in vitro*, каллус, тетраплоид

**Key words:** *Oryza sativa*, androgenesis *in vitro*, callus, tetraploid

Полиплоидия сыграла важнейшую роль в эволюции растений и селекции культурных видов [1, 2]. Множество полиплоидов успешно используют в сельскохозяйственном производстве и цветоводстве, так как они обеспечивают более высокий урожай и декоративные качества в сравнении с диплоидными видами [2, 3]. Рис *Oryza sativa* L. – широко распространенная диплоидная культура (основное число хромосом  $2n=24$ ), которую выращивают на пяти континентах, крупный риса питается половина человечества [4]. Полиплоидный, в частности тетраплоидный рис, рассматривают как один из источников увеличения урожайности данного вида [5-7]. Тетраплоидный рис впервые был получен в 1933 г. и с 1953 г. в Китае включен в селекционный процесс [8]. Однако из-за низкой фертильности пыльцы, обусловленной отклонениями от нормального мейотического деления клеток [9], на метелках формируется небольшое число семян [8, 10]. Поэтому коммерческого применения тетраплоидный рис пока не нашел [7].

Современные исследования тетраплоидного риса немногочисленны. Изучена генетическая и морфологическая изменчивость *O. sativa* с использованием 99 SSR маркеров и агрономических признаков. Оказалось, что изменчивость тетраплоидного риса выше, чем диплоидного, и получен гетерозисный эффект от межподвидовой гибридизации полиплоидного риса

[11]. Перевод гибридов риса *O. sativa* с диплоидного уровня на тетраплоидный путем обработки колхицином способствует формированию остистых форм растений, даже если исходная форма была безостой. Длина остей зависит от наличия их у исходного гибрида [6]. Культура пыльников *in vitro* также обеспечивала получение остистых тетраплоидных регенерантов риса из безостых растений сорта Каскад [10]. Открыта полиплоидная мейотическая стабильность (*Polyploidy meiosis stability – PmeS*), различающаяся у тетраплоидных линий, что ведет к дифференциации показателей фертильности пыльцы и завязываемости семян от 37 до 80% [8]. Получен нео-тетраплоидный рис, который при скрещивании с тетраплоидным дает высокую фертильность. Методом секвенирования выявили большую изменчивость ДНК и дифференциально экспрессирующиеся гены в стадии мейоза у трех нео-тетраплоидных линий по сравнению с родителями [12]. Увеличение числа бивалентов приводит к повышению семенной продуктивности, а фертильность  $2n$ -пыльцы маскируется нейтральными генами. Определено, что мейоз-связанные гены и мейоз-специфические гены также отвечают за метаболизм сахаров и синтез крахмала и экспрессируются у гибридов полиплоидного и нео-тетраплоидного риса в течение различных стадий развития [7].

Андрогенез *in vitro* успешно применяют в селекции риса для получения гомозиготных линий удвоенных гаплоидов [13]. В качестве побочного материала образуются также гаплоиды, триплоиды, тетраплоиды, пентаплоиды, анеуплоиды [14, 15]. Доля тетраплоидных регенерантов в культуре пыльников составляет 0,9-16,0% в зависимости от протокола исследования [14, 16]. Известно, что 17,4% каллусов, полученных в культуре пыльников риса, в конце первого пассажа имеют тетраплоидные клетки, доля которых может увеличиваться при более длительном пассировании [17]. Однако, не все генетические и геномные нарушения, которые накапливаются в культуре *in vitro* на клеточном уровне, могут пройти через этап морфогенеза и не всегда можно получить регенеранты и их потомство [18]. Упоминаний об особенностях формирования полиплоидных растений или о дальнейшем селекционном применении тетраплоидов, полученных в андрогенезе *in vitro* риса, в литературе не обнаружено. Целью исследования было изучение особенностей каллусных линий в культуре пыльников *in vitro* риса, на которых формируются тетраплоидные растения, и характеристика тетраплоидных регенерантов риса.

