

27. Шмальгаузен I. Ріст організмів.— К. : Медвидав, 1932.— 81 с.
28. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant*.— 1962.— 15, N 2.— P. 473.
29. Medgyesy P., Menczel L., Maliga P. The use of cytoplasmic streptomycin resistance for chloroplast transfer for *Nicotiana sylvestris* and isolation of their somatic hybrids // *Mol. and Gen. Genet.*— 1980.— 179, N 3.— P. 693—698.
30. Kuchuk N. V. Isolation and cultivation of protoplasts from five legume species // *Sov. Plant Physiol.*— 1989.— 36, N 4.— P. 675—677.
31. Індивідуальне культивування растительных протопластов и клеток / И. В. Кириченко, Н. В. Кучук, Л. А. Сахио, Ю. Ю. Глеба // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1990.— № 3.— С. 63—65.
32. Eibs H.-G., Spielmann H. Preimplantation embryos. II. Culture and transplantation // *Meth. in prenatal toxicology* / Eds. D. Neubert et al.— Stuttgart: Thieme publ., 1977.— P. 221—227.
33. Brinster R. L. *In vitro* cultivation of mammalian ova // *Adv. Biosci.*— 1969.— N 4.— P. 200—233.
34. Скаржинська М. В. Одержання гібридних клітинних клонів шляхом індивідуального культивування одиничних продуктів злиття ізольованих протопластів // Укр. бот. журн.— 1980.— 36, № 6.— С. 58—73.
35. Somatic hybridization by microfusion of defined protoplasts in *Nicotiana*: morphological, genetic, and molecular characterization / G. Spangenberg, M. Osusky, M. M. Oliveira et al. // *Theor. and Appl. Gen.*— 1990.— 80, N 5.— P. 577—587.
36. Integration of foreign DNA following microinjection of tobacco mesophyll protoplasts / A. Grossway, J. V. Oakes, J. M. Irvine et al. // *Mol. and Gen. Genet.*— 1986.— 202, N 2.— P. 179—185.
37. Кириченко И. В. Слияние индивидуальных пар преселектированных протопластов табака при помощи электрического поля // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1990.— № 6.— С. 71—74.
38. Cellular and vacuolar fusion of protoplasts electrofused using platinum microelectrodes / H. Morikawa, Y. Hayashi, Y. Hirabayashi et al. // *Plant Cell Physiol.*— 1988.— 29, N 1.— P. 189—193.
39. Sowers A. E. The mechanism of electroporation and electrofusion in erythrocyte membranes // *Electroporation and electrofusion in cell biol.* / Eds E. Neumann et al.— New York; London: Plenum press, 1989.— P. 229—256.
40. Vollet J. J., Roth L. E. Cell fusion by nascent-membrane induction and divalent-cation treatment // *Cytobiologie.*— 1974.— 9, N 3.— P. 249—262.
41. Microculture of single protoplasts of *Brassica napus* / G. Spangenberg, H.-U. Koop, R. Lichter, H. G. Schweiger // *Physiol. Plant.*— 1986.— 66, N 1.— P. 1—8.

Ин-т клеточ. биологии и генет. инженерии АН УССР,  
Киев

Получено 14.01.91

УДК 575.1

Т. П. Пастернак

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ЗЛАКОВ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*Рассмотрены современное состояние и перспективы в генетической трансформации злаков. Показана ограниченная возможность применения для злаков традиционных методов трансформации (прямая трансформация протопластов и др.) и перспективность нетрадиционных методов, исключающих этапы культивирования ткани *in vitro* (использование прорастающих пыльцевых трубок, инъекция в незрелые соцветия или в свежесплодотворенную завязь).*

В последние годы в практической селекции растений начинают все более широко использоваться растения, полученные методами генетической инженерии — соматические гибриды, трансформанты. Однако в подавляющем большинстве это — двудольные растения, в первую очередь растения семейства *Solanaceae*, что обусловлено прежде всего тем, что основная масса новых технологий разрабатывается сначала для представителей семейства *Solanaceae* и лишь затем модифицируется для плохо поддающихся культивированию *in vitro* растений семейства *Gramineae*. Между тем именно растения семейства *Gramineae* играют важ-

© Т. П. Пастернак, 1991.

