

ИНДУЦИРОВАННЫЙ МУТАГЕНЕЗ В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ СЕНПОЛИИ

М.К. Горина, К.А. Смашных, О.К. Таварткиладзе, О.С. Горянинова

Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия

E-mail: ksenya7.08@mail.ru

В статье изучено действие колхицина на регенерационную способность изолированных тканей сенполии фиалковой (сорт Blue Dragon). Определена оптимальная доза мутагена и время экспозиции для сохранения жизнеспособности клеток и получения максимального числа растений-регенерантов с измененным генотипом. Для получения клеточных линий использовали фрагменты листа (5×5 мм). Изолированные листовые экспланты культивировали на питательной среде MS, с добавлением бензиламинопурина (БАП) и α -нафтилуксусной кислоты в концентрации 4 и 3 мкМ, соответственно. В качестве химического мутагена использовали колхицин в концентрации 10, 50, 80 и 100 мг/л. Колхициновую обработку проводили при трех экспозициях (3, 5 и 10 суток), после чего, каллусные ткани переносили на свежую среду без колхицина для дальнейшего культивирования. Контролем служило культивирование на среде без колхицина. Результатом влияния высокой концентрации колхицина и длительностью экспозиции экспланта на средах с мутагеном является процесс каллусогенеза, которому подверглись уцелевшие меристематические клетки. В культуре тканей для перехода специализированной ткани в делящееся состояние всегда необходимы гормональные факторы. Вероятно, в нашем случае такими индуктором являлся колхицин в концентрациях 50 и 80 мг/л при экспозиции 10 суток. На средах II-10 и III-10 уровень каллусогенеза варьировал от 60 до 100%. При концентрации колхицина 50 и 80 мг/л и экспозиции 10 суток наблюдается низкий уровень прямой регенерации и высокий процент каллусообразования. Следовательно, стоит ожидать изменения генома у растений-регенерантов, полученных на средах II-10 и III-10.

Ключевые слова: мутагенез, культура, колхицин, регенерационная способность, сенполия.

INDUCED MUTAGENESIS IN CULTURE OF ISOLATED TISSUES OF SAINTPAULIA

M.K. Gorina, K.A. Smashnykh, O.K. Tavartkiladze, O.S. Goryaninova

Altai State University, Barnaul, Russia

E-mail: ksenya7.08@mail.ru

The paper studied the effects of colchicine on isolated tissue regenerative capacity of violet saintpaulia (Blue Dragon). We determined the optimal dose of the mutagen exposure time and to preserve cell viability and maximize the number of plants regenerated with modified genotype. We used leaf fragments (5 × 5 mm) for cell lines. Isolated leaf explants were cultured on MS medium supplemented with benzylaminopurine (BAP) and α -naphthaleneacetic acid at a concentration of 3 and 4 μ M respectively. As used chemical mutagen colchicine at concentrations of 10, 50, 80 and 100 mg / l. Colchicine treatment were carried out at three exposures (3, 5 and 10 days), after which the callus tissue was transferred to fresh medium without colchicine for further cultivation. Served as controls on the cultivation medium without colchicine result of the impact of high concentrations of colchicine and duration of exposure to the media explant with a mutagen is the process of callus formation, which underwent surviving meristematic cells. In tissue culture to move into specialized tissue divisible state is always necessary hormonal factors. Probably, in our case, was an inducer such colchicine at concentrations of 50 and 80 mg / l at 10 days exposure. On media II-10 and III-10 callus level ranged from 60 to 100%. When the concentration of colchicine 50 and 80 mg / L and 10 days of exposure there is a low level of direct regeneration and a high percentage of callus formation. Therefore, we can expect changes in the genome of regenerated plants obtained on a medium II-10 and III-10.

Key words: mutagenesis, the culture, colchicine, regenerative capacity, Saintpaulia,

Следует цитировать / Citation:

Горина М.К., Смашных К.А., Таварткиладзе О.К., Горянинова О.С. (2016). Индуцированный мутагенез в культуре изолированных тканей сенполии. *Acta Biologica Sibirica*, 2 (4), 29–34.

Gorina, M.K., Smashnykh, K.A., Tavartkiladze, O.K., Goryaninova, O.S. (2016). Induced mutagenesis in culture of isolated tissues of Saintpaulia. *Acta Biologica Sibirica*, 2 (4), 29–34.

