

## МОРФОГЕНЕЗ *IN VITRO* У ЛІНІЙ КУКУРУДЗИ ГЕТЕРОЗИСНОЇ ГРУПИ ЛАНКАСТЕР

К.В. ДЕРКАЧ, О.Є. АБРАІМОВА, Т.М. САТАРОВА

Інститут зернових культур НААН України, Дніпро  
E-mail: katerina-d-d@yandex.ua

*Вивчено генотипові особливості морфогенезу і регенерації in vitro у п'яти ліній кукурудзи селекційно-перспективної гетерозисної групи Ланкастер порівняно з представниками інших гетерозисних груп – PLS61, A188 та Chi31. Встановлено, що співвідношення таких типів морфогенезу, як органогенез та ембріодогенез, в калусній тканині визначається генотипом експланту та концентрацією сахарози в середовищі для калусогенезу. Частота ембріодогенезу як більш ефективного з точки зору подальшої регенерації типу морфогенезу для ліній гетерозисної групи Ланкастер в середньому склала  $40,0 \pm 12,8$  %, тоді як для інших гетерозисних груп – лише  $14,0 \pm 4,0$  %. У ліній гетерозисної групи Ланкастер сахароза в концентрації 30 г/л у середовищі для калусогенезу забезпечувала у подальшому регенерацію шляхом ембріодогенезу на рівні  $26,5 \pm 15,4$  %, а в концентрації 60 г/л –  $57,7 \pm 19,8$  %. У ліній – представників інших гетерозисних груп вміст сахарози в середовищі для калусогенезу не впливав на подальший регенераційний прояв, рівень ембріодогенезу на фоні 30 та 60 г/л сахарози склав  $11,0 \pm 7,0$  та  $15,0 \pm 4,8$  % відповідно.*

**Ключові слова:** кукурудза, культура *in vitro*, морфогенез, органогенез, ембріодогенез.

**Вступ.** В біотехнологічних дослідженнях з клітинної та генетичної інженерії *in vitro* важливим кінцевим результатом є отримання фертильних рослин-регенерантів, здатних рости і розвиватися *in vivo*. Вживаність рослин-регенерантів після пересаджування з умов *in vitro* у ґрунт залежить від типу морфогенезу, за яким відбувається їх формування в культурі калусної тканини. Морфогенез з подальшою регенерацією рослин *in vitro* за класифікацією Батигіної та ін. [1] може здійснюватися, поперше, шляхом органогенезу, тобто несполученого розвитку стеблової меристеми (гемогенезу) та кореневої системи (ризогенезу). Другий шлях – це соматичний ембріогенез або ембріодогенез, тобто розвиток асексуальної біполярної структури, яка за будовою відпо-

відає зиготичному зародку і має точки росту стебла і кореня, а також сім'ядолі.

При отриманні соматоклональних варіантів та в генетичній трансформації кукурудзи пріоритетним типом морфогенезу та цінним інструментом для ефективного створення нових генотипів є соматичний ембріогенез, оскільки саме він здатен забезпечити розвиток рослин-регенерантів одночасно з пагоном та кореневою системою [2].

Залежність регенераційної здатності від генотипу описана в багатьох роботах [3, 4]. Натомість в роботі Акоуї et al. [5] для тропічних інбредних ліній кукурудзи показана незалежність від генотипу при формуванні соматичних зародків на середовищі МС з дикамбою. Для активізації процесу ембріодогенезу потребують оптимізації умови культивування як при ініціації калусогенезу, так і на етапі регенерації рослин. Одним з компонентів живильного середовища для калусогенезу, який здатен впливати на калусогенну здатність та соматичний ембріогенез *in vitro*, є сахароза. Найбільш часто використовуваними концентраціями сахарози для індукції калусогенезу у кукурудзи є 20 [6, 7], 30 [8, 9] та 60 г/л [10]. Відомо, що сахароза у концентрації 60 г/л у середовищі для калусогенезу забезпечує вищий рівень частоти калусогенезу, ніж 30 г/л [10]. Існують способи культивування калусної тканини, коли індукцію калусогенезу проводять з використанням 30 г/л сахарози у середовищі для калусогенезу, а потім збільшують вміст сахарози до 60 г/л у середовищі для субкультивування калусів з метою провокування соматичного ембріогенезу [2, 5].