**Методика.** Исследования проведены на гибридах  $F_2$  риса *Oryza sativa* L. подвида *japonica* Kato следующих гибридных комбинаций: Романика×(Дарий 122×Краснодар 9167) – Р×Д×67; Дон 4237×(Зарваси 70×Хейлудзян) – Д×З×Х; Китаец×(ВНИИР 3223×Кензо) – К×23×К. Использовано по пять растений каждой гибридной комбинации. Исходные растения выращивали на вегетационной площадке в сосудах до периода сбора метелок. Методики холодной обработки пыльников, культивирования пыльников, каллусов и регенерантов в условиях *in vitro* приведены ранее [19].

Под термином «каллусная линия» понимали все каллусные агрегаты, сформированные на одном пыльнике. Каллусные агрегаты (каллусы) размером 2-5 мм пересаживали из индукционной питательной среды на регенерационную с интервалом в семь дней с присвоением порядкового номера. Зеленые регенеранты  $R_0$  с развитой корневой системой высаживали в горшечную культуру и продолжали выращивать в условиях культуральной комнаты. Все регенеранты разделяли на пять групп по морфологическим признакам: гаплоиды (стерильные растения с очень мелкими цветками); удвоенные гаплоиды (растения с семенами); тетраплоиды (растения с очень крупными многочисленными семенами, выраженным килем и ребристостью на цветочной чешуе); растения без семян (формировали цветки нормального или большего размера, но не образовывали семена на двух и более метелках); растения, погибшие на ранних этапах роста и развития. При сравнении с данными по содержанию ядерной ДНК в регенерантах риса ошибка отнесения растений к соответствующей группе составляла 4,5% [14].

Статистические расчеты (средние значения признаков, ошибка средней, коэффициент корреляции, t-критерий Сьюдента) проведены с использованием программы Statistica.

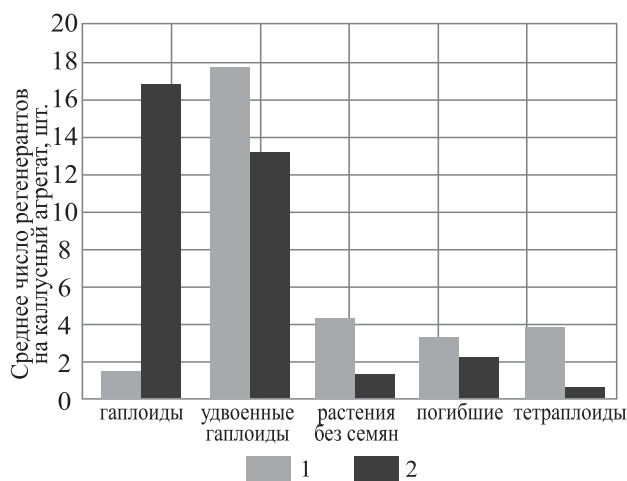
**Результаты и обсуждение.** В культуру *in vitro* было введено 2700 пыльников. Каллусообразование составило 6,04%. Образовалось 65 каллусных линий с зелеными регенерантами 12 гибридных растений; 21 каллусная линия сформировала по несколько каллусных агрегатов: 12 линий по 2 каллуса, 4 линии с тремя и четырьмя каллусными агрегатами и одна линия с пятью каллусными агрегатами. В эксперименте получено 3115 зеленых регенерантов с 91 каллусом, из них 59

шт. (1,9%) были тетраплоидами. Каллусные агрегаты одной каллусной линии имеют разную регенерационную способность: в отдельных случаях регенерация не происходит, на других каллусных агрегатах существует морфогенетический ответ [19]. Различия закономерны, так как каждая незрелая микроспора пыльника может дать начало каллусу [17]. В связи с этим дальнейшие расчеты проводили в среднем на каллусный агрегат.