Поступило в редакцию / Submitted: 14.10.2016

Принято к публикации / Accepted: 12.11.2016

crossref <http://dx.doi.org/10.14258/abs.v2i4.1629>

© Горина, Смашных, Таварткиладзе, Горянинова, 2016

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 License

ВВЕДЕНИЕ

Техника культуры клеток и тканей дает возможность быстро размножать ценные растения, получать в больших количествах вегетативное потомство трудноразмножаемых в обычных условиях. Исследования показали, что в процессе культивирования растительного материала *in vitro*, можно получать не только идентичные копии исходных растений, но и увеличивать генетическое разнообразие в популяции каллусных тканей и регенеративных растений (Новикова, 2013; Хлебова, Ерещенко, 2015). Это явление получило название соматоклональной изменчивости (Larkin, Scowcroft, 1981). Естественная соматоклональная изменчивость, возникающая в процессе культивирования клеток и протопластов, может быть усилена с помощью мутагенеза (Кильчевский, Хотылева, 2008).

Индукцированный мутагенез, в настоящее время, широко распространен среди методов селекции растений. Основные его преимущества по сравнению с традиционными методами селекции заключаются в более быстром улучшении исходного материала для дальнейших селекционных целей как по одному, так и по ряду хозяйственно-ценных признаков (Зоз, 1968; Стрельчук, 1981; Никитина и др., 2015; Королев, 2016). Благодаря проведенным исследованиям накоплен фактический материал о действии различных химических и физических мутагенов на изолированные ткани и органы у ряда видов растений (Мельничук и др., 2003; Азовцева, 2005; Корниенко, Буторина, 2012; Фадеев, Фадеева, Воробьева, 2014; Хазиева и др., 2014; Шабалин, Дудин, 2016). Мутагенную обработку применяют для расширения генетической изменчивости при получении соматоклонов, а также в качестве предварительного этапа в клеточной селекции на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам или создании клеточных линий-продуцентов (Братухина, Мохно, 2007; Егорова, 2011; Ерещенко и др., 2014; Артюх, 2015). При разработке методических основ мутагенеза в культуре тканей для каждого нового вида растения необходимо, прежде всего, подобрать тип и оптимальные дозы мутагена. Большое значение имеет выбор объекта мутагенной обработки (в качестве которого можно использовать изолированные органы, каллусы, суспензии, протопласты) и фазы его развития, а также условий обработки и адекватных критериев оценки действия мутагена (Егорова, 2007).

Очень редкое выявление доминантных мутаций и сравнительно частое появление различных хромосомных aberrаций при использовании физических мутагенов (высокие и низкие температуры, рентгеновское излучение, α -, β -, γ -лучи, ультрафиолетовое излучение) создают существенные затруднения для более плодотворного использования индуцированного мутагенеза в селекции. Это в значительной мере может быть устранено путем использования химических мутагенов, которые резко уменьшают количество хромосомных aberrаций и увеличивают долю доминантных мутаций (Ауэрбах, 1978; Рапопорт, 1978). Важно отметить, что изменения, возникшие вследствие полиплоидизации, имеют генетическую основу и, следовательно, формо- и видообразовательное значение. Среди разнообразных химических мутагенов в культуре тканей и клеток достаточно часто используется колхицин, в основном для полиплоидизации растений. Так, обработку колхицином применяли для получения полиплоидных форм лука (Марьяхина, Полумордвинова, Шевченко, 1994), нектарина (Шоферистов, 2008), котовника (Зильберварг, 2002), отдаленных гибридов тритикале и ячменя (Гирко, 1999). Однако имеются сведения о получении в культуре тканей под действием этого антимиотического агента анеуплоидов (Dolezel, Vinarova, 1989). В каллусных культурах гречихи татарской, подвергшихся действию колхицина, выявлена высокая частота хромосомных aberrаций и генетическая нестабильность на геномном уровне (Мухитов, Румянцева, 2001; Назаренко, 2016). Такие данные свидетельствуют о возможности использования колхицина *in vitro* не только для получения полиплоидов, но и хромосомных и генных мутаций. Таким образом, целью данной работы явилось изучение влияния индуцированного мутагенеза на регенерационную способность изолированных тканей сенполии фиалковой (сорт Blue Dragon).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил сорт сенполии фиалковой Blue Dragon. Сорт характеризуется крупными полумахровыми и махровыми светло-голубыми цветками, крупными темно-зелеными с красной изнанкой листьями (рис. 1).