нейшую роль в обеспечении человечества продовольствием. Поэтому создание новых биотехнологических методов применительно к растениям этого семейства представляет не только теоретический, но и чисто практический интерес. Задача настоящего обзора — рассмотреть основные достижения и перспективы трансформации важнейших представителей семейства *Gramineae* — зерновых злаков.

**Перенос чужеродных генов в злаки.** Существующие к настоящему времени системы переноса генов в растения можно разделить на две большие группы: векторная система с использованием в качестве векторов природных «переносчиков» генов, таких как почвенные бактерии рода *Agrobacterium*, вирусы и некоторые другие, и искусственная система, так называемый прямой перенос генов. Рассмотрим возможности применения этих систем для трансформации злаков более подробно.

Перенос генов, опосредованный *Agrobacterium*. Метод, основанный на природной векторной системе — взаимодействии растений с почвенными бактериями *A. tumefaciens* и *A. rhizogenes*, давно и широко используется для трансформации двудольных растений. Долгое время считалось, что *Agrobacterium* инокулируют только двудольные растения, однако в последнее время появились убедительные доказательства возможности трансформации таким методом и однодольных растений, в том числе и злаков [1—4]. Оказалось, что у однодольных в отличие от двудольных растений в большинстве случаев в ответ на поранение не выделяются вещества фенольной природы (например, ацетосирингон), активирующие функционирование бактериальных генов вирулентности и являющиеся необходимым условием взаимодействия бактерии и растительной клетки. Предварительное же активирование бактерий с помощью ацетосирингона позволяет обойти этот барьер. Так, в работе [3] после инокуляции диким штаммом *A. tumefaciens*, предварительно активированным экстрактом из двудольных растений, однодольного растения *Dioscorea* показано образование опухолей и приведены молекулярно-биологические доказательства интеграции Т-ДНК в геном растения. Следует также отметить, что недавно появились сообщения и о возможности трансформации с помощью *Agrobacterium* и других злаков — риса и пшеницы [5, 6], однако доказательств на молекулярном уровне стабильной интеграции Т-ДНК в растительный геном в них не приводится. К настоящему времени показана принципиальная возможность трансформации злаков с помощью *Agrobacterium* и в дальнейшем такой подход может оказаться весьма перспективным.

Прямой перенос генов. Применение методов прямого переноса генов для трансформации злаков имеет ряд существенных особенностей, связанных со значительными трудностями, возникающими при культивировании злаков *in vitro*. Поэтому у злаков наряду со стандартными способами, такими как трансформация протопластов, получили распространение и альтернативные подходы, включающие как использование культуры *in vitro* (микроинъекции в клетки эмбрионного каллуса и др.), так и прямой перенос генов непосредственно в растения (инъекции в незрелые соцветия и свежееплодотворенную завязь, трансформация пыльцы). Опишем каждый из имеющихся подходов более детально.

**Трансформация протопластов.** На сегодняшний день этот подход не получил широкого применения для трансформации злаков, так как для большинства видов и сортов отсутствует эффективная и стабильная система культивирования протопластов и регенерации из них растений. Несмотря на это, попытки использовать его предпринимались достаточно давно, в первую очередь для тестирования различных генных конструкций при изучении транзientной экспрессии. Например, еще в 1985 г. путем трансформации протопластов получены генетически трансформированные каллусные клеточные линии *Triticum monocosmum* и *Lolium multiflorum* [7, 8]. В этих работах впервые показана универ-

сальность способов трансформации, селективных маркеров и генных конструкций как для дву-, так и однодольных растений. И только к настоящему времени по мере появления стабильной и высокоэффективной регенерации растений из протопластов все новых видов злаков метод получает широкое распространение. Например, для нескольких линий риса, двух линий кукурузы, трех линий пшеницы, растения которых регенерировали из протопластов, получены и генетически трансформированные растения [9—11]. Причем в большинстве случаев использовали такие же генные конструкции, как для трансформации двудольных растений. Можно надеяться, что при дальнейшем развитии методов культивирования протопластов описанный подход станет одним из основных способов трансформации злаков.