Ці відомості свідчать про актуальність встановлення впливу сахарози у певній концентрації як компонента середовища для калусогенезу на отримання певного типу морфогенезу для регенерантів конкретних груп перспективних господарсько цінних генотипів кукурудзи.

В сучасній селекції поширеними і перспективними у практичному відношенні є такі



**Рис. 1.** Отримання калусної тканини кукурудзи із незрілих зародків *in vitro*: *a* – незрілий зародок перед експлантацією; *б* – незрілі зародки, експлантовані на живильне середовище для індукції калусогенезу; *в* – 30-добова морфогенна калусна тканина, трансплантована на середовище для регенерації

гетерозисні групи, як Ланкастер, Айодент, Рейд, BSSS, Міндзенпуста [11], для яких актуальними є спеціальні дослідження їхніх біотехнологічних властивостей. Серед них група Ланкастер через ранньостиглість, посухостійкість та високу продуктивність є однією з найперспективніших для вирощування в Україні [12].

Метою нашої роботи була порівняльна оцінка впливу генотипових особливостей ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер та ліній – представників інших гетерозисних груп на співвідношення типів морфогенезу та регенерацію рослин в культурі калусної тканини.

**Матеріали і методи.** Гетерозисна група Ланкастер кукурудзи (*Zea mays* L.) представлена в нашому дослідженні лініями української селекції ДК267, ДК6080, ДК420-1, ДК298 та ДК3070. Для порівняння досліджували модельні лінії кукурудзи зарубіжної селекції PLS61, A188 та Chi31, які представляють однойменні гетерозисні групи. Для індукції калусогенезу використовували 10–12-добові незрілі зародки довжиною 1–1,5 мм (рис. 1, *a*, *б*), ізольовані з 3–5 польових донорних рослин відповідного генотипу. Для індукції калусогенезу застосовували модифіковане середовище N<sub>6</sub> [13], яке містило 30 або 60 г/л сахарози. Отриману 30-добову калусну тканину висаджували на середовище для регенерації MC [14], яке містило 20 г/л сахарози. Культивування вели при температурі 26 °С, для зародків і калусів в темряві, для рослин-регенерантів – при 16-годинному фотоперіоді.

Частоту органогенезу та частоту ембріоїдогенезу визначали як процентне відношення

кількості рослин-регенерантів, отриманих з калусної тканини за тим чи іншим типом морфогенезу, до загальної кількості одержаних рослин-регенерантів. Частоту регенерації визначали як кількість отриманих рослин-регенерантів на 100 культивованих калусів. Визначення частоти певного типу морфогенезу та частоти регенерації проводили в динаміці кожні 30 діб, від трансплантації калусної тканини на середовище для регенерації до 180-ї доби культивування. Статистичну обробку здійснювали згідно з рекомендаціями Welham et al. [15]. Статистично оброблені дані в таблицях представлено у вигляді  $x \pm \Delta$ , де  $x$  – середнє арифметичне значення показника,  $\Delta$  – довірчий інтервал, який є добутком похибки середнього арифметичного та критерію Ст'юдента за рівня значущості 0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення.** У всіх досліджених ліній з частотою 98–99 % в середовищі для індукції калусогенезу на щитках незрілих зародків була одержана морфогенна калусна тканина типу I (за класифікацією, наведеною в [16]), яка культивувалася 30 діб (рис. 1, *в*). Морфогенез та регенерація рослин в отриманій калусній тканині відбувалися як шляхом органогенезу з утворенням листкоподібних структур або рослинок у вигляді лише пагонів (гемогенез) та несполучених з ними коренів (ризогенез) (рис. 2, *a–в*), так і шляхом розвитку ембріоїдів зі сполученим закладанням пагона та корінця (рис. 3).

