

Генетичний поліморфізм соматоклональних ліній кукурудзи, отриманих від лінії Р346

Д. М. Майданюк, І. О. Андрєєв, К. В. Спірідінова, В. А. Кунах

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

kunakh@imbg.org.ua

*Методом RAPD-аналізу встановлено відмінності між інбредною лінією Р346 і п'ятьма соматоклональними лініями кукурудзи *Zea mays*, отриманими з неї через культуру тканин *in vitro*: УКЧ-5, УКЧ-6, УКЧ-7, УКЧ-8 і УКЧ-9. Показано, що соматоклональні лінії різняться між собою за значеннями генетичних відстаней від вихідної лінії Р346, а також за рівнем внутрішньолінійної гетерогенності. Між цими показниками спостерігається позитивний взаємозв'язок. Частина поліморфних ампліконів, що відрізняють соматоклональні лінії від вихідної лінії, виявилися спільними для кількох з них. Отримані дані поряд з результатами проведеного раніше вивчення окремих фенотипових селекційно-генетичних ознак ще раз продемонстрували, що застосування культури тканин *in vitro* в поєднанні з відповідними методами добору дозволяє отримувати бажані генетичні зміни.*

Ключові слова: кукурудза, культура тканин *in vitro*, соматоклональні лінії, RAPD-аналіз, геномні перебудови.

Вступ. Кукурудза є важливою сільськогосподарською культурою. У світовому землеробстві вона посідає перше місце за посівними площами і друге – за валовим збором зерна. У сільському господарстві і харчовій промисловості широко застосовують як зерно, так і вегетативну масу кукурудзи. Відомо, що з кукурудзи отримують до 500 основних і побічних продуктів [1]. В Україні кукурудза традиційно є цінною продовольчою культурою. Крім того, вона майже повністю задовольняє потреби тваринництва у зелених кормах. Кукурудза як просапна культура сприяє очищенню полів від бур'янів, завдяки чому її масово використовують у сівознах як попередник озимих і ярих зернових.

Останніми роками зусилля вітчизняних селекціонерів спрямовані на отримання гібридів кукурудзи ранньостиглої, середньоранньої і середньостиглої груп [2]. Одним із чинників, які стримують поліпшення сортів і гібридів кукурудзи, є обмеженість генетичного різноманіття придатних для селекційної роботи зразків. Використання культури тканин *in vitro* завдяки притаманній їй соматоклональній мінливості є перспективним шляхом подолання цієї перешкоди [3]. Відомо, що із збільшенням тривалості перебування клітин у культурі *in vitro* соматоклональна мінливість зростає [4]. Разом з тим різко зменшується регенераційна здатність калюсних тканин, що обмежує можливість застосування цього підходу для розширення різноманіття наявного генетичного матеріалу.

Д. М. МАЙДАНИЮК, І. О. АНДРЕЄВ, К. В. СПІРІДІНОВА,
В. А. КУНАХ, 2007

Підвищити ефективність використання соматоклональної мінливості у селекційній роботі дозволяє отримання ліній кукурудзи з підвищеною регенераційною здатністю.

Раніше в Інституті фізіології рослин і генетики НАН України шляхом штучного добору, який включав контроль фаз індукції калусоутворення і регенерації рослин, з калусних культур із спонтанною мінливістю отримано соматоклональні варіанти інбредної лінії кукурудзи Р346 [5, 6]. На їхній основі створено лінії УКЧ-5, УКЧ-6, УКЧ-7, УКЧ-8, УКЧ-9, які поряд із вищими показниками низки агрономічно цінних ознак характеризуються підвищеною регенераційною здатністю порівняно з вихідною лінією Р346 [5]. У результаті оцінки, проведеної в Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва УААН, виявлено генетичні відмінності створених соматоклональних ліній від вихідної інбредної лінії Р346 за різними агрономічними показниками (Гур'єва, неопубліковані дані).

У даній роботі для вивчення молекулярно-генетичних змін, індукованих культивуванням тканин кукурудзи *in vitro*, проведено дослідження геномів лінії Р346 та її соматоклональних варіантів методом RAPD-ПЛР.