Тетраплоиды образовались на 16 каллусных агрегатах 9 гибридов (табл.), 5 из них не имели регенерантов без семян. Формирование тетраплоидов шло на каллусных агрегатах 1-го, 2-го и 4-го порядка. Также бессемянные регенеранты встречались на каллусных агрегатах любого порядка. С бессемянными растениями образовалось 25 каллусов, в 44% случаев регенерация заканчивалась тетраплоидией. Корреляции между численностью тетраплоидных и бессемянных растений на каллусе не выявлено. Доля каллусов с тетраплоидами составляла 17,6%, что совпадает с данными С. Chen and С. Chen [17], у которых 17,4% всех каллусов образовали тетраплоидные клетки.

Большинство каллусов с тетраплоидами не имело гаплоидов (9 шт.), 5 каллусных агрегатов образовали один или два гаплоида, и только на двух морфогенетический ответ проявился во множественной гаплоидии – 17 и 121 гаплоид/каллус. Три каллуса с тетраплоидами были без удвоенных гаплоидов, на других каллусных агрегатах сформировались 3-93 удвоенных гаплоидов. Каллусы, где представлены исключительно тетраплоиды, отсутствовали.

Провели сравнительную характеристику всех каллусных агрегатов и каллусов с тетраплоидами (рис.), из анализа исключили каллусный агрегат с 121 гаплоидом как нетипичный. На каллусах с тетраплоидами было на порядок меньше гаплоидов, чем в среднем на всех каллусных агрегатах (при  $p=0,05$ ), а число бессемянных растений – больше в 2 раза (при  $p=0,02$ ). Статистически значимых различий по удвоенным гаплоидам и погибшим растениям не выявлено, по тетраплоидам подтверждены ( $p=0,0001$ ). При использовании в расчетах всех 16 каллусных агрегатов с тетраплоидами сохранялась тенденция уменьшения среднего числа га-



**Сравнительная характеристика регенерационной способности каллусных агрегатов риса, полученных в андрогенезе *in vitro*:**

1 – каллусные агрегаты с тетраплоидами (15 шт.),  
2 – все каллусные агрегаты в эксперименте (91 шт.).

**Характеристика семенной продуктивности тетраплоидных растений, полученных в андрогенезе *in vitro***

Гибрид	Каллусный агрегат	Число тетраплоидных растений, шт.	Максимальное число семян главной метелки, шт.	Среднее число семян главной метелки, шт.	Стандартная ошибка средней
P×D×67 (1)	62.2.1	3	6	4,0	1,0
	62.2.4	2	8	6,0	2,0
P×D×67 (2)	109.2.1	5	4	2,2	0,6
D×3×X (1)	193.2.1	2	1	1,0	0,0
D×3×X (2)	161.2.1	3	5	4,5	0,5
D×3×X (3)	128.2.1	1	5	5	–
D×3×X (4)	117.2.1	12	13	5,8	1,4
	118.2.1	1	1	1	–
D×3×X (5)	59.2.1	4	7	3,0	1,4
	60.2.2	1	4	4	–
	72.1.1	1	10	10	–
	88.2.2	9	11	5,3	1,0
K×23×K (1)	97.1.1	1	3	3	–
	80.2.2	4	8	5,3	1,3
K×23×K (2)	80.2.4	8	9	4,4	0,8
	112.2.2	2	2	1,5	0,5

плоидов/каллус: их было в 2 раза меньше, чем в среднем на всех каллусах, но без достоверных различий.

У бессемянных растений, полученных в андрогенезе *in vitro*, отмечена высокая вариабельность по содержанию ядерной ДНК, выявленной методом проточной цитометрии. У них обнаружено содержание ДНК, характерное для растений с двойным набором хромосом, триплоидов, тетраплоидов и пентаплоидов, вероятно, среди них встречались неуплоиды, что не позволило им дать семенное потомство [14]. Формирование тетраплоидов и бессемянных растений сопровождалось увеличением погибших растений: в среднем на всех каллусах – на 1,32 шт., на каллусах с тетраплоидами и регенерантами без семян (всего 31 каллусный агрегат) – в среднем на 3,87 шт. (различия статистически значимы при  $p=0,008$ ). В андрогенезе *in vitro* растения, в генотипе которых содержится много леталей, полуплеталей и субвлеталей, погибают на ранних стадиях развития. Выживают только те особи, которым в результате мейоза не досталось «вредных» генов или их было очень мало [20]. В нашем случае погибло в среднем 1,32 растений/каллус. Увеличение этого показателя в 3 раза возможно связано не только с комплексом генов погибших растений, но и с хромосомными изменениями, которые при благоприятных перестройках реализовались в тетраплоидных регенерантах.