В групі Ланкастер морфогенез та регенерація в калусній тканині починалися вже в перші 30 діб культивування на регенераційному се-

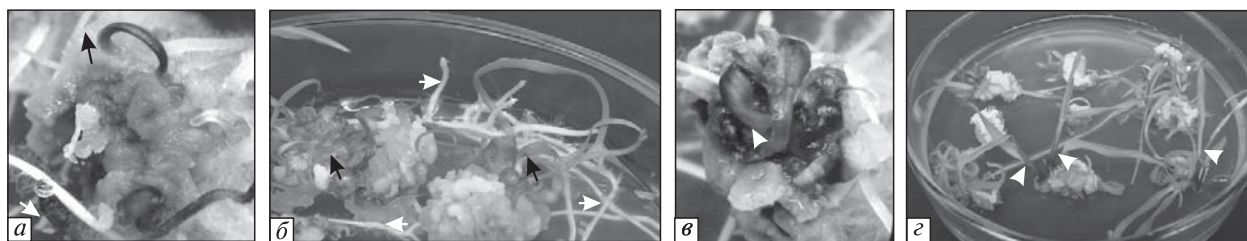


Рис. 2. Регенерація рослин шляхом органогенезу у кукурудзи: *a, б* – утворення на калусній тканині листкоподібних структур (чорні стрілки), корені (білі стрілки) розвиваються несполучено з ними; *в, г* – утворення рослинок у вигляді пагонів (трикутники), корінці відсутні

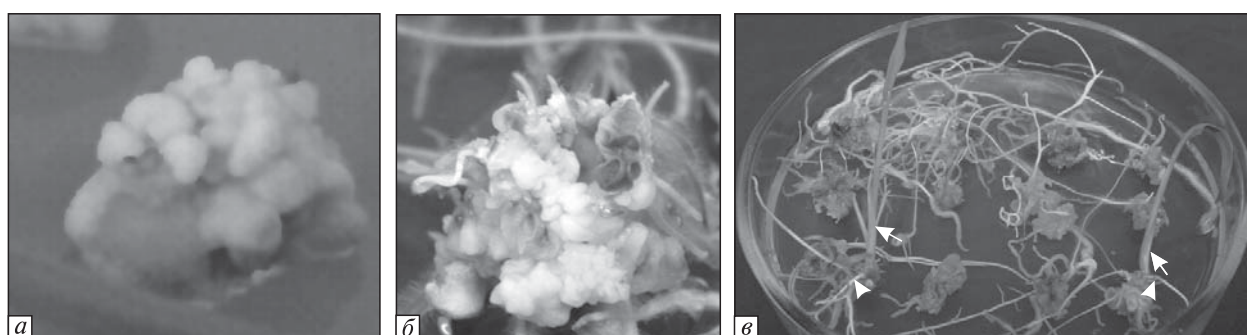


Рис. 3. Регенерація рослин шляхом ембріодогенезу у кукурудзи: *a* – розвиток ембріодів на середовищі для калусогенезу; *б* – подальший розвиток ембріодів на середовищі для регенерації; *в* – регенерація рослин шляхом ембріодогенезу: у проростка пагін (стрілка) і корінець (трикутник) розвиваються сполучено

редовищі, а максимальна кількість регенерантів утворювалася переважно з 31-ї по 60-ту добу (табл. 1).