Матеріали і методи. Використано насіння інбредних ліній кукурудзи Р346 (Pioneer 346), УКЧ-5, УКЧ-6, УКЧ-7, УКЧ-8, УКЧ-9, люб'язно надане Національним центром генетичних ресурсів рослин України (НЦГРРУ) при Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва (м. Харків). Лінії зареєстровано в НЦГРРУ під номерами: UB0102873, UB0103498, UB0103499, UB0103500, UB0103501, UB0103359.

Насіння кукурудзи стерилізували 70 %-м розчином етанолу протягом 2 хв, потім 20 %-м розчином «Domestos» упродовж 20 хв. Далі насіння промивали 6 разів стерильною дистильованою водою і прощували на агаризованому середовищі із половинним вмістом солей за Мурасіге і Скугом [7]. ДНК з індивідуальних рослин віком 14 діб виділяли, використовуючи цетавлон (СТАВ) за методикою [8].

Концентрацію і якість препаратів ДНК оцінювали візуально за інтенсивністю флуоресценції комплексів бромистого етидію з ДНК в УФ-променях після електрофорезу в 1,5 %-му агарозному гелі

відносно контролю з відомою концентрацією (ДНК бактеріофага).

Реакційна суміш для ПЛР об'ємом 20 мкл містила 1 ПЛР-буфер з 2 мМ MgCl₂ («Медбіосервіс», Україна), dNTP в концентрації 0,2 мМ кожний, 1 од. Таq-полімерази («Амплісенс», РФ), 0,25 мкМ праймер («Литех», РФ), 20 нг ДНК. На реакційну суміш нашаровували 20 мкл мінерального масла. Для проведення ПЛР використовували таку програму: денатурація – 94 °С/2 хв; 5 циклів: денатурація – 94 °С/30 с, ренатурація – 38 °С/30 с, елонгація – 72 °С/1 хв; 35 циклів: денатурація – 94 °С/20 с, ренатурація – 38 °С/20 с, елонгація – 72 °С/40 с; елонгація – 72 °С/2,5 хв. Реакцію з кожним праймером повторювали двічі. Продукти реакції розділяли у 2 %-му агарозному гелі з бромистим етидієм у 1 ТВЕ-буфері. Для визначення розміру фрагментів використовували ДНК-маркер «100 bp + 1,5 Kb» («СибЭнзим», РФ).

Для статистичної обробки RAPD-спектри досліджених об'єктів представляли у вигляді бінарної матриці, де наявність фрагмента позначали 1, а його відсутність – 0 (враховували лише добре помітні і відтворювані фрагменти). На основі побудованої матриці визначали генетичні відстані за Неєм [9] за допомогою програми POPGENE 1.31 [10].

Результати і обговорення. Вивчали міжлінійні відмінності та внутрішньолінійний поліморфізм на рівні індивідуальних рослин у лінії кукурудзи Р346 та її соматоклональних ліній, отриманих на основі рослин-регенерантів з культури тканин *in vitro*. Зокрема, проаналізовано ДНК дев'яти рослин лінії Р346, по 10 рослин ліній УКЧ-5, УКЧ-6, УКЧ-8, УКЧ-9 і вісім рослин лінії УКЧ-7. Молекулярно-генетичний аналіз здійснювали за допомогою ПЛР з неспецифічними праймерами, а саме – RAPD-ПЛР. Однією з переваг цього методу є те, що він дозволяє оцінювати велику кількість ділянок, випадковим чином розподілених по геному. Для аналізу відбирали праймери, які раніше успішно застосовували при вивченні генетичного поліморфізму кукурудзи [11, 12]. Загалом використано 10 десятинуклеотидних праймерів, відомості про які наведено у табл. 1. Поліморфізм між дослідженими об'єктами виявили дев'ять праймерів.