Причины формирования гаплоидных и дигаплоидных растений в андрогенезе *in vitro* в значительной степени изучены. У риса регенерация идет через каллусогенез, на ранних стадиях деления клеток они спонтанно удваиваются [15], что приводит к формированию до 72-95% дигаплоидов от всех зеленых регенерантов [21,22]. Интенсивность этого процесса зависит от генотипа растения-донора [21,22] и условий культивирования исходных растений, каллусов и регенерантов *in vitro* [23]. Известно, что большая часть андрогенных

каллусов риса *O. sativa* (74%) в конце первого пассажа миксоплоидна: различные сочетания одно-, двух-, четырех- и восьмиядерных клеток [17]. Доказано одноклеточное происхождение гаплоидов в андрогенезе *in vitro* у пшеницы [24]. Каллусы, несущие четырехядерные клетки, могут стать основоположниками тетраплоидов. Но не каждая клетка в условиях *in vitro* даст начало новому растению, только часть генетических изменений реализуется у растений-регенерантов [18]. Вероятно, по этой причине несколько меньшее число каллусных агрегатов в эксперименте (57%) имело сочетание регенерантов различной ploidy (гаплоиды и удвоенные гаплоиды, удвоенные гаплоиды и тетраплоиды, 3 типа регенерантов вместе).

Спонтанное удвоение хромосом клеток в культуре пыльников *in vitro* идет за счет слияния ядер и эндомитозов [15, 17, 23], в том числе и кратное увеличение ploidy более высоких порядков [17]. Формирование триплоидных клеток каллуса возможно за счет слияния низкоploidy клеток или редукции имеющегося хромосом у тетраплоидов [17].

Преобладание каллусных агрегатов с бессемянными растениями и общего их числа над тетраплоидами прежде всего свидетельствует о слиянии гаплоидных и дигаплоидных клеток, что привело к стерильности регенерантов.

У растений 2n гаметы могут образовываться с очень высокой частотой – до 14-36%, что ведет к формированию полиплоидов в естественных условиях [25] и дигаплоидов в андрогенезе *in vitro* [23]. В более редких случаях в результате аномального цитокинеза образуются 3n и 4n пыльцевые материнские клетки [25]. Это также может объяснить происхождение три- и тетраплоидов в культуре пыльников *in vitro* [15]. Тем не менее спонтанное удвоение хромосом считаем лидирующим фактором изменения ploidy клеток в андрогенезе *in vitro*. Выявлена слабая отрицательная корреляция ( $r = -0,3$  при  $p=0,05$ ) между числом преобладающих регенерантов на каллусе и их ploidy. Это означает, что с увеличением числа хромосом в клетках, которые перед этим прошли слияние ядер или эндомитоз, уменьшается число регенерантов соответствующей ploidy. Поэтому тетраплоидов на каллусе формируется относительно немного (до 12 шт.), значительно больше удвоенных гаплоидов – до 125 шт., а максимальное число гаплоидов на каллусе составляет 346 растений [26]. Поддержание и размножение гаплоидных клеток в культуре *in vitro* идет быстрее и легче, чем клеток с иным набором хромосом, поскольку они обладают значительной устойчивостью и конкурентоспособностью к полиплоидным, двуядерным и анеуплоидным клеткам. Это обеспечивается, вероятно, быстрым делением клеток, более коротким митотическим циклом, быстрой элиминацией или дифференциацией поврежденных клеток [27].