*Трансформация многоклеточных структур.* К этому разделу нами отнесено использование в качестве реципиентов эмбриоидов, культивируемых *in vitro*, меристем и интактных семян.

А. Микроинъекции в культивируемые *in vitro* многоклеточные структуры. К настоящему времени для большинства злаков разработана стабильная и высокоэффективная система регенерации растений из многоклеточных структур, культивируемых *in vitro* (эмбриогенный каллус из незрелых зародышей, микроспор). Поэтому весьма заманчивыми представлялись попытки получения генетически трансформированных растений злаков путем микроинъекции в клетки эмбриоидов, культивируемых *in vitro*, с последующей селекцией трансформированных клеток и регенерацией из них трансформированных растений [12, 13] подобно тому, как это осуществлено у рапса [14]. В последнем случае микроинъекцию проводили в микроэмбриониды, полученные при культивировании *in vitro* изолированных микроспор и состоящие из 4—6 клеток. К сожалению, у злаков работа с такими микроструктурами практически неосуществима, поскольку отсутствуют методики культивирования изолированных микроспор (кроме единичных случаев [15]). Таким образом, у злаков возможны микроманипуляции только с достаточно крупными структурами, что должно неизбежно приводить к возникновению химерных трансформированных растений из-за невозможности одновременной трансформации всех клеток в многоклеточной структуре. В заключение следует отметить, что описанный подход является очень трудоемким и приводит к получению химерных растений. По нашему мнению, такой метод не является перспективным.

Б. Трансформация методом бомбардировки вольфрамовыми шариками. Подход является сравнительно новым и заключается в бомбардировке растительной ткани вольфрамовыми шариками, на которых адсорбированы молекулы ДНК. При этом шарики пробивают клеточные стенки и мембраны и «транспортируют» молекулы ДНК внутрь клетки. Метод требует наличия дорогого и сложного оборудования и поэтому очень широкого распространения не получил. Тем не менее в последние годы в ряде лабораторий он был применен для трансформации злаков. В качестве реципиентов использовали клетки эмбриогенного каллуса, суспензионной культуры и меристем. В результате этих работ выявлена только транзистная экспрессия чужеродных генов, трансформированных же растений получить не удалось [16—19]. Основные недостатки метода — большая трудоемкость и низкая эффективность, связанная с тем, что манипуляции осуществляются с многоклеточными структурами.

В. Поглощение ДНК семенами. Замачивание семян в растворах чужеродной ДНК достаточно давно применяется для получения генетически измененных растений, причем в некоторых экспериментах даже удавалось получить растения, несущие фенотипические признаки, кодируемые поглощаемой ДНК [20]. Однако до недавнего времени механизм этого явления изучен не был. К примеру, не было известно, проникает ли ДНК в зародыш в недеградированном состоянии, а также способна ли она интегрироваться в растительный геном. Одним из первых

шагов в исследовании судьбы чужеродной ДНК при ее поглощении семенами стали работы [21, 22]. Так, в работе [22] показана транзигентная экспрессия чужеродных генов в прорастающих зародышах целого ряда растений, в том числе и злаков, после их замачивания в растворах плазмидной ДНК, что может свидетельствовать о проникновении недеградированной ДНК в клетки зародыша и ее экспрессии там. Следовательно, возможна и интеграция чужеродных генов в геном некоторых клеток зародыша. Однако вероятность получения таким способом генетически трансформированных растений весьма мала, в первую очередь, из-за многоклеточности зрелого зародыша, например, у пшеницы более 600 клеток, лишь одна из которых впоследствии дает начало следующему поколению растений.