При проведенні ПЛР із зазначеними праймерами отримували чіткі продукти ампліфікації, кількість яких варіювала від трьох до 13 (табл. 1). У цілому для всіх об'єктів враховано 89 ампліконів,

Таблиця 1

Характеристика праймерів, використаних для RAPD-аналізу інбредних ліній кукурудзи, та їхніх продуктів

Праймер	Послідовність нуклеотидів (5'-3')	Праймери, які виявили поліморфізм		Кількість ампліконів	
		Міжлінійний	Внутрішньолінійний	Лінія Р346	Соматоклональні лінії
A-01	CAGGCCCTTC	+	+	6	8
A-12	ATCGCACACT	+	+	7	7
Ag-01	AGGTCACCTGA	+	-	8	9
B-01	GTTTCGCTCC	+	+	3	12
АН-30	TGGTCACTGT	-	+	5	10
M-06	CTGGGCAACT	+	+	6	6
M-07	CCGTGACTCA	+	+	13	15
OPA-02	TGCCGAGCTG	+	-	9	10
OPA-04	AGTCAGCCAC	+	-	8	9
340	GAGAGGCACC	-	-	3	3
Разом		8	6	68	89

Примітка. Для соматоклональних ліній зазначено кількість ампліконів, виявлених у рослинах усіх ліній в цілому.

68 з яких виявлялися у вихідній лінії Р346, а решта 21 були специфічними для соматоклональних варіантів. Кількість поліморфних ампліконів дорівнювала 42, що склало 47,2 % від загальної кількості врахованих продуктів ампліфікації. Типову картину поліморфізму спектрів ПЛР-фрагментів досліджених ліній кукурудзи демонструють електрофореграми, наведені на рис. 1.

Аналіз RAPD-спектрів індивідуальних рослин окремих ліній дозволив виокремити дві групи поліморфних фрагментів. До однієї з них включено амплікони, які характеризуються внутрішньолінійним поліморфізмом. Приклад такого поліморфізму для рослин лінії УКЧ-6 наведено на рис. 2. Узагальнення результатів аналізу внутрішньолінійного поліморфізму (табл. 2) показало, що досліджені соматоклональні лінії відрізняються за рівнем генетичної гетерогенності, зокрема, за кількістю рослин з поліморфними спектрами та кількістю варіабельних фрагментів. Найбільшою гетерогенністю характеризуються лінії УКЧ-6 та УКЧ-8, найменшою – УКЧ-5. Разом з тим рослини вихідної інбредної лінії Р346 мали однакові спектри.

Поліморфні амплікони, які ввійшли до другої групи, виявляли міжлінійні відмінності, але були

