

**REAȚIA EMBRIONILOR MATURI DE *TRITICUM AESTIVUM* LA
FILTRATELE DE CULTURĂ *FUSARIUM* SP.****Elena SAȘCO***Institutul de Genetică și Fiziologie a Plantelor al AȘM*

Six wheat genotypes (*Triticum aestivum*) were tested *in vitro* for callusation response on Murashige-Skoog medium with addition of filtrates of *Fusarium* sp. culture in different concentrations. As a result, sensitivity/resistance of these genotypes against the filtrates of *Fusarium* sp. culture was determined. Among the factor interrelationships filtrate concentration and plant genotype were found to be the more significant factors.

Mecanismele variabilității genetice în cultura de celule și țesuturi vegetale *in vitro*, condiționate de genotipul plantei, produc o evoluție accelerată de reorganizare a cariotipului cu obținerea variațiilor somaclonale, determinate de adaptabilitatea biologică a organismului vegetal. Potențialul variabilității somaclonale există și poate fi realizat în anumite condiții de cultură a genotipului *in vitro*: natura, mărimea și vârsta sursei de explant, conținutul mediului nutritiv și condițiile de cultivare. Embriogeneza somatică indirectă, prin inducerea diversității, prezintă o mai amplă realizare a variabilității genetice constitutive în raport cu cea directă, făcând posibilă multiplicarea și păstrarea informației genetice inițiale [1].

Gramineele de cultură prezintă plante cu o dificilă pretabilitate pentru cultura *in vitro*. Este relatată regenerarea calusului provenit din embrioni imaturi și polen pentru toate gramineele de bază. Astfel, pentru 3 genuri de cereale: *Triticum*, *Triticale*, *Oryza*, frecvența formării calusului embrigen și a regeneranților a variat în limite destul de largi. Au fost elaborate tehnologii de cultivare îndelungată (de peste 2 ani) a țesutului cu capacități înalte embriogene și de regenerare din embrioni imaturi de grâu cu potențial diminuat al acestuia pentru obținerea soiurilor [1-4]. Totuși, producerea industrială a regeneranților pentru majoritatea cerealierele continuă a fi dificilă.

Inocularea embrionilor imaturi de grâu de primăvară la etapa cu statut citohistologic determinat al embrionului a demonstrat caracterul universal al etapei primare a tuturor căilor de morfogeneză *in vitro* – formarea în calus a centrelor morfogenetice, de regulă, din celule meristemate. Regenerarea plantelor fertile are loc pe calea hemorizogenezei și embriogenezei somatice, tehnologia optimă fiind embriogeneza somatică [5]. Embrionii somatici se formează la periferia calusului, pe a cărei suprafață este indusă producerea germin-like oxalatoxidazei (gl-OXO), stimulată la suplimentarea mediului cu auxine (2,4-D). Diferențierea embrionilor începe în sectoarele cu citoplasmă densă ale celulelor meristemate, în care activitatea este mai înaltă. Se presupune că localizarea producerii H₂O₂ cu participarea gl-OXO accelerează formarea componentelor membranare, menține turgescența celulei și masa celulară în condiții de competiție embriogenică. Cercetarea localizării proliferării inițiale a evidențiat caracterul proteic citoplasmatic al acestora, cu omologie în diferite grupe taxonice [6]. Studiul proceselor morfogenetice la utilizarea markerilor moleculari în celule meristemate ale embrionilor imaturi de grâu indică influența genelor Rht (talie joasă) asupra conținutului antigenului proliferativ de inițiere în celulele calusale [7].

Este deosebit de actuală utilizarea metodelor biotehnologice în selecția și ameliorarea culturilor cerealiere pentru rezistență la fitopatogenii fungici. Biotehnologiile de cultură *in vitro* cu utilizarea factorului selectiv – filtratului de cultură (FC) al agentului patogen sau micotoxinelor produse în patogeneza – oferă largi oportunități în crearea soiurilor și accelerarea procesului de ameliorare a culturilor cerealiere pentru rezistență la patogeni. Așa, filtratele de cultură *Fusarium* și acidul fuzaric au prezentat acțiune reprimantă asupra proceselor de calusare și regenerare în cultura embrionilor imaturi de triticale. Selectarea de o singură dată a embrionilor imaturi pe mediul Murashige-Skoog (MS), suplimentat cu acid fuzaric în concentrația 0,015%, este propusă ca metodă sigură de obținere a unui randament relativ înalt de regeneranți de triticale cu rezistență la fuzarioză și care posedă, totodată, valoroși indici de producție [8,9].