Лінія ДК6080 виявила здатність до регенерації лише шляхом ембріодогенезу. У інших ліній морфогенез відбувався як шляхом органогенезу, так і ембріодогенезу. У лінії ДК267 та ДК298 переважав органогенез (65,0 та 72,7 % відповідно), а у лінії ДК420-1 – ембріодогенез (66,7 %). У лінії ДК3070 за період культивування на середовищі для регенерації утворилися лише дві рослини, причому одна – через органогенез, а інша – через ембріодогенез. Частоти органогенезу та ембріодогенезу в цілому по групі Ланкастер склали  $60,0 \pm 12,8$  і  $40,0 \pm 12,8$  %, тобто були на 20 % зрушені у бік органогенезу. Але ембріодогенез в 40 % випадків був тим шляхом морфогенезу, який забезпечував розвиток повноцінних рослин. Найбільша частота регенерації за 180 діб культивування серед ліній цієї групи була у лінії ДК267 (51,3 шт./100 калусів), а найменша – у лінії ДК3070 (3,4 шт./100 калусів). Лінії

ДК6080, ДК298 та ДК420-1 мали проміжні значення цього показника (22,2; 15,9 та 20,4 шт./100 калусів відповідно). Середня частота регенерації у ліній групи Ланкастер за 180 діб складала  $24,8 \pm 5,6$  шт./100 калусів.

У ліній – представників інших гетерозисних груп утворення рослин-регенерантів почалося після 30 діб культивування калусної тканини на регенераційному середовищі (табл. 2), тобто пізніше, ніж у ланкастерівських ліній. Масова регенерація рослин проходила довше, з 31-ї по 120-ту добу, а у PLS61 навіть з 31-ї по 180-ту добу.

За типами морфогенезу у представників груп PLS61, A188 та Chi31 спостерігалось значне переважання органогенезу над ембріодогенезом (86,0 та 14,0 % відповідно). Найвищий рівень ембріодогенезу спостерігався у лінії A188 (20,0 %), найнижчий – у PLS61 (12,0 %). Рівень частоти регенерації за весь 180-добовий період дослідження був найвищим у PLS61 (234,1 шт./100 калусів), для ліній A188 та Chi31 цей показник склав 76,9 та 143,6 шт./100

калусів. Середня частота регенерації за 180 діб культивування для представників неланкастерівських гетерозисних груп сягнула рівня  $154,8 \pm 13,1$  шт./100 калусів відповідно.

Порівняння даних табл. 1 та 2 вказує на більшу схильність ліній групи Ланкастер до ембріодогенезу, ніж інших досліджених гетерозисних груп ( $40,0 \pm 12,8$  % проти  $14,0 \pm 4,0$  %). Загальний рівень частоти регенерації за весь період культивування на середовищах для регенерації у ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер склав  $24,8 \pm 5,6$  шт./100 калу-

сів. У ліній проаналізованих неланкастерівських гетерозисних груп, що рекомендовані як модельні в клітинній інженерії кукурудзи через високу здатність до регенерації [16, 17], частота регенерації була майже у шість разів вища –  $154,8 \pm 13,1$  шт./100 калусів. Знижену здатність до утворення рослин-регенерантів калусною тканиною ліній групи Ланкастер можна пояснити тим, що це лінії комерційних гетерозисних груп, які не проходили спеціальний відбір на підвищену регенераційну здатність, як модельні лінії інших гетерозисних

Таблиця 1. Співвідношення типів морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер

Лінія	Кількість калусів, висаджених на середовище для регенерації, шт.	Період культивування калусів, діб	Кількість отриманих рослин-регенерантів, шт.	Тип морфогенезу, %	
				органогенез	ембріодогенез
ДК267	78	1–30	6	50,0	50,0
		31–60	34	67,7	32,4
		61–90	0	0	0
		91–180	0	0	0
		Всього за 180 діб	40	65,0	35,0
ДК6080	18	1–30	1	0	100,0
		31–60	3	0	100,0
		61–90	0	0	0
		91–180	0	0	0
		Всього за 180 діб	4	0	100,0
ДК420-1	33	1–30	0	0	0
		31–60	2	50,0	50,0
		61–90	1	0	100,0
		91–180	0	0	0
		Всього за 180 діб	3	33,3	66,7
ДК298	54	1–30	0	0	0
		31–60	10	8	2
		61–90	1	0	100,0
		91–180	0	0	0
		Всього за 180 діб	11	72,7	27,3
ДК3070	59	1–30	1	0	100,0
		31–60	1	100,0	0
		61–90	0	0	0
		91–180	0	0	0
		Всього за 180 діб	2	50,0	50,0
Всього	242	1–30	8	$37,5 \pm 36,6$	$62,5 \pm 36,6$
		31–60	50	$66,0 \pm 13,5$	$34,0 \pm 13,5$
		61–90	2	0	100,0
		91–180	0	0	0
		Всього за 180 діб	60	$60,0 \pm 12,8$	$40,0 \pm 12,8$