Завершая анализ группы методов, где в качестве реципиентов используются многоклеточные системы, нужно отметить следующее: получение генетически трансформированных растений в этих случаях принципиально возможно, но вероятность такого события чрезвычайно мала, в первую очередь, из-за использования многоклеточных систем, и данные подходы не являются перспективными.

*Трансформация генеративных клеток растений.* В этом разделе рассмотрены такие методы, как инъекция в незрелые соцветия и свежееплодотворенную завязь, инкубация пыльцы в растворах ДНК, использование прорастающих пыльцевых трубок. Во всех случаях в качестве реципиентов используются генеративные клетки растений, что исключает получение химерных трансформантов и этапы культивирования *in vitro*.

**А. Инъекция в незрелые соцветия.** Суть метода заключается в инъекции растворов ДНК в незрелые соцветия на определенной стадии их развития — в момент наибольшей восприимчивости археспориальной клетки к внешним воздействиям и, значит, к проникновению и интеграции чужеродной ДНК. У ржи, например, такая стадия имеет место за 14 дней до мейоза. Впервые метод был использован для трансформации ржи в 1987 г. [23]. В цитированной работе в результате инъекции плазмидной ДНК, несущей ген устойчивости к канамицину, из более чем 3000 тестированных проростков 7 оказались устойчивыми к канамицину, а в 2 из них обнаружены нуклеотидные последовательности, гомологичные последовательностям вводимой ДНК, и активность фермента неомизинфосфотрансферазы. К сожалению, последующие попытки воспроизвести этот эксперимент успеха не имели. Недавно подобный метод был успешно применен и для трансформации ячменя [19]. В этой работе после инъекции плазмиды, несущей ген устойчивости к канамицину под контролем 35S промотора вируса мозанки цветной капусты, из 28 300 тестированных проростков 446 оказались устойчивыми к канамицину и в 45 из них выявлены нуклеотидные последовательности, гомологичные таковым используемой плазмиды. Таким образом, с помощью описанного выше способа генетически трансформированные растения удалось получить у двух различных видов злаков, причем эффективность трансформации была относительно высока (0,2%), что свидетельствует о перспективности этого метода.

**Б. Инкубация пыльцы в растворах ДНК.** Попытки осуществления переноса чужеродных генов в растения трансформацией пыльцы при ее инкубации в растворах ДНК с последующим использованием этой пыльцы для опыления растений предпринимались очень давно [24]. Однако до настоящего времени однозначно не доказана возможность применения такого метода для переноса чужеродных генов, хотя в некоторых работах и приводятся интересные данные по этому вопросу. Например, в работе Хесса [24] после инкубации пыльцевых зерен пелунии в растворах ДНК, несущей гены, утилизирующие лактозу и дающие возможность растениям использовать ее как единственный источник углерода, получены растения, развивающиеся только на лактозе. Автором приведены биохимические и молекулярно-биологические доказа-

тельства интеграции и экспрессии чужеродных генов. Аналогичные методики применены и для введения чужеродных генов в кукурузу. В работах [25, 26] показана передача фенотипических признаков у кукурузы при обработке пыльцы препаратами тотальных ДНК других линий и подвидов кукурузы. Следует, однако, отметить нестабильность наблюдаемых изменений в последующих поколениях, что заставляет усомниться в существовании самого факта трансформации. Заслуживает внимания и работа [27], в которой пыльцу кукурузы инкубировали в растворе плазмидной ДНК, несущей ген устойчивости к канамицину. В результате авторами получены канамицинустойчивые растения и показана интеграция плазмидной ДНК в растительный геном. С другой стороны, в ряде работ при использовании аналогичного метода инкубации пыльцы с плазмидной ДНК канамицинустойчивые растения обнаружены не были. Например, в работе [28] среди 830 полученных после обработки пыльцы растений устойчивых к канамицину не оказалось. Авторами также показано, что при совместной инкубации ДНК и пыльцы через 15 мин происходит полная деградация плазмидной ДНК в инкубационной среде.