Întrucât rolul tuturor toxinelor în declanșarea și dezvoltarea patogenezei este incert, în numeroase cercetări se optează pentru FC ale micromicetelor în calitate de factor selectiv [10]. Unii autori pledează, totuși,

pentru toxine, invocând posibila eroare cauzată de metaboliții secundari ai FC, care, nefiind implicați în patogenitate, manifestă activități favorabile creșterii și dezvoltării plantei [13]. Extinderea pagubelor produse de ciupercile *Fusarium* sp. în culturile agricole prin reduceri de producție și contaminări cu toxine aduce în actualitate problema rezistenței la atacul acestor ciuperci. Identificarea surselor de rezistență/toleranță în condiții de câmp este pusă în dificultate de marea diversitate a speciilor *Fusarium*, cu complexitate genetică deosebită, de rolul determinant al condițiilor de mediu în producerea și manifestarea patogenezei, ceea ce determină utilizarea FC și a toxinelor agenților putregaiului de rădăcină ca factori selectivi în metodologiile complexe de testare *in vitro* și ameliorare a rezistenței gramineelor: grâu [14-18], grâu și porumb [13], triticales [8], orz [11]. La moment, sunt elaborate etapele tehnologice ale selecției celulare pentru rezistența culturilor cerealiere la putrezirea rădăcinii, care includ monitorizarea și identificarea micromicetelor fitopatogene, variabilitatea intraspecifică a vitroculturilor, condițiile de cultivare submersă pe medii lichide, obținerea FC cu patogenitate înaltă și a toxinelor, testarea fitotoxicității filtratelor și toxinelor, selectarea concentrațiilor agenților selectivi în producerea selecției celulare, cultivarea calusului primar pe mediile selective, selectarea celor viabile și regenerarea plantelor [8,10,11,14,17,19].

Pentru inițierea culturii *in vitro*, frecvent sunt utilizați embrionii imaturi care, comparativ cu embrionii maturi, prezintă o variabilitate înaltă a caracterelor genotipice și fenotipice [20,21]. Embrionii imaturi inițiază calusuri embriogene din centre meristemice, localizate la diferite niveluri ale scutelumului la etapă timpurie (10-16 zile de la polenizare) de dezvoltare morfologică, când acumularea amidonului în țesutul scutelumului de-abia începe [22]. Abilitatea embryo- și morfogenetică a orzului în cultura embrionilor imaturi *in vitro* depinde de genotip și factorii de mediu [23]. S-a constatat că, spre deosebire de embrionii imaturi, embrionii maturi inițiază calus embriogen neted din regiunea vârfului de tulpină, iar calus neembriogen – din regiunea vârfului de rădăcină [20]. Conform altor autori, și în cazul embrionilor maturi calusul se dezvoltă din scutelum [22]. Inducerea calusului este influențată de metaboliții endospermului, care, în multe cazuri, sporesc eficiența culturii, favorizând abilități morfogenetice superioare [24]. Deși culturile de embrioni imaturi prezintă avantaje incontestabile sub aspectul capacității de obținere a unui spectru larg de variante somaclonale, unii autori pledează pentru embrionii maturi, a căror cultură este mai puțin costisitoare [25].

Capacitatea de calusare și regenerare din embrionii maturi poate fi semnificativ mărită prin folosirea diferitelor medii de cultură, suplimentate cu auxine, citochinine în concentrații diverse [20,26], mai eficient în scopul vizat fiind acidul diclorfenoxicetic (2,4-D) – 4 mg/l [22]. Concentrațiile mici de acid aminobenzoic (AAB) – 0,5 și 1,0 mg/l, deși rețin creșterea directă a embrionilor maturi *in vitro*, amplifică inducerea calusului, regenerarea plantelor și variabilitatea genetică a acestora [26]. La nivel de regeneranți s-a constatat că superexpresia chitinazei la tratarea acestora cu spori de *F.oxysporum* și *Alternaria macrospora* conduce la creșterea rezistenței pentru ambii patogeni [18]. Unii autori propun în calitate de test apariția celulelor verzi pentru pronosticul potențialului de regenerare [16].

În legătură cu cele menționate, scopul prezentelor cercetări constă în evaluarea sensibilității/rezistenței populațiilor de grâu comun pentru FC *Fusarium* sp. în diferite concentrații în cultura *in vitro* a embrionilor maturi.