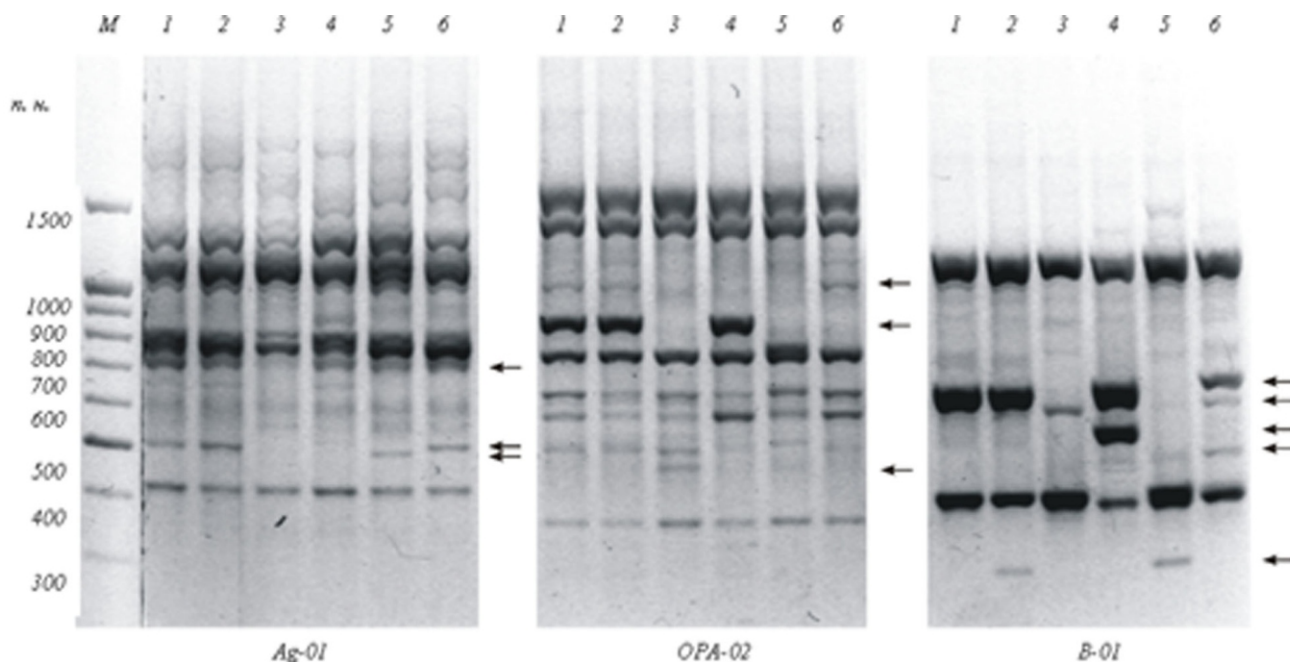


Рис. 1. RAPD-спектри ДНК досліджених ліній кукурудзи, отримані з трьома праймерами. Поліморфні фрагменти позначені стрілками. М – маркер молекулярних мас; 1 – лінія Р346; 2 – УКЧ-5; 3 – УКЧ-6; 4 – УКЧ-7; 5 – УКЧ-8; 6 – УКЧ-9. Назви використаних праймерів вказано під електрофореграмами

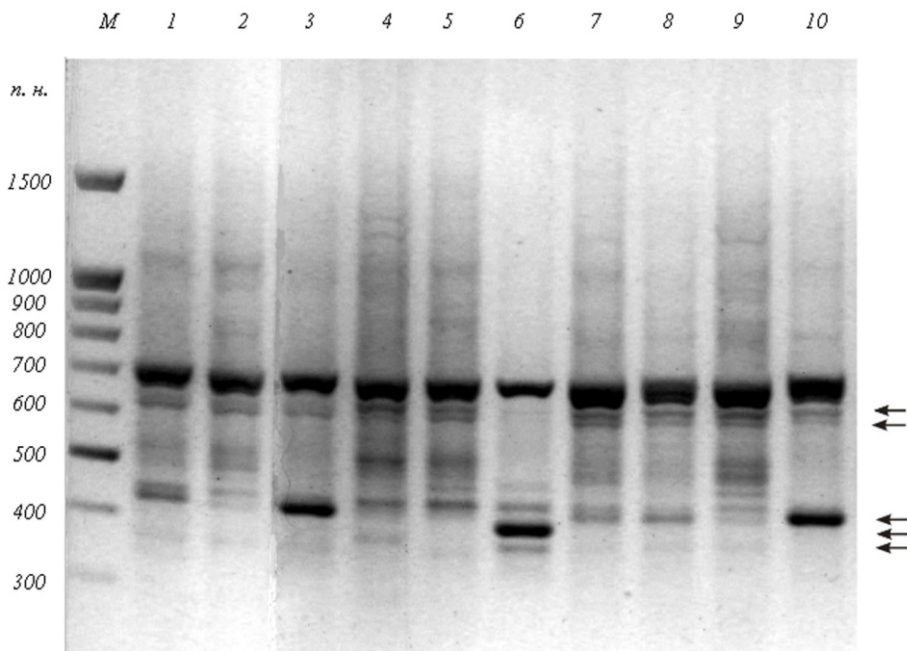


Рис. 2. RAPD-спектри ДНК індивідуальних рослин сомаклональної лінії кукурудзи УКЧ-6, отримані з праймером АН-30. Поліморфні фрагменти позначено стрілками. М – маркер молекулярних мас. Номери доріжок відповідають номерам рослин лінії УКЧ-6