*Морфогенез in vitro у лінії кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер*

груп. Регенерація рослин в культурі калусних тканин у ліній групи Ланкастер починалася раніше і тривала менше, ніж у модельних ліній. Можна припустити, що в культурі *in vitro* має місце прояв схильності генотипів Ланкастер до пришвидшеного проходження процесів росту і розвитку, що в умовах польового вирощування рослин забезпечує їх ранньостиглість. Разом з тим зменшена інтенсивність регенерації у ліній групи Ланкастер забезпечувала більшу частоту повноцінних, отриманих через ембріодогенез рослин (40,0 ± 12,8 %), тоді як високі показники регенерації у неланкастерівських ліній лише на 14,0 ± 4,0 % були пов'язані з ембріодогенезом.

Таким чином, морфогенез ліній кукурудзи групи Ланкастер та інших гетерозисних груп має

певні відмінності. У ліній Ланкастер регенерація рослин шляхом органогенезу та ембріодогенезу відбувається приблизно з однаковою частотою з лише незначною тенденцією до органогенезу, а у модельних ліній інших гетерозисних груп суттєво переважає органогенез. Частота ембріодогенезу як більш ефективного з точки зору подальшої регенерації типу морфогенезу для ліній гетерозисної групи Ланкастер в середньому склала 40,0 ± 12,8 %, тоді як для інших гетерозисних груп – лише 14,0 ± 4,0 %.

Результати вивчення впливу сахарози в середовищі для калусогенезу на морфогенний та регенераційний потенціал калусної тканини різних гетерозисних груп кукурудзи представлені в табл. 3.

**Таблиця 2. Співвідношення типів морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи гетерозисних груп PLS61, A188 та Chi31**

Лінія	Кількість калусів, висаджених на середовище для регенерації, шт.	Період культивування калусів, діб	Кількість отриманих рослин-регенерантів, шт.	Тип морфогенезу, %	
				органогенез	ембріодогенез
PLS61	82	1–30	0	0	0
		31–60	66	80,3	19,7
		61–90	93	94,6	5,4
		91–120	21	100,0	0,0
		121–180	12	58,3	41,7
		Всього за 180 діб	192	88,0	12,0
A188	78	1–30	0	0	0
		31–60	28	71,4	28,6
		61–90	24	87,5	12,5
		91–120	7	100,0	0,0
		121–180	1	0,0	100,0
		Всього за 180 діб	60	80,0	20,0
Chi31	39	1–30	0	0	0
		31–60	37	86,5	13,5
		61–90	0	0	0
		91–120	17	88,2	11,8
		121–180	2	50,0	50,0
		Всього за 180 діб	56	85,7	14,3
Всього	199	1–30	0	0	0
		31–60	131	80,2±7,0	19,8±7,0
		61–90	117	93,2±4,7	6,8±4,7
		91–120	45	95,6±6,2	4,4±6,2
		121–180	15	53,3±26,7	46,7±26,7
		Всього за 180 діб	308	86,0±4,0	14,0±4,0

Таблиця 3. Вплив сахарози у різних концентраціях на морфогенез та регенерацію в культурі калусної тканини кукурудзи *in vitro*