Рис. 1. Внешний вид сенполии фиалковой (сорт Blue Dragon)

Для получения клеточных линий использовали фрагменты листа (5×5 мм). Изолированные листовые экспланты культивировали на питательной среде MS, с добавлением бензиламинопурина (БАП) и α -нафтилуксусной кислоты в концентрации 4 и 3 мкМ, соответственно. В качестве химического мутагена использовали колхицин в концентрации 10, 50, 80 и 100 мг/л. Колхициновую обработку проводили при трех экспозициях (3, 5 и 10 суток), после чего, каллусные ткани переносили на свежую среду без колхицина для дальнейшего культивирования. Контролем служило культивирование на среде без колхицина (табл. 1).

Таблица 1. Варианты питательных сред

Варианты питательных сред	Концентрация колхицина, мг/л	Время экспозиции, сут.	Варианты питательных сред	Концентрация колхицина, мг/л	Время экспозиции, сут.
I-5	10	5	II-10	50	10
II-5	50	5	III-10	80	10
III-5	80	5	IV-3	100	3
I-10	10	10	Контроль	0	28

Сосуды с эксплантами помещали в термостат при температуре $28\pm 0,1^\circ\text{C}$, после появления адвентивных почек и микропобегов переносили в световую комнату, средняя температура в которой – $23\pm 1^\circ\text{C}$, с 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения 2,5 клк. После 4 недель культивирования оценивали интенсивность регенерации, количество регенерантов и некроз экспланта.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Одной из основных проблем при определении оптимальных условий воздействия мутагенов является не только сохранение жизнеспособности тканей, но способность к регенерации. Для получения растений соматоклонов необходимо, с одной стороны, обеспечить максимальный мутагенный эффект при сублетальных дозах мутагена, с другой стороны – получить жизнеспособные растения.

На рис. 2 представлены результаты влияния концентрации и времени воздействия колхицина на регенерационную способность листовых эксплантов сенполии. Как видно на рисунке, при переносе эксплантов, после обработке колхицином, на среду для регенерации, регенерационная способность сохранялась на всех испытанных режимах, за исключением сред III-10 и IV-3.

Однако регенерационная способность колхицинированных эксплантов в течение 5 суток оказалась выше по сравнению с другим временем экспозиции. Варьирование происходило от 20 (среда III-5) до 37% (среда I-5), составляя в среднем 28%. Стоит отметить, что количество регенерантов полученное на средах с добавлением колхицина 10 мг/л незначительно уступает показателям, полученным в контроле (43%).

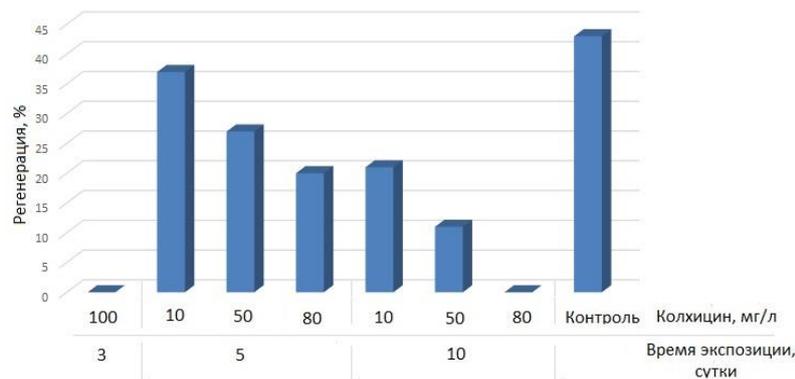


Рис. 2. Влияние концентрации и времени воздействия колхицина на способность к прямой регенерации листовых эксплантов сенполии

Уровень жизнеспособности тканей (проявления некроза) на эксплантах при экспозиции 5 суток, в среднем, составлял 38%. Максимальное количество жизнеспособных клеток наблюдали на среде I-5, что соответствует контрольным значениям. С увеличением содержания колхицина в среде жизнеспособность эксплантов снижалась (рис. 3).