Material și metode

În cercetare au fost utilizate genotipurile de grâu comun de toamnă – soiul Basarabeanca, liniile Mirgorodski x Odeschi 117 (L M/O), L 7 și L 9, formele f 3 și f 5.

În calitate de factori selectivi au fost utilizate FC (de 21 zile) ale 3 tulpini de *F.oxysporum* var. *orthoceras* (nr.49, 71, 81) și câte o tulpină *F.avenaceum* var. *herbarum* și *F.sporotrichiella*. FC, în concentrații de 10, 20, 30, 40 și 50% au fost suplimentate la mediul de cultură Murashige-Skoog (MS).

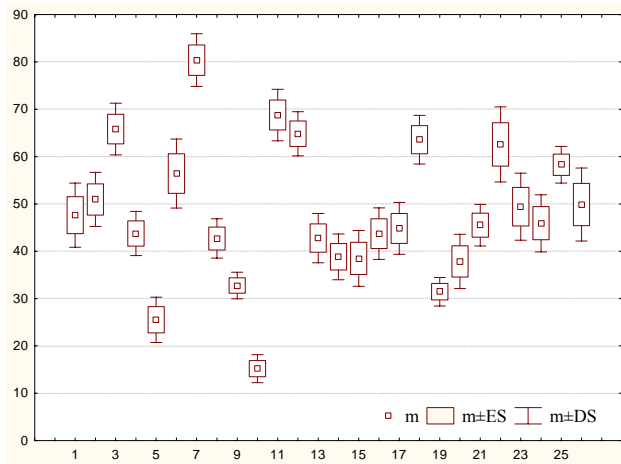
Condițiile de preparare a implantului steril inițial a prezentat: aseptizarea semințelor 30-40 sec. în 94% etanol, timp de 30-40 min. – în clorură de calciu, Ca(ClO)₂ 5%, urmată de 3 spălări succesive în apă distilată sterilă. Semințele aseptizate au fost apoi plasate în vase Petri între două hârtii de filtru îmbibate cu apă distilată sterilă și incubate pentru pregerminație timp de 24 ore la 22-24°C. Embrionii excizați au fost inoculați cu partea scutelară în sus pe mediul solid de cultură MS, suplimentat cu acid diclorfenoxicetic (2,4 D) (2 mg/l), acid naftilacetic (ANA) (1 mg/l), benzilaminopurină (BAP) (1 mg/l) în calitate de reglatori de creștere și cultivați la temperatura 22-24°C. Administrarea FC în concentrații de 10, 20, 30, 40 și 50% s-a efectuat prin

ajustarea acestuia la 50% de volum cu mediu Czapek și suplimentat în mediul MS dublu agarizat care conținea componenții nutritivi în concentrație dublă. Capacitatea de inițiere a calusului a fost înregistrată la 8 zile de la inocularea embrionilor maturi.

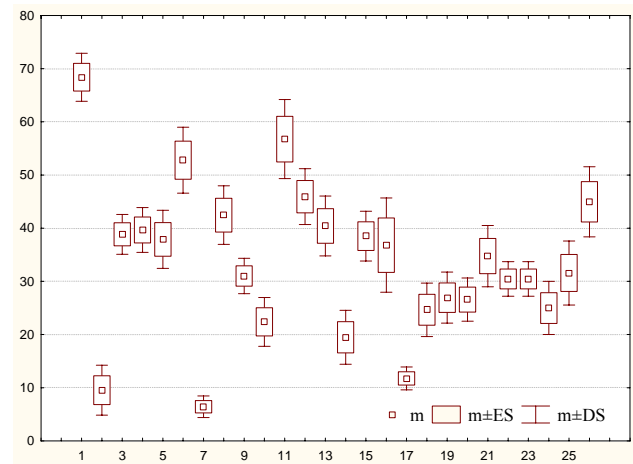
Datele obținute au fost supuse analizei bifactoriale a varianței și testelor t, F în pachetul de soft STATISTICA 7.