На каллусном агрегате может сформироваться до 12 тетраплоидных растений (табл.) и до 26 бессемянных растений. Регенеранты, полученные в андрогенезе *in vitro*,

имеют низкую озерненность метелки: в среднем до 6,0 шт., максимум – 13 семян, что согласуется с литературными данными о низкой озерненности метелок тетраплоидного риса [5] и результатами наших опытов, полученных на других гибридах и сорте Каскад в андрогенезе *in vitro* [10]. Культура тканей *in vitro* в целом ведет к высокой стерильности полученных регенерантов [28]. Снижение семенной продуктивности при повышении уровня плоидности встречается на многих культурах, и опыт показывает, что последующим отбором возможно увеличить фертильность [3], в том числе у риса, на 70% [5, 6]. Выращивание регенерантов, следующих за поколением  $R_0$ , также позволяет значительно снизить стерильность пыльцы [29].

Таким образом, в андрогенезе *in vitro* полиплоиды формируются на регулярной основе. Этот метод можно рассматривать как один из эффективных для получения тетраплоидных растений для селекции риса. Пути формирования тетраплоидов на каллусах требуют дополнительного изучения.

### Литература.

1. Stebbins G.L. Variation and evolution in plants: progress during the past twenty years // *Essays in evolution and genetics in honor of Theodosius Dobzhansky* / М.К. Hecht, C.S. William (ed.). – Springer, US, 1970. – Ch. 6. – P. 173-208.
2. Жученко А.А. Адаптивная селекция растений (эколого-генетические основы): монография в 2-х т. – М.: Изд-во РУДН, 2001. Т. II. – 708 с.
3. Хафетов Э.Б., Щербак В.С. Автополиплоидия – как эффективный механизм в селекции сельскохозяйственных растений // *Международные научные исследования*. – 2016. – Т. 8. – № 3. – С. 281-284.
4. Ляховкин А.Г. Рис. Мировое производство и генофонд. – СПб.: «Профи-информ», 2005. – 288 с.
5. Tu S., Luan L., Liu Y., Long W., Kong F., He T., Xu Q., Yan W., Yu M. Production and heterosis analysis of rice autotetraploid hybrids // *Crop Science*. – 2007. – Vol. 47. – P. 2356-2363.
6. Song Z.-J., Du C.-Q., Zhang X.-H., Chen D.-L., He Y.-C., Cai D.-T. Studies on awns in polyploidy rice (*Oryza sativa* L.) and preliminary cross experiments of a special awnless tetraploid rice // *Genet. Resour. Crop. Evol.* – 2014. – Vol. 61, № 4. – P. 797-807.
7. Chen L., Yuan Y., Wu J., Chen Z., Wang L., Shahid M.Q., Liu X. Carbohydrate metabolism and fertility related genes high expression levels promote heterosis in autotetraploid rice harboring double neutral genes // *Rice*. – 2019. – Vol. 12. – 34 p.
8. He Y., Ge J., Wei Q., A.-M., Gan L., Song Z.-J., Cai D.-T. Jiang. Using a polyploidy meiosis stability (PMeS) line as a parent improves embryo development and the seed set rate of a tetraploid rice hybrid // *Canadian Journal of Plant Sciences*. – 2011. – Vol. 91. – P. 325-335.
9. Luan L., Wang X., Long W.B., Liu Y.H., Tu S.B., Xiao X.Y., Kong F.L. A comparative cytogenetic study of the rice (*Oryza sativa* L.) autotetraploid restorers and hybrids // *Генетика*. – 2009. – Т. 4. – № 9. – С. 1225-1233.
10. Илюшко М.В., Ромашиова М.В., Гученко С.С. Тетраплоидный рис в культуре пыльников *in vitro* // *Дальневосточный аграрный вестник*. – 2018. – №3(47). – С. 18-25.
11. Wu J., Hu C., Shahid M., Guo H.-B., Zeng Y.-X., Liu X.-D. Analysis on genetic diversification and heterosis in autotetraploid rice // *SpringerPlus*. – 2013. – Vol. 2. – 12 p.