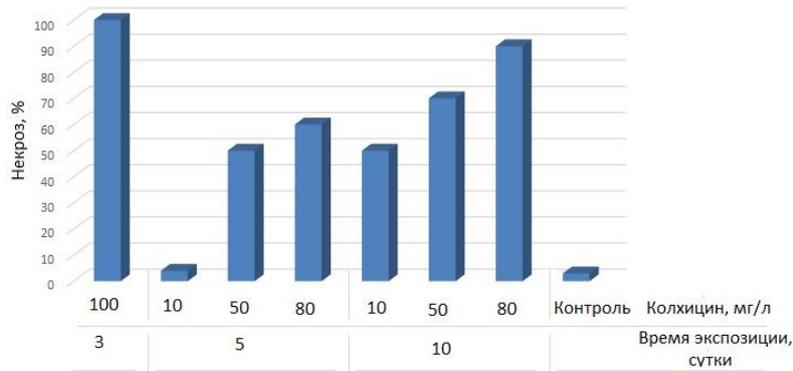


Рис. 3. Влияние концентрации и времени воздействия колхицина на жизнеспособность листовых эксплантов сеньполиии

С увеличением времени экспозиции до 10 суток количество регенерации растений снизилось, составляя в среднем 10,6%. Максимальное количество регенерантов – 21% наблюдали при минимальном содержании мутагена. При концентрации колхицина 80 мг/л прямой регенерации не наблюдалось (рис. 2). Однако, в этом случае, уровень каллусогенеза был максимален. В каллусных культурах, сформированных на средах с добавлением химического мутагена в количестве 50 и 80 мг/л, происходило формирование зеленых меристематических очагов, из которых в дальнейшем ожидается получение растений-регенерантов. Гибель клеток связана с токсическим действием колхицина. Так уровень некроза тканей, подвергшихся колхицинированию в течение 10 суток, варьировал от 50 до 90%, составляя в среднем 70%. Стоит отметить, что при максимальной концентрации мутагена (100 мг/л) и минимальном времени экспозиции (3 суток), жизнеспособность клеток листовых эксплантов сеньполиии составляет 1-2 % на отдельных повторениях питательных сред. Это является причиной низкого уровня прямой регенерации и образованию каллусов на отдельных эксплантах.

Результатом влияния высокой концентрации колхицина и длительностью экспозиции экспланта на средах с мутагеном является процесс каллусогенеза, которому подверглись уцелевшие меристематические клетки. В культуре тканей для перехода специализированной ткани в делящееся состояние всегда необходимы гормональные факторы. Вероятно, в нашем случае такими индуктором является колхицин в концентрациях 50 и 80 мг/л при экспозиции 10 суток. На средах П-10 и Ш-10 уровень каллусогенеза варьировал от 60 до 100%. В культуре *in vitro* полиплоидные клетки входят в митотический цикл также легко, а по мнению некоторых исследователей даже легче, чем диплоидные клетки (Бутенко, 1970).

Кроме того, на дедифференциацию и каллусообразование влияет как генотип, так и среда на которой находились экспланты (Ерещенко, Хлебова, Розова, 2015). Так на сахарной свекле было установлено, что каллус полученный из эксплантов листа представляет собой гетерогенную клеточную популяцию. При доминировании диплоидных клеток у штамма выявляются тетраплоидные и анеуплоидные с околодиплоидным числом хромосом (Чугункова, Дубровная, 1998). Уже среди первых митозов после индукции дедифференциации наблюдается миксоплоидия с широким размахом и наличием различных аномалий митоза (Кунах, 1999). Колхицин усиливает этот эффект, и измененные клетки каллуса способствуют изменчивости получаемых из них растений-регенерантов.

ВЫВОДЫ

При концентрации колхицина 50 и 80 мг/л и экспозиции 10 суток наблюдается низкий уровень прямой регенерации и высокий процент каллусообразования. Следовательно, стоит ожидать изменения генома у растений-регенерантов, полученных на средах П-10 и Ш-10.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Азовцева А.П. Способы учета мутаций и количественный анализ изменений, возникающих после действия химических мутагенов на изменчивость признаков овса // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2005. – № 1. – С. 15–20.
- Артюх С.Н. Метод индуцированного мутагенеза в селекции сортов яблони для интенсивных технологий садов // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2015. – № 55. – С. 7–9.
- Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. – М.: Мир, 1978. – 458 с.
- Братухина Е.В., Мохно В.С. Возможности получения новых форм тюльпанов путем экспериментального мутагенеза // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2007. – Т. 40. – С. 48–61.
- Гирко В.С. Нетрадиционные методы создания селекционного материала пшеницы: Дис... д. с.-х. наук. – Киев, 1999. – 305 с.
- Егорова Н.А. Влияние колхицина на каллусогенез и регенерацию растений эфиромасличной герани *in vitro* // Труды Никитского ботанического сада. – 2007. – Т. 128. – С. 66–72.
- Егорова Н.А. Разработка методических основ клеточной селекции *in vitro* на устойчивость к NaCl // Экосистемы. – 2011. – № 5(24). – С. 173–179.
- Ерещенко О.В., Никитина Е.Д., Хлебова А.П. Оценка эффективности различных схем клеточной селекции яровой пшеницы на устойчивость к осмотическим стрессам // в сборнике: технологии и оборудование

химической, биотехнологической и пищевой промышленности. Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием. – 2014. – С. 220–224.