В. Введение ДНК в прорастающие пыльцевые трубки. Весьма оригинальным способом трансформации злаков является так называемый метод «пыльцевых трубок» (*pollen tube pathway*), впервые примененный для трансформации риса [29]. Суть метода заключается в том, что через определенное время после опыления удаляют рыльце и на срез наносят каплю раствора ДНК. Предполагается, что в этом случае чужеродная ДНК проникает в яйцеклетку по растущей пыльцевой трубке. Поэтому весьма существенным является выбор временного интервала между опылением и удалением рыльца: с одной стороны, он не должен быть слишком малым, чтобы обеспечить завязывание семян, а с другой — слишком большим, чтобы чужеродные гены интегрировали до первого деления зиготы. В упомянутой выше работе раствор плазмидной ДНК был нанесен на 259 срезов цветков риса через 30—40 мин после опыления. В результате этого эксперимента получены 54 семени. Все растения были проанализированы для выявления нуклеотидных последовательностей плазмидной ДНК с помощью метода дот-гибридизации. Последовательности обнаружены в 10 растениях, которые в дальнейшем исследовали более детально как методом блот-гибридизации, так и с целью выявления активности фермента неомидинфосфотрансферазы. Приведенные авторами данные однозначно подтверждают интеграцию чужеродных генов и их экспрессию в растениях. Похожие результаты получены и при использовании такого метода для трансформации ячменя [19, 30]. Например, в работе [19] цветки ячменя обрабатывали плазмидой, несущей ген устойчивости к канамицину, через 5—20 мин после опыления. Таким способом обработаны 1058 растений, получены 11 200 семян, 305 из которых оказались устойчивыми к канамицину, причем в некоторых из них обнаружена активность неомидинфосфотрансферазы. Приведенные выше результаты свидетельствуют о том, что данный метод является весьма перспективным и может быть успешно применен для трансформации злаков.

Г. Инъекция в свежееплодотворенную завязь. Впервые на возможность и перспективность использования такого подхода для трансформации злаков было указано в чисто теоретической работе [13], однако практически метод начали применять недавно. По своей сути он несколько сходен с описанным ранее методом пыльцевых трубок, но для увеличения эффективности трансформации после удаления рыльца ДНК не наносят на срез, как в методе пыльцевых трубок, а вводят ее прямо в завязь с помощью микрошприца, причем весьма важен и момент инъекции. Оптимальной является инъекция в момент слияния спермий и яйцеклетки, когда существует наибольшая нестабильность в структуре ДНК и должна быть значительно облегчена интеграция чужеродных генов. В работе [32], где метод был успешно применен

для трансформации пшеницы, плазмиду *pABD1* вводили в 118 цветков пшеницы и в результате были получены 18 растений. Методом блот-гибридизации наличие нуклеотидных последовательностей, гомологичных последовательностям вводимой ДНК, показано для трех растений.

В заключение настоящего обзора можно сделать следующие выводы: к настоящему времени генетически трансформированные растения получены для большинства важнейших видов культурных злаков, в том числе для риса, кукурузы, пшеницы, ржи, ячменя. Среди рассмотренных нами методов трансформации наиболее перспективными, по нашему мнению, являются методы с использованием в качестве реципиентов генеративных клеток (инъекция в незрелые соцветия и в свежесплодотворенную завязь, метод пыльцевых трубок), а также, возможно, и перенос генов, опосредованный *Agrobacterium*.

#### Резюме

Проаналізовано принципово різні підходи до трансформації злаків. Відзначені можливість застосування як маркерів хімерних генів стійкості до капаміцину та хлорамфеніколу, обмежене використання методів прямої трансформації протопластів лише тими сортами і лініями, рослини яких регенерують з протопластів. Основну увагу приділено нетрадиційним способам трансформації, таким як ін'єкція в незрілі суцвіття та в свіжозапіднений зав'язок, трансформація пилка. Показано, що більшість описаних методів дає можливість одержувати генетично трансформовані рослини, причому найбільш ефективними є методи прямого переносу генів безпосередньо в рослини.