Концентрація сахарози у середовищі для калусогенезу, г/л	Кількість калусів, висаджених на середовище для регенерації, шт.	Тип морфогенезу, %		Частота регенерації, шт. регенерантів на 100 калусів
		органогенез	ембріюдогенез	
<i>Лінії гетерозисної групи Ланкастер (ДК267, ДК6080, ДК420-1, ДК298 та ДК3070)</i>				
30	125	73,5 ± 15,4	26,5 ± 15,4	27,2 ± 8,0
60	117	42,3 ± 19,8	57,7 ± 19,8	22,2 ± 7,7
<i>Лінії гетерозисних груп PLS61, A188 та Chi31 (PLS61, A188 та Chi31)</i>				
30	88	89,0 ± 7,0	11,0 ± 7,0	93,2 ± 5,4
60	111	85,0 ± 4,8	15,0 ± 4,8	203,6 ± 27,7

Частота регенерації зростала при підвищенні концентрації сахарози у середовищі для калусогенезу з 30 до 60 г/л для ліній неланкастерівських груп (203,6 проти 93,2 шт./100 калусів). Для ліній групи Ланкастер при підвищенні концентрації сахарози у середовищі для калусогенезу з 30 до 60 г/л частота регенерації суттєво не змінювалася (27,2 ± 8,0 проти 22,2 ± 7,7 шт./100 калусів).

Як видно з табл. 3, у ліній групи Ланкастер сахароза в концентрації 30 г/л у середовищі для калусогенезу сприяла проходженню процесів органогенезу (73,5 ± 15,4 %), а за дії сахарози в концентрації 60 г/л відбувалася інтенсифікація процесу соматичного ембріогенезу, в результаті чого частоти органогенезу та ембріюдогенезу ставали близькими (42,3 ± 19,8 % та 57,7 ± 19,8 % відповідно). У ліній кукурудзи інших гетерозисних груп достовірних відмінностей між співвідношенням частот органогенезу та ембріюдогенезу при використанні в середовищі для калусогенезу різної концентрації сахарози не виявлено: як на фоні концентрації 30 г/л, так і 60 г/л переважна кількість регенерантів, відповідно 89,0 ± 7,0 та 85,0 ± 4,8 %, утворювалася шляхом органогенезу. Таким чином частота ембріюдогенезу при використанні сахарози у концентрації 60 г/л порівняно з 30 г/л у середовищі для калусогенезу зростала на 31,2 % у ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер і лише на 4,0 % у ліній інших гетерозисних груп.

Таким чином, лінії кукурудзи групи Ланкастер більш чутливі до дії компонентів середовища культивування, ніж лінії – представники інших гетерозисних груп. Так, у ліній групи Ланкастер при використанні 60 г/л сахарози у середовищі для калусогенезу рівень ембріюдогенезу зростав до 57,7 % і фактично досягав рівня органогенезу. У досліджених ліній – представників неланкастерівських гетерозисних груп (PLS61, A188, Chi31) рівень сахарози у середовищі для калусогенезу суттєво не впливав на співвідношення типів морфогенезу в калусній тканині.

**Висновки.** В калусній тканині ліній кукурудзи регенерація рослин відбувається як шляхом органогенезу, так і ембріюдогенезу, при цьому переважний тип морфогенезу визначається генотипом експланту. У ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер завдяки модифікації складу живильного середовища для калусогенезу вдалося досягти зростання частоти ембріюдогенезу у 2,1 рази, з 26,5 до 57,7 %. Лінії досліджених неланкастерівських гетерозисних груп, не чутливі до дії різних концентрацій сахарози, характеризуються низькою частотою ембріюдогенезу (15,0 %) і переважним утворенням рослин-регенерантів через органогенез. Для поліпшення процесу регенерації рослин в культурі калусної тканини у ліній кукурудзи селекційно перспективної гетерозисної групи Ланкастер рекомендовано використовувати сахарозу в концентрації 60 г/л у середовищі для калусогенезу.