Ерещенко О.В., Хлебова Л.П., Розова М.А. Оценка регенерационного потенциала яровой твердой пшеницы для создания засухоустойчивого селекционного материала // в сборнике: Биотехнология и общество в XXI веке. Сборник статей Международной научно-практической конференции. – 2015. – С. 341–345.

Зильберварг І.Р. Біотехнологічні основи одержання поліплоїдних рослин м'яти котячої із застосуванням антимікротрубочкових сполук для цілей селекції: Автореф. дис...к. б. н. – Ялта, 2002. – 21 с.

Зоз Н.Н. Методика исследования химических мутагенов в селекции сельскохозяйственных культур // Мутационная селекция. – М.: Наука, 1968. – С. 217–230.

Кильчевский А. В., Хотылева А. В. Генетические основы селекции растений: в 4 т. – Минск: Беларус. наука, 2008. – Т.1: Общая генетика растений. – 551 с.

Корниенко А.В., Буторина А.К. Индуцированный мутагенез у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.): полученные результаты и перспективы использования для разработки Tilling-проекта // Успехи современной биологии. – 2012. – Т. 132. – № 6. – С. 582–593.

Королев К.П. Индуцированный мутагенез как способ расширения генетического разнообразия и создание нового исходного материала для различных направлений селекционной работы // Проблемы развития АПК региона. – 2016. – Т.1. – № 1–1(25). – С. 130–134.

Кунах В.А. Изменчивость растительного генома в процессе дидеференцировки и каллусообразования *in vitro* // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – № 6. – С. 919–929.

Марьяхина И.Я., Полумордвинова И.В., Шевченко Н.П. Возможность использования метода полиплоидизации *in vitro* в селекции лука // С/х биология. – 1994. – № 5. – С. 32–37.

Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин: Підручник – К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.

Назаренко Н.Н. Спектр и частота хромосомных aberrаций под действием некоторых химических мутагенов // в сборнике: Биоразнообразие: глобальные и региональные процессы. Материалы Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием. Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН. 2016. – С. 33–34.

Никитина Е.Д., Хлебова Л.П., Пронина Р.Д. Соматоклональная изменчивость *in vitro* как источник создания исходного материала для селекции мягкой пшеницы // Acta Biologica Sibirica. 2015. – Т. 1. – № 3–4. – С. 171–186.

Новикова Т.И. Использование биотехнологических подходов для сохранения биоразнообразия растений // Растительный мир Азиатской России. – 2013. – № 2(12). С. 119–128.

Рапопорт И.А. Генетические ресурсы доминантности в химическом мутагенезе и их селекционное значение // Химический мутагенез и гибридизация. – М.: Наука, 1978. – С. 3–33.

Стрельчук С.И. Основы экспериментального мутагенеза. – Киев: Вища школа, 1981. – 216 с.

Фадеев А.А., Фадеева М.Ф., Воробьева Л.В. Действие физического мутагена на количественные признаки сои // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2014. – № 1 (157–158). – С. 20–24.

Хазиева Ф.М., Басалаева И.В., Тоцкая С.А., Грязнов М.Ю., Сидельников Н.И., Бурова А.Е. Влияние химических мутагенов на *Calendula officinalis* L. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – Т. 12. – № 4. – С. 66.

Хлебова Л.П., Ерещенко О.В. Оценка соматоклональной изменчивости яровой мягкой пшеницы // в сборнике: Ломоносовские чтения на Алтае: фундаментальные проблемы науки и образования. Сборник научных статей международной конференции. – 2015. – С.1671–1675.

Чугункова Т.В., Дубровная О.В. Цитологический анализ каллусных культур и растений-регенерантов, полученных из эксплантов сахарной свеклы различной пloidности // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32. – №4. – С. 9–15.