#### Summary

Methods for the genetic manipulation of cereal crops have progressed considerably in recent years. A serious limitations in the wider application of DNA-mediated direct gene transfer to cereal crops remains the difficulty of regenerating plants from isolated protoplasts. Alternative transformation methods independent of protoplasts are therefore being sought by introducing foreign genes either via microinjection into multicellular structure, or by delivering the isolated DNA directly into plants, or pollen transformation, or *Agrobacterium* mediated gene transfer. Most of these methods led to obtained genetically transformed cereal plants, but most suitable method in this case is delivering the isolated DNA directly into plants.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Agrobacterium* transformed cell culture from the monocot *Asparagus officinalis* / J. P. Hernalsteens, L. Thia-Toong, J. Schell, M. van An // EMBO J.—1984.—3, N 13.— P. 3039—3041.
2. Expression of *Ti*-plasmid genes in monocotyledon plants infected with *Agrobacterium tumefaciens* / V. Hooykaas, G. van Slogteren, H. Hooykaas, R. Schilperoort // Nature.—1983.—311, N 5988.— P. 763—764.
3. Shafer W., Gors A., Kahl G. T-DNA integration and expression in a monocot crop plant after induction of *Agrobacterium* // Nature.—1987.—327, N 6095 — P. 532—539.
4. DNA transfer from *Agrobacterium* to *Zea mays* or *Brassica* by agroinfection is dependent on bacterial virulence functions / N. Grimsley, B. Hohn, C. Ramos et al. // Mol. and Gen. Genet.—1989.—217, N 2.— P. 309—316.
5. Cereal transformation with *Agrobacterium tumefaciens* via the pollen tube pathway / R. Brettschneider, P. A. Lasaeri, P. Lanqrige et al. // 7-th Int. Congr. on plant tissue and cell culture: Abstrs.— Amsterdam, 1990.— P. 49.
6. Rice transformation, vectors for rice transformation and expression of transferred genes / L. A. Hensgens, S. Rueb, E. G. M. Meijer et al. // Ibid.— P. 60.
7. Direct gene transfer to cells of a graminaceous monocot / I. Potrykus, M. Saul, I. Petruska et al. // Mol. and Gen. Genet.—1985.—199, N 2.— P. 183—188.
8. Lorz H., Baker B., Schell J. Gene transfer to cereal cells mediated by protoplasts transformation // Ibid.— P. 178—182.
9. Genetically transformed maize plants from protoplasts / C. A. Rhoges, D. A. Pierce, I. Mettler et al. // Science.—1986.—240, N 2.— P. 204—207.
10. Terada R., Shimamoto K. Expression of *CaMV35S-GUS* gene in transgenic rice plants // Mol. and Gen. Genet.—1990.—220, N 3.— P. 389—392.