стабільними всередині окремих сомаклональних ліній (табл. 3). Як можна бачити з представлених у табл. 3 даних, досліджені лінії відрізняються між собою за кількістю фрагментів цієї групи і, отже, за генетичними відстанями за Несм [9] від вихідної лінії Р346. Найбільшу кількість поліморфних ампліконів цієї групи і максимальну генетичну відстань від Р346 виявлено у лінії УКЧ-6 та УКЧ-8, найменшу – в УКЧ-5. Лінії УКЧ-7 та УКЧ-9 майже не відрізнялися між собою за значенням генетичних відстаней від Р346 і займали проміжне положення. Слід зазначити, що деякі амплікони з цієї групи, які відрізняли сомаклони від вихідної лінії Р346, були специфічними для окремих сомаклональних ліній, тоді як інші були характерними для кількох ліній. Амплікони, однаково змінені у трьох з п'яти сомаклональних ліній, утворювалися з праймерами Ag-01, М-06, ОРА-02 (див. позначені зірочкою амплікони в табл. 3).

Таким чином, RAPD-аналіз виявив відмінності між вихідною лінією кукурудзи Р346 та її сомаклональними варіантами – лініями УКЧ-5, УКЧ-6, УКЧ-7, УКЧ-8, УКЧ-9. Процедура отримання сомаклональних ліній включала індукцію калюсоутворення з незрілих зародків. Одержані калюсні культури, які характеризувалися спонтанною мінливістю, відбирали за фенотиповими ознаками «здатність до утворення тотипотентного калюсу»

та «регенераційна здатність» [6]. Використані для проведення аналізу молекулярні маркери не проявляли внутрішньолінійного поліморфізму у вихідній лінії Р346, що дозволяє виключити можливий внесок цього фактора в сомаклональну мінливість на етапі отримання калюсних культур. Отже, знайдені відмінності сомаклональних ліній свідчать про те, що культивування тканин кукурудзи *in vitro* може індукувати геномні перебудови на рівні послідовностей ДНК.

У досліджених сомаклональних лініях на відміну від вихідної Р346 виявлено внутрішньолінійну гетерогенність. Проаналізовані рослини кожної з ліній є прямими нащадками однієї рослини-регенеранта, отриманими самозапиленням, і таку гетерогенність можна пояснити переходом геному в гетерозиготний стан і розщепленням за подальшого статевого розмноження. Перехід у гетерозиготний стан міг бути наслідком спонтанної мінливості при перебуванні тканин у культурі *in vitro* або ж культивування *in vitro* спричинило дестабілізацію геному, яка зберігалася у нащадків рослини-регенеранта. Однак наявні у нас результати не дозволяють беззаперечно стверджувати про реалізацію якогось одного з описаних механізмів. Поряд з цим, існування іншої групи поліморфних фрагментів, які не виявляли внутрішньолінійної варіабельності, але відрізняли сомаклональні лінії

Таблиця 2
RAPD-фрагменти, які виявляють індивідуальні відмінності рослин окремих соматональних ліній кукурудзи

Пробір	Розмір фрагмента, б.б.	Соматональні лінії кукурудзи окремих рослин у парі зі стандартною лінією																		
		УКР45 (n = 10)		УКР46 (n = 10)						УКР47 (n = 2)		УКР48 (n = 10)					УКР49 (n = 10)			
		2	3	2	4	5	6	9	10	6	2	1	2	3	4	5	1	3	9	10
А-01	370																			
	580											+		+						
А-12	2200								-											
В-01	400		+																	
	600			+																
	620																+	+		+
	630																-	-		-
	1800										+									
	3000										+									
М-04	300					-														
	900	-																		
М-07	450																			-
	470																			+
АН-30	340																			
	380																			
	430				-	-	-		-											
	540																			+
	620																			-
	630																			-
	750																			+
	800																			+
	820																			-
Всього поліморфних алелів	22	2		8						4		5					3			

Примітка. «+» і «-» позначено наявність і відсутність амплікона певного розміру (в парах нуклеотидів) порівняно зі спектром вихідної лінії Р346; n – кількість проаналізованих рослин.