Rezultate și discuții

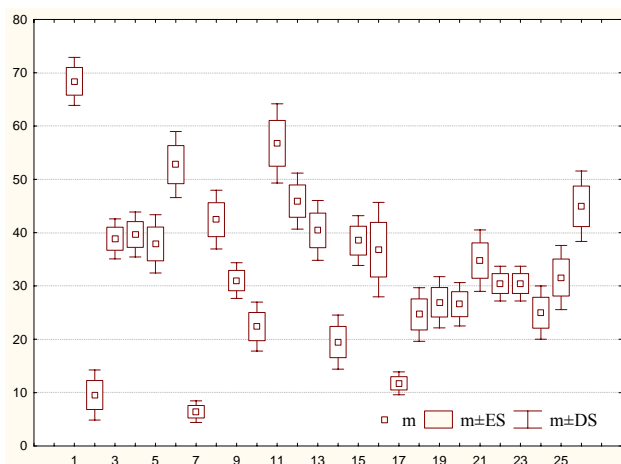
Embrionii maturi au produs calusuri în varianta martor cu frecvența: 43,0, 45,0, 49,9, 59,9, 66,4, 70,2% pentru populațiile L 7, L M/O, f 5, f 3, Basarabeanca, L 9, respectiv, acestea prezentându-se, astfel, cu preabilitate înaltă pentru vitrocultură. Genotipurile de grâu cercetate au manifestat diverse forme de reacție – sensibilitate, lipsă de reacție sau stimulare a caracterului în diapazonul 8,4-181,2% din martorul respectiv. Populațiile f 5, L 7 au prezentat sensibilitate, nonsensibilitate și stimulare a capacității de calusare în intervalul 30,5-161,1 și 24,9-181,2%, respectiv (Fig.1, A, B). Calusarea a prezentat valori, atât superioare, cât și la nivelul martorului, diferențiate pentru tulpinile testate, în funcție de concentrația FC. Astfel, embrionii maturi f 5 nu au manifestat sensibilitate pentru concentrațiile 10-40% FC ale tulpinilor *F.oxysporum* var. *orthoceras* (nr.49) și 10-50% *F.sporotrichiella*; L 7 – în cele de 10, 30-50% FC *F.oxysporum* var. *orthoceras* (nr.81). Procentul de embrioni maturi care a inițiat calus la L M/O a variat între 14,2% pentru FC *F.oxysporum* var. *orthoceras* (nr.71) de 20% și 152,0% – FC *F.oxysporum* var. *orthoceras* (nr.49) de 10%, prezentând, astfel, în raport cu martorul stimulare sau lipsă de sensibilitate doar la acțiunile unor concentrații de FC ale tulpinilor *F.oxysporum* var. *orthoceras*, în rest a manifestat cu preponderență sensibilitate medie (Fig.1, C). Populațiile L 9, Basarabeanca, f 3 au prezentat potențial de calusare: 17,2-87,0, 16,0-90,0, 8,4-101,8% din martorul respectiv, manifestând sensibilitate medie, înaltă și foarte înaltă (Fig.1, D, E, F).