MORPHOGENESIS *IN VITRO* IN INBREDS OF MAIZE LANCASTER HETEROTIC GROUP

K.V. Derkach, O.E. Abraimova, T.M. Satarova

Institute of Cereals NAAS Ukraine, Dnipro  
E-mail: katerina-d-d@yandex.ua

The genotypic features of morphogenesis and regeneration *in vitro* for five maize inbreds of perspective breeding Lancaster heterotic group compared to representatives of others heterotic groups – PLS61, A188 and Chi31 were studied. It was identified that the ratio of such types of morphogenesis as organogenesis and embryoidogenesis in callus culture was determined by the explant genotype and the concentration of sucrose in the medium for callusogenesis. The frequency of embryoidogenesis as the most effective type of morphogenesis for further regeneration in Lancaster inbreds averaged about  $40.0 \pm 12.8$  %, while for other heterotic groups it was only  $14.0 \pm 4.0$  %. For Lancaster heterotic group sucrose at the concentration of 30 g/l in the medium for callusogenesis provided further regeneration through embryoidogenesis at the level of  $26.5 \pm 15.4$  %, but sucrose at the concentration of 60 g/l provided it at  $57.7 \pm 19.8$  %. For inbreds which represent other heterotic groups sucrose content in the medium for callusogenesis did not affect further regeneration, the level of embryoidogenesis at 30 and 60 g/l sucrose amounted  $11.0 \pm 7.0$  and  $15.0 \pm 4.8$  % correspondingly.

МОРФОГЕНЕЗ *IN VITRO* У ЛІНІЙ КУКУРУЗЫ ГЕТЕРОЗИСНОЇ ГРУППИ ЛАНКАСТЕР

Е.В. Деркач, О.Е. Абраимова, Т.Н. Сатарова

Изучены генотипические особенности морфогенеза и регенерации *in vitro* у пяти линий кукурузы селекционно перспективной гетерозисной группы Ланкастер по сравнению с представителями других гетерозисных групп – PLS61, A188 и Chi31. Выявлено, что соотношение таких типов морфогенеза, как органогенез и эмбриоидогенез, в каллусной ткани определяется генотипом экспланта и концентрацией сахарозы в среде для каллусогенеза. Частота эмбриоидогенеза как более эффективного с точки зрения дальнейшей регенерации типа морфогенеза для линий гетерозисной группы Ланкастер в среднем составила  $40,0 \pm 12,8$  %, тогда как для других гетерозисных групп – лишь  $14,0 \pm 4,0$  %. У линий гетерозисной группы Ланкастер сахароза в концентрации 30 г/л в среде для каллусогенеза обеспечивала в дальнейшем регенерацию путем эмбриоидогенеза на уровне  $26,5 \pm 15,4$  %, а в концентрации 60 г/л –  $57,7 \pm 19,8$  %. У линий – представителей других гетерозисных групп содер-