Таблиця 3
RAPD-фрагменти, що виявляють відмінності соматоклональних ліній від вихідної лінії кукурудзи P346 і залишаються стабільними всередині окремих соматоклональних ліній

Пробірка	Розмір ампліконів, оо	Соматоклональність				
		УКЧ6	УКЧ6*	УКЧ7	УКЧ8	УКЧ8*
A-01	1200			+	+	
A-12	440		-			
	1030		-			
A ₂ -01	470				+	
	500*		-	-	-	
	710		-			
B-01	290	+			+	
	480					+
	520			+		
	570		+			+
	610		-		-	
M-06	900*			-	-	-
	1400		-			
M-07	630					-
	700					+
	780				-	
CPA-02	440		+			
	840*		-		-	-
	1020*		-	-	-	
CPA-04	500		+		+	
Всього поліморфних ампліконів	20	1	11	3	10	6
Генетична відмінність від P346		0,0131	0,1542	0,0671	0,1391	0,0811

Примітка. «+» або «-» відповідно позначено наявність і відсутність амплікона певного розміру (в парах нуклеотидів) порівняно зі спектром вихідної лінії P346. Зірочками виділено фрагменти, поліморфні одночасно у трьох з п'яти соматоклональних ліній.

від вихідного генотипу, свідчить про можливість виникнення мутацій в гомозиготній формі або про їхній добір при подальшому розмноженні. Подібні результати отримано з використанням RAPD-маркерів на іншій лінії кукурудзи [11].

Встановлено деякі особливості геномних змін, що призвели до утворення соматоклональних варіантів, на основі яких створено досліджені інбредні лінії. Соматоклональні лінії відрізняються між собою як за ступенем відмінностей від вихідної лінії, так і за рівнем внутрішньолінійної гетерогенності. До того ж між цими показниками спостерігається взаємозв'язок: лінії УКЧ-6 та УКЧ-8, які мають найвищий рівень внутрішньолінійного поліморфізму, характеризуються також і найбільшою кількістю поліморфних фрагментів, що відрізняють її від лінії P346.

І навпаки, лінія УКЧ-5 з найнижчою внутрішньолінійною гетерогенністю має найменші відмінності від P346. Таку позитивну кореляцію можна пояснити тим, що зміни, індуковані культивуванням *in vitro*, спричинюють перехід геному до гетерозиготного стану: чим більших змін зазнає геном, тим більше локусів стають гетерозиготними і тим більшою буде гетерогенність серед насінневих нащадків рослини-регенеранта.

Іншою особливістю поліморфізму RAPD-спектрів соматоклональних ліній є те, що частина поліморфних ампліконів, які відрізняють їх від вихідної лінії P346, зазнають змін одночасно в кількох соматоклональних лініях. Наявність спільних ознак може бути наслідком спрямованого добору, який проводили при створенні даних ліній, проте не виключена можливість того, що вони виникли завдяки існуванню в геномі «гарячих точок» мутацій, які в першу чергу піддаються змінам за умов стресу при введенні і подальшому культивуванні в умовах *in vitro* [13].

Молекулярно-генетичні зміни геному, індуковані культивуванням тканин *in vitro*, виявлено також в інших представників рослинного світу. Зокрема, високий рівень генетичного поліморфізму з використанням RAPD-маркерів показано для калюсних клонів томатів, які відрізнялися за здатністю до росту на безгормональному середовищі [14]. Варіабельність RAPD- і ISSR-ампліконів