Шабалин Н.С., Дудин Г.П. Влияние химических и физических мутагенов на изменчивость ярового ячменя сорта Изумруд во втором поколении // в сборнике: Инновационные идеи молодых исследователей для агропромышленного комплекса России. Сборник материалов Международной научно-практической конференции молодых ученых. – 2016. – С. 31–33.

Шоферистов Е. П. Получение полиплоидных растений нектарина (*Prunus persica* (L.) Batsch subsp. *nectarina* (Ait.) Shof.) в Никитском ботаническом саду // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. – 2008. – № 2 (8). – С. 38–41.

Dolezel J., Binarova P. The effect of colchicine on ploidy level, morphology and embryogenic capacity of alfalfa suspension cultures // Plant Sci. – 1989. – Vol. 64. – № 2. – P. 213–219.

Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement // Theoretical and Applied Genetics. – 1981. – V. 60. – P. 197–214.

REFERENCES

Artyuh, S.N. (2015). Method inducirovannogo mutageneza v selekcii sortov yabloni dlya intensivnyh tehnologii sadov.

Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 55, 7–9. (in Russian).

Auerbah, Sh. (1978). Problemy mutageneza. 458. (in Russian).

- Azovceva, A.P. (2005). Sposoby ucheta mutacii i kolichestvennyi analiz izmenenii, vznikayushih posle deistviya himicheskikh mutagenov na izmenchivost' priznakov ovsa. *Sibirskii vestnik sel'skobozyaistvennoi nauki*, 1, 15–20. (in Russian).
- Bratuhina, E.V., Mohno, V.S. (2007). Vozmozhnosti polucheniya novykh form tyul'panov putem eksperimental'nogo mutageneza. *Subtropicheskoe i dekorativnoe sadovodstvo*, 40, 48–61. (in Russian).
- Chugunkova, T.V., Dubrovnaya, O.V. (1998). Citologicheskii analiz kallusnykh kul'tur i rastenii-regenerantov, poluchennykh iz eksplantov saharnoi svekly razlichnoi ploidy. *Citologiya i genetika*, 32, 4, 9–15. (in Russian).
- Dolezel, J., Binarova, P. (1989). The effect of colchicine on ploidy level, morphology and embryogenic capacity of alfalfa suspension cultures. *Plant Sci*, 64, 2, 213–219.
- Egorova, N.A. (2007). Vliyanie kolhicina na kallusogenez i regeneraciyu rastenii efiromaslichnoi gerani *in vitro*. *Trudy Nikitskogo botanicheskogo sada*, 128, 66–72. (in Russian).
- Egorova, N.A. (2011). Razrabotka metodicheskikh osnov kletochnoi selekcii *in vitro* na ustoichivost' k NaCl. *Ekosistemy*, 5(24), 173–179. (in Russian).
- Ereshenko, O.V., Hlebova, L.P., Rozova, M.A. (2015). Ocenka regeneracionnogo potenciala yarovoi tverdoi pshenicy dlya sozdaniya zasuhoustoichivogo selekcionnogo materiala. *Biotehnologiya i obshestvo v XXI veke*, 341–345. (in Russian).
- Ereshenko, O.V., Nikitina, E.D., Hlebova, L.P. (2014). Ocenka effektivnosti razlichnykh shem kletochnoi selekcii yarovoi pshenicy na ustoichivost' k osmoticheskim stressam. *Tehnologii i oborudovanie himicheskoi, biotehnologicheskoi i pishevoi promyshlennosti*, 220–224. (in Russian).
- Fadeev, A.A., Fadeeva, M.F., Vorob'eva, L.V. (2014). Deistvie fizicheskogo mutagena na kolichestvennye priznaki soi. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiiskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur*, 1 (157–158). 20–24. (in Russian).
- Girko, V.S. (1999). Netradicionnye metody sozdaniya selekcionnogo materiala pshenicy: Dis... d. s.-h. nauk. Kiev, 305. (in Russian).
- Hazieva, F.M., Basalaeva, I.V., Tockaya, S.A., Gryaznov, M.Yu., Sidel'nikov, N.I., Burova, A.E. (2014). Vliyanie himicheskikh mutagenov na *Calendula officinalis* L. *Voprosy biologicheskoi, medicinskoi i farmaceuticheskoi himii*, 12, 4, 66. (in Russian).