жание сахарозы в среде для каллусогенеза не влияло на дальнейшую регенерацию. Уровень эмбриоидогенеза на фоне 30 и 60 г/л сахарозы составил  $11,0 \pm 7,0$  и  $15,0 \pm 4,8$  % соответственно.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Batygina, T.B., Kruglova, N.N., Gorbunova, V.Yu., Titova, G.Ye., and Seldimirova, O.A., *From microspore to variety*, Moscow, Nauka, 2010, 174 p.
2. González, G.A., Pacheco, M.G., Oneta, C.D., Ethchart, V.J., Kandus, M.V., Salerno, J.C., Eyherabide, G., Presello, D., and Lewi, D.M., Somatic embryogenesis and plant regeneration capacity in Argentinean maize (*Zea mays* L.) inbred lines, *Electron. J. Biotechnol.*, 2012, vol. 15, no. 1, pp. 1–7.
3. Bedada, L.T., Seth, M., Runo, S.M., Tefera, W., and Jesse, M., Regenerability of elite tropical maize (*Zea mays* L.) inbred lines using immature zygotic embryo explants, *Afr. J. Biotechnol.*, 2012, vol. 11, no. 3, pp. 598–605.
4. Ali, F., Ahsan, M., Saeed N.A., Ahmed, M., Ali, Q., Kanwal, N., Tehseen, M.M., Ijaz, U., Bibi, I., and Niazi, N.K., Establishment and optimization of callus-to-plant regeneration system using mature and immature embryos of maize (*Zea mays*), *Int. J. Agric. Biol.*, 2014, vol. 16, pp. 111–117.
5. Akoyi, J., Mgtutu, J., Machuka, J., Lijsebettens, M.V., Taracha, C., and Anami, S.E., Dicamba growth regulator promotes genotype independent somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of tropical maize inbred lines, *J. Life Sci.*, 2013, vol. 7, no 7, pp. 677–689.
6. Morshed, S., Siddique, A.B., and Shahinul Islam, M.S., Efficient plant regeneration using mature and immature embryos of maize (*Zea mays* L.), *Int. J. Agric. Innovat. Res.*, 2014, vol. 3, no. 3, pp. 895–904.
7. Geetha, S., Suganthan, R.N., Prasanthi, P., Kumar, K.K., Kokiladeli, E., Arul, L., Balasubramanian, P., and Sudhakar, D., *In vitro* regeneration of Indian maize (*Zea mays* L.) inbred lines through immature embryo derived somatic embryogenesis, *J. Appl. Nat. Sci.*, 2015, vol. 4, no 1, pp. 1–12.
8. Muoma, J., Muluvi, G., and Machuka, J., *In vitro* regeneration by indirect organogenesis of selected Kenyan maize genotypes using shoot apices, *Biotechnology*, 2008, vol. 7, no. 4, pp. 732–738.
9. Azad, M.A.K., Rahman, Md. W., Arifuzzaman, Md., Hasanuzzaman, M. D., Talukder, A.I., and Saha, R.K., Callus induction and plant regeneration from immature kernel of maize inbred line, *J. Chem. Biol. Physic. Sci.*, 2015, vol. 5, no. 4, pp. 4149–4161.
10. Thobunluepop, P., The somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryo of sweet

- corn inbred line, *J. Plant Breed. Crop Sci.*, 2009, vol. 1, no. 10, pp. 330–335.
11. Troyer, A.F., *Temperate corn: background, behavior and breeding*, Washington, CBS Press, 2000, 468 p.
12. Satarova, T.M., Derkach, K.V., and Abraimova, O.E., Ocinka reciproknogo efektu v kul'turi in vitro u genotipiv kukurudzi zarodkovoї plazmi Lancaster [The estimation of reciprocal effect in in vitro culture for maize genotypes of Lancaster germplasm], *Bull. Inst. Grain Farming*, 2011, vol. 40, pp. 20–24.
13. Derkach, K.V., Abraimova, O.E., and Satarova, T.M., Callusogenic potential of maize lines of Lancaster group *in vitro*, *Visnyk Dnipropetrovsk Univ. Biol. Ecol.*, 2011, vol. 19, no. 1, pp. 16–21.
14. Murashige, T., and Skoog, F., A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture, *Physiol. Plant.*, 1962, vol. 15, pp. 473–497.
15. Welham, S.J., Gezan, S.A., Clark, S.J., Mead, A., *Statistical methods in biology: design and analysis of experiments and regression*, Boca Raton: CRC Press, 2014, 608 p.
16. Green, C.E., and Phillips, H.L., Plant regeneration from tissues cultures of maize, *Crop Sci.*, 1975, vol. 15, no. 5, pp. 417–421.
17. Satarova, T.M., Piralov, G.L., Bodencko, N.A., and Abraimova, O.E., Callusogenesis of corn lines under auxin influence, *Bull. Institute of Grain Farming*, 2010, vol. 38, pp. 55–60.

Надійшла 25.03.15