знайдено при аналізі геномів рослин кодонописиса ланцетоподібного (*Codonopsis lanceolata*), отриманих мікроклональним розмноженням [15]. Разом з тим, для клітинних ліній женьшеню, навпаки, виявлено незначний поліморфізм [16], а у мигдалю і рідкісної лікарської рослини *Chlorophytum arundinaceum*, отриманих мікроклональним розмноженням *in vitro*, мінливості RAPD- і ISSR-спектрів не встановлено взагалі [17, 18]. Такі разючі відмінності в опублікованих даних можна пояснити різними умовами культивування рослинних тканин *in vitro*, а також відмінностями завдань, які вирішували автори. Зокрема, мінливість геному, підвищення якої спостерігається за умов культури тканин *in vitro*, в одних випадках може бути небажаною (наприклад, при мікроклональному розмноженні рослин), а в інших, навпаки, – доцільною (завдяки підвищенню генетичного різноманіття вихідного матеріалу). Останнє, до речі, продемонстровано при створенні нових соматоклональних інбредних ліній кукурудзи. Результати нашого дослідження поряд з вивченням окремих фенотипових селекційно-генетичних ознак ([6], Гур'єва, неопубліковані дані) ще раз показали, що застосування культури тканин *in vitro* в поєднанні з відповідними методами добору дозволяє отримувати бажані генетичні зміни.

Висновки. Встановлено відмінності між інбредною лінією кукурудзи P346 та похідними від неї соматоклональними лініями, отриманими з використанням культури *in vitro*.

Визначено, що соматоклональні лінії відрізняються між собою за ступенем відмінностей від вихідної лінії, а також за рівнем внутрішньолінійної гетерогенності. Між цими показниками спостерігається позитивний взаємозв'язок.

Частина поліморфних ампліконів, що відрізняють соматоклональні лінії від P346, виявилися спільними для кількох з них.

Автори висловлюють щире вдячність Т. М. Чеченевій (Інститут фізіології рослин і генетики НАН України) та І. А. Гур'євій (Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва УААН) за наданий насінневий матеріал. Роботу виконано за часткової фінансової підтримки ДНТП Міністерства освіти і науки України у рамках проекту № 03.02.03/0014128.

D. M. Maidanyuk, I. O. Andreev, K. V. Spiridonova, V. A. Kunakh

Genetic polymorphism of the maize somaclonal lines derived from P346 line

Summary

Some distinctions between the inbred P346 line and five somaclonal Zea mays lines (UKCh-5, UKCh-6, UKCh-7, UKCh-8, and UKCh-9) obtained from it via tissue culture in vitro have been found through RAPD analysis. The somaclonal lines were shown to differ from each other by the magnitude of genetic distances from the original P346 line as well as by the level of intraline heterogeneity. Positive interrelationship was revealed between these indices. The subset of polymorphic amplicons which distinguish the somaclonal lines from the original one proved to be common for some of them. The results obtained along with the earlier studies on the individual phenotypic selection and genetic traits demonstrated that the employment of the tissue culture in vitro together with the appropriate selection methods allow attaining desirable genetic changes.

Keywords: maize, tissue culture in vitro, somaclonal lines, RAPD analysis, genome rearrangements.

Генетический полиморфизм соматоклональных линий кукурузы, полученных от линии P346

Д. Н. Майданюк, И. О. Андреев, Е. В. Спиридонова, В. А. Кунах

Резюме

Методом RAPD-анализа установлены отличия между инбредной линией P346 и пятью соматоклональными линиями кукурузы Zea mays, полученными из нее через культуру тканей in vitro: УКЧ-5, УКЧ-6, УКЧ-7, УКЧ-8 и УКЧ-9. Показано, что соматоклональные линии различаются между собой по величине генетических расстояний от исходной линии P346, а также по уровню внутрелинейной гетерогенности. Между этими показателями наблюдается положительная взаимосвязь. Часть полиморфных ампликонов, отличающих соматоклональные линии от исходной линии, оказались общими для нескольких из них. Полученные данные наряду с результатами проведенного ранее изучения отдельных фенотипических селекционно-генетических признаков еще раз продемонстрировали, что применение культуры тканей in vitro в сочетании с соответствующими методами отбора позволяет получать желаемые генетические изменения.

Ключевые слова: кукуруза, культура тканей in vitro, соматоклональные линии, RAPD-анализ, геномные перестройки.