12. Bei X., Shahid M.Q., Wu J., Chen Z., Wang L., Liu X. Resequencing and transcriptome analysis reveal rich DNA variations and differential expressions of fertility-related genes in neo-tetraploid rice // *PLoS ONE*. – 2019. – Vol. 14, №4. – 23 p.
13. Mishra R., Rao G.J.N. In-vitro androgenesis in rice: advantages, constraints and future prospects. // *Rice Scienc.* – 2016. – 23(2). – P.57-68.
14. Илюшко М.В., Скапцов М.В., Ромашиова М.В. Содержание ядерной ДНК в регенерантах риса, полученных в культуре пыльников *in vitro* // *Сельскохозяйственная биология*. – 2018. – Т. 53. – №3. – С. 531-538.
15. D'Amato F. Cytogenetics of plant cell and tissue cultures and their regenerates // *Critical Reviews in Plant Sciences*. – 1985. – Vol. 3, № 1. – P. 73-112.
16. Mishra R., Rao G.J.N., Rao R.N., Kaushal P. Development and characterization of elite doubled haploid lines from two Indica rice hybrids // *Rice Science*. – 2015. – 22(6). – P.290-299.
17. Chen C.C., Chen C.-M. Changes in chromosome number in microspore callus of rice during successive subcultures // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1980. – Vol. 22. – P. 607-614.
18. Кузнецова О.И., Аш О.А., Харитонов Г.А., Гостимский С.А. Исследование растений-регенерантов гороха (*Pisum sativum* L.) с помощью молекулярных RAPD- и ISSR-маркеров // *Генетика*. – 2005. – Т. 41. – №1. – С. 71-77.
19. Илюшко М.В., Ромашиова М.В. Регенерационная способность каллусных трансплантантов риса в культуре пыльников *in vitro* // *Аграрный вестник Приморья*. – 2018. – № 1 (9). – С. 5-8.
20. Гончарова Ю.К. Использование метода культуры пыльников в селекции риса. – Краснодар: ВНИИ риса, 2012. – 91 с.
21. Datta S.K. Androgenic haploids: factors controlling development and its application in crop improvement. // *Current Science*. – 2005. – 89(11). – P.1870-1878.
22. Сартбаева И.А., Усенбеков Б.Н., Рысбекова А.Б., Мухина Ж.М., Казкеев Д.Т., Жамбакин К.Ж., Жандырбаев Е.А., Беркымбай Х.А., Ахметова Д.Ш., Мелдебекова А.А. Получение дигаплоидных линий для селекции глютинозного риса // *Биотехнология*. – 2018. – Т. 34. – № 2. – С. 26-36.
23. Segui-Simarro J.M., Nuez F. Pathways to doubled haploidy: chromosome doubling during androgenesis // *Cytogenetics and Plant Breeding*. – 2008. – Vol. 120. – P. 358-369.
24. Сельдимирова О.А., Круглова Н.Н. Андроклиный эмбриогенез *in vitro* злаков // *Успехи современной биологии*. – 2014. – Т. 134. – №5. – С. 476-487.
25. Цаценко Л.В., Мосунов С.А. Гаметы с соматическим числом хромосом: механизмы их формирования и роль в эволюции автополиплоидных растений (обзор иностранной литературы) // *Сельскохозяйственная биология*. – 2008. – № 1. – С. 16-25.
26. Илюшко М.В. Регенерационный максимум в андрогенных каллусных линиях риса *Oryza sativa* L. *in vitro* // *Рисоводство*. – 2019. – №2 (43). – С. 29-32.
27. Тырнов В.С., Давоян Н.И. Цитогенетика соматических тканей гаплоидов / Глава в книге Гаплоидия и селекция – М.: Наука, 1976. – С. 57-65.
28. Давоян Э.И. Мутагенез в культуре ткани риса и получение на его основе нового исходного материала // *Генетика*. – 1983. – Т. XIX. – №10. – С. 1714-1719.
29. Гостимский С.А., Багрова А.М., Ежова Т.А. Обнаружение и цитогенетический анализ изменчивости, возникающей при регенерации растений из культуры тканей посевного гороха // *Доклады академии наук*. – 1985. – Т. 283. – № 4. – С. 1007-1011.

Поступила в редакцию 26.11.19  
После доработки 05.12.19  
Принята к публикации 15.01.20