- Hlebova, L.P., Ereshenko, O.V. (2015). Ocenka somaklonal'noi izmenchivosti yarovoi myagkoi pshenicy. *Lomonosovskie chteniya na Altae: fundamental'nye problemy nauki i obrazovaniya*, 1671–1675. (in Russian).
- Kil'chevskii, A.V., Hotyleva, L.V. (2008). Geneticheskie osnovy selekcii rastenii: Obshaya genetika rastenii. 551. (in Russian).
- Kornienko, A.V., Butorina, A.K. (2012). Inducirovannyi mutagenez u saharnoi svekly (*Beta vulgaris* L.): poluchennyye rezultaty i perspektivy ispol'zovaniya dlya razrabotki Tilling-proekta. *Uspehi sovremennoi biologii*, 132, 6. 582–593. (in Russian).
- Korolev, K.P. (2016). Inducirovannyi mutagenez kak sposob rasshireniya geneticheskogo raznoobraziya i sozdanie novogo ishodnogo materiala dlya razlichnykh napravlenii selekcionnoi raboty. *Problemy razvitiya APK regiona*, 1, 1–1 (25), 130–134. (in Russian).
- Kunah, V.A. (1999). Izmenchivost' rastitel'nogo genoma v processe didefferencirovki i kallusoobrazovaniya *in vitro*. *Fiziologiya rastenii*, 46, 6, 919–929. (in Russian).
- Larkin, P.J., Scowcroft, W.R. (1981). Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 60, 197–214.
- Mar'yahina, I.Ya., Polumordvinova, I.V., Shevchenko, N.P. (1994). Vozmozhnost' ispol'zovaniya metoda poliploidizacii *in vitro* v selekcii luka. *S/b biologiya*, 5, 32–37. (in Russian).
- Mel'nichuk, M.D., Novak, T.V., Kunah, V.A. (2003). *Biotehnologiya roslin*, 520. (in Russian).
- Nazarenko, N.N. (2016). Spektr i chastota hromosomnykh aberracii pod deistviem nekotorykh himicheskikh mutagenov. *Bioraznoobraziye: global'nye i regional'nye processy. Materialy Vserossiiskoi konferencii molodykh uchennykh s mezhdunarodnym uchastiem. Institut obshei i eksperimental'noi biologii SO RAN*, 33–34. (in Russian).
- Nikitina, E.D., Hlebova, L.P., Pronina, R.D. (2015). Somaklonal'naya izmenchivost' *in vitro* kak istochnik sozdaniya ishodnogo materiala dlya selekcii myagkoi pshenicy. *Acta Biologica Sibirica*, 1, 3–4, 171–186. (in Russian).
- Novikova, T.I. (2013). Ispol'zovanie biotehnologicheskikh podhodov dlya sohraneniya bioraznoobraziya rastenii. *Rastitel'nyi mir Aziatskoi Rossii*, 2(12), 119–128. (in Russian).
- Rapoport, I.A. (1978). Geneticheskie resursy dominantnosti v himicheskome mutageneze i ih selekcionnoe znachenie. *Himicheskii mutagenez i gibrizatsiya*, 3–33. (in Russian).
- Shabalin, N.S., Dudin, G.P. (2016). Vliyanie himicheskikh i fizicheskikh mutagenov na izmenchivost' yarovogo yachmenya sorta Izumrud vo vtomom pokolenii. *Innovacionnye idei molodykh issledovatelei dlya agropromyshlennogo kompleksa Rossii*, 31–33. (in Russian).
- Shoferistov E. P. (2008). Poluchenie poliploidnykh rastenii nektarina (*Prunus persica* (L.) Batsch subsp. nectarina (Ait.) Shof.) v Nikitskom botanicheskom sadu. *Sortovivchennyya ta oborona prav na sorti roslin*, 2 (8), 38–41. (in Russian).
- Strel'chuk, S.I. 1981. Osnovy eksperimental'nogo mutageneza. Kiev: Visha shkola, 216. (in Russian).
- Zil'bervarg I. R. (2002). Biotehnologichni osnovy oderzhannyya poliploidnykh roslin myati kotyachoi iz zastosuvannyyam antimikrotrubochkovykh spoluk dlya cilei selekcii. Thesis of Doctoral Dissertation. Yalta (in Ukrainian).
- Zoz N.N. (1968). Metodika issledovaniya himicheskikh mutagenov v selekcii sel'skohozyaistvennykh kul'tur. *Mutacionnaya selekciya*, 217–230. (in Russian).