PERELIK LITERATURY

1. Dowsell C. R. Maize in the world economy.—New York: Westview press Inc., 1996.—288 p.
2. Козубенко Л. В., Гур'єва І. А. Селекція кукурузи на раннеспелість.—Харьков: Урожай, 2000.—240 с.
3. Jain S. M. Tissue culture-derived variation in crop improvement // Euphytica.—2004.—118.—Р. 153–166.
4. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні і фізіолого-біохімічні основи.—К.: Логос, 2005.—730 с.
5. Чеченєва Т. М., Гур'єва І. А. Порівняльне дослідження соматоклональних інбредних ліній кукурудзи за кількісними ознаками // Генетика в Україні на межі тисячоліть.—К.: Логос, 2001.—Т. 1—С. 586–589.

6. Чеченева Т. Н. Спонтанная и индуцированная изменчивость кукурузы *in vitro*: Дис. д-ра биол. наук: 03.00.15 / Институт физиологии растений и генетики НАН Украины.–К., 2003.–302 с.
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.*–1962.–**15**.–P. 473–497.
8. Rogers S. O., Bendich A. J. Extraction of DNA from milligram amounts of field plant tissues // *Plant Mol. Biol.*–1985.–**5**.–P. 69–76.
9. Nei M. Genetic distance between populations // *Amer. Naturalist*–1972.–**106**.–P. 283–292.
10. Yeh F. C., Rongcai Y., Boyle T. 1999. POPGENE. Version 1.31. University of Alberta, Edmonton, Canada.
11. Осипова Е. С., Ковеза О. В., Троицкий А. В., Долгих Ю. И., Шамина З. Б., Гостимский С. А. Выявление специфических фрагментов у соматоклонов кукурузы и создание на их основе SCAR-маркеров // *Генетика*.–2003.–**39**, № 12.–С. 1664–1672.
12. Майданюк Д. Н., Андреев И. О., Спиридонова Е. В., Чеченева Т. Н., Кунах В. А. Геномная изменчивость линии кукурузы Black Mexican Sweet Corn C456 в культуре *in vitro*: результаты RAPD-анализа // *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*.–2006.–**4**, № 1.–С. 58–67.
13. Linacero R., Freitas A. E., Vázquez A. M. Hot spots of DNA instability revealed through the study of somaclonal variation in rye // *Theor. and Appl. Genet.*–2000.–**100**.–P. 506–511.
14. Bogani P., Simoni A., Lio P., Scialpi A., Buiatti M. Genome flux in tomato cell clones cultured *in vitro* in different physiological equilibria. II. A RAPD analysis of variability // *Genome*.–1996.–**9**.–P. 846–853.
15. Guo W. L., Gong L., Ding Z. F., Li Y. D., Li F. X., Zhao S. P., Liu B. Genomic instability in phenotypically normal regenerants of medicinal plant *Codonopsis lanceolata* Benth. et Hook. f., as revealed by ISSR and RAPD markers // *Plant Cell Rep.*–2006.–**25**.–P. 896–906.
16. Козыренко М. М., Артюкова Е. В., Лявве Л. С., Журавлев Ю. Н., Реунова Г. Д. Генетическая изменчивость калусных линий женьшеня (*Panax ginseng*) // *Биотехнология*.–2001.–№ 1.–С. 19–26.
17. Martins M., Sarmiento D., Oliveira M. M. Genetic stability of micropropagated almond plantlets, as assessed by RAPD and ISSR markers // *Plant. Cell Rep.*–2004.–**23**.–P. 492–496.
18. Lattoo S. K., Bamotra S., Sapruhar R., Khan S., Dhar A. K. Rapid plant regeneration and analysis of genetic fidelity of *in vitro* derived plants of *Chlorophytum arundinaceum* Baker – an endangered medicinal herb // *Plant Cell Rep.*–2006.–**25**.–P. 499–506.

УДК 575.22:633.15+581.143.6
Надійшла до редакції 22.01.07