11. Vasil I. K., Vasil V., Redway F. Plant regeneration from embryogenic protoplasts of *Triticum aestivum* L. (wheat) // 7-th Int. Congr. on plant tissue and cell culture: Abstrs.— Amsterdam, 1990.— P. 3.
12. Tilton V. R., Russell S. H. Microinjection of plant cells. II. Cell isolation, preparation and initial culture // *Plant Physiol.*— 1983.— 12, N 1.— P. 9.
13. Пастернак Т. П., Мельников П. В. Генетическая трансформация высших растений с помощью микроинъекций ДНК // Биология культивируемых клеток и биотехнология: Материалы междунар. конф.— Новосибирск, 1988.— С. 187—188.
14. Transgenic rapped plants obtained by the microinjection of DNA into microspore-derived embryoids / G. Neuhaus, G. Spadenberg, O. Mittelstein-Scheid, H.-G. Schweiger // *Theor. and Appl. Genet.*— 1987.— 75, N 1.— P. 30—36.
15. Wei M., Kyo M., Harada H. Callus formation and plant regeneration through direct culture of isolated pollen grains of *H. vulgare*, cv. *Sabarlis* // *Ibid.*— 1986.— 72, N 2.— P. 252—255.
16. Transient expression of chloramphenicolacetyltransferase (CAT) gene in barley cell cultures and immature embryos through microprojective bombardment / K. K. Kartha, R. N. Chibbar, F. Georges et al. // *Plant Cell. Rep.*— 1989.— 8, N 3.— P. 429—432.
17. Plant cell transformation using high velocity microparticles / R. H. Vallejos, M. Lopez, L. Orsaria et al. // 7-th Int. Congr. on plant tissue and cell culture: Abstrs.— Amsterdam, 1990.— P. 80.
18. Transformation of cereal cell cultures by microprojective bombardment / Chen D., Batty N., Evans J., P. Dale // *Ibid.*— P. 50.
19. Gene transfer to barley / R. R. Mendel, E. Claus, J. Schulze et al. // *Ibid.*— P. 44.
20. Картель Н. А. Эффекты экзогенной ДНК у высших растений.— Минск: Наука и техника, 1981.— 143 с.
21. Transfer of bacterial and human genes to germinating *Arabidopsis thaliana* / L. Ledoux, L. Diels, R. Huart et al. // *Arabidopsis inform. service.*— 1985.— 22, P. 1—12.
22. Uptake and transient expression of chimeric genes in seed-derived embryos / R. Topfer, B. Gronenborn, J. Schell, H. Steinbiss // *Plant Cell.*— 1989.— 1, N 1.— P. 133—139.
23. De la Pena A., Lorz H., Schell J. Transgenic rye plants obtained by injection of DNA into young tillers // *Nature.*— 1987.— 325, N 6071.— P. 274—276.
24. Hess D. Pollen-based techniques in genetic manipulation // *Int. Rev. Cytology.*— 1987.— 107.— P. 367—395.
25. De Wet J. M., Bergquist R., Harlan J. Exogenous gene transfer in maize using DNA-treated pollen / Exp. manipulation of ovule tissues / Ed. P. Charman.— New York, 1985.— P. 197—209.
26. Ohta Y. High efficiency genetic transformation of maize by a mixture of pollen and exogenous DNA // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*— 1986.— 83, N 3.— P. 715—719.
27. Чесноков Ю. В., Виконская Н. А., Король А. Б. Генетическая трансформация кукурузы // 7-й Всесоюз. симпоз. «Молекулярные механизмы генетических процессов»: Тез. докл.— М., 1990.— С. 183.
28. Booy G., Krens F., Huizing H. Attempted pollen mediated transformation of maize // *J. Plant Physiol.*— 1989.— 135, N 3.— P. 319—324.
29. Luo Z., Wu R. A simple method for the transformation of rice via the pollen tube pathway // *Plant Mol. Biol. Rep.*— 1988.— 6, N 3.— P. 165—174.
30. Растения ячменя с введенным геном канамициноустойчивости / Н. А. Картель, К. И. Забенькова, Т. В. Манешина, С. Е. Аблов // Докл. АН БССР.— 1990.— 34, № 3.— С. 261—263.
31. Flavell R., Mathias R. Prospects for transforming monocot crop plants // *Nature.*— 1984.— 307, N 5947.— P. 108—109.
32. Пастернак Т. П. Введение чужеродных генов в растения злаков // 11-й Всесоюз. съезд Всесоюз. о-ва физиологов растений: Тез. докл.— Минск, 1990.— С. 72.

Ин-т клеточ. биологии и генет. инженерии АН УССР,  
Киев

Получено 14.01.91

УДК 578.085

И. А. Костенюк, О. Ф. Любарец, В. В. Воронин, Ю. Ю. Глеба

### КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ В БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ-ПРОДУЦЕНТОВ ИЗ СЕМЕЙСТВА КУТРОВЫХ (*AROCYNACEAE*)

Описаны результаты экспериментов по соматической гибридизации в следующих комбинациях: *Raiwolfia serpentina*+*Vinca minor*, *R. serpentina*+*Catharanthus roseus*, *R. serpentina*+*Rhazya stricta*, *C. roseus*+*V. minor*. Представлены данные о селектив-

© И. А. Костенюк, О. Ф. Любарец, В. В. Воронин, Ю. Ю. Глеба, 1991.