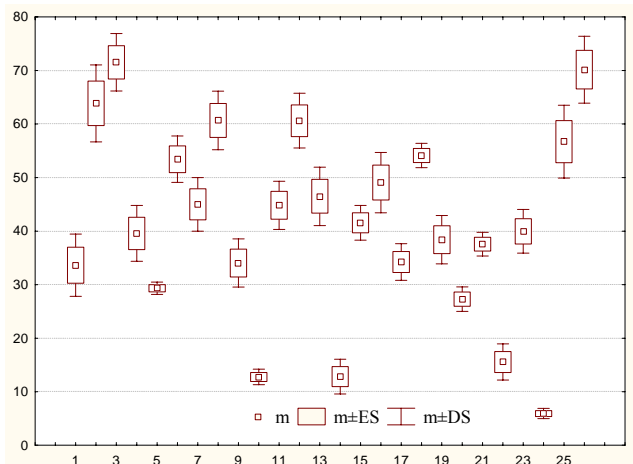
A



B



C



D

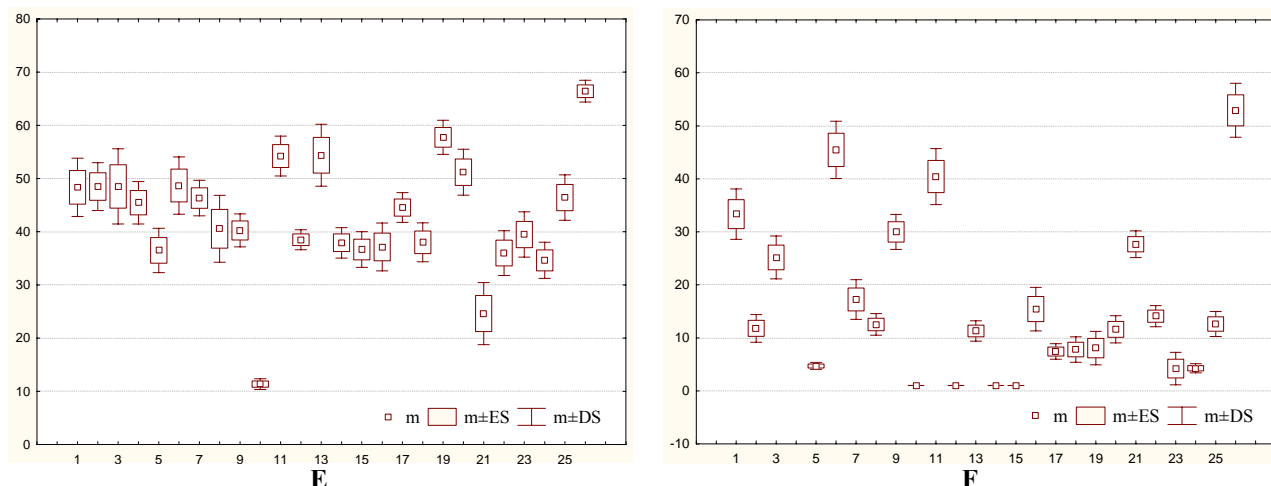


Fig.1. Potențialul de calusare a embrionilor maturi la acțiunea FC *Fusarium* sp. (%):

1, 2, 3, 4, 5 – *F.oxysporum* var. *orthoceras* (nr.49); 6, 7, 8, 9, 10 – *F.oxysporum* var. *orthoceras* (nr.71);
 11, 12, 13, 14, 15 – *F.oxysporum* var. *orthoceras* (nr.81); 16, 17, 18, 19, 20 – *F.avenaceum* var. *herbarum*;
 21, 22, 23, 24, 25 – *F.sporotrichiella*, în concentrații de: 10, 20, 30, 40, 50% FC, respectiv; 26 – Martor;
 pentru populațiile: f 5 (A), L 7 (B), L M/O (C), L 9 (D), Basarabeanca (E), f 3 (F).

În sistemul de relații trifactoriale calusarea generală este puternic influențată de factorul *concentrație FC* (41,97%). Pondere factorului *genotip de grâu*, superioară celui de *tulpină patogenă*, prezintă genotipul, de asemenea, cu rol decisiv pentru caracterul de calusare (Tab.1).

Tabelul 1

Analiza trifactorială a relațiilor *genotip x FC Fusarium* sp. x *concentrație FC* în cultura embrionilor maturi de grâu comun de toamnă

Sursa de variație	Grade de libertate	Suma medie a pătratelor	Contribuția sursei de variație (%)
Genotipul plantei	5*	2083,6*	21,11
Patogenul	4*	1334,5*	13,52
Concentrația FC	4*	4143,2*	41,97
Genotip x patogen	20*	318,2*	3,22
Genotip x concentrație FC	20*	666,4*	6,75
Patogen x concentrație	16*	856,2*	8,66
Genotip x patogen x concentrație	80*	445,3*	4,51

* - suport statistic al testului F

Datele obținute în cadrul analizei trifactoriale sumare au fost confirmate, în mare parte, în cadrul analizei bifactoriale *tulpină Fusarium x concentrație FC* pentru fiecare genotip de grâu. Astfel, factorul *concentrație FC* a variat în limitele 17,83-70,99% și a înregistrat valori semnificativ avansate ale acestuia pentru populațiile f 5, L M/O, L 9, L 7 (Tab.2).

Tabelul 2

Specificitatea genotipică a potențialului de calusare a embrionilor maturi

Genotip	Pondere factorială, %		
	Tulpină <i>Fusarium</i>	Concentrație FC	Tulpină / concentrație
Basarabeanca	39,86*	17,83*	39,99*
L M/O	21,71*	64,70*	12,65*
Linia L 7	14,98*	48,03*	35,79*
Linia L 9	17,16*	58,58*	23,61*
Forma f 3	43,27*	40,82*	14,51*
Forma f 5	7,40*	70,99*	20,43*

* - suport statistic al testului F

Dendrograma genotipurilor de grâu funcție de rata caracterului de calusare pe FC *Fusarium* sp. a repartizat populațiile în trei clustere, ce prezintă: f 5, L 7 (1); L M/O (2); f 3, L 9, Basarabeanca (3) (Fig.2, A). Distribuția clusteriană în baza *k*-mediilor a evidențiat capacitatea de diferențiere a acestora la majoritatea concentrațiilor FC (Fig.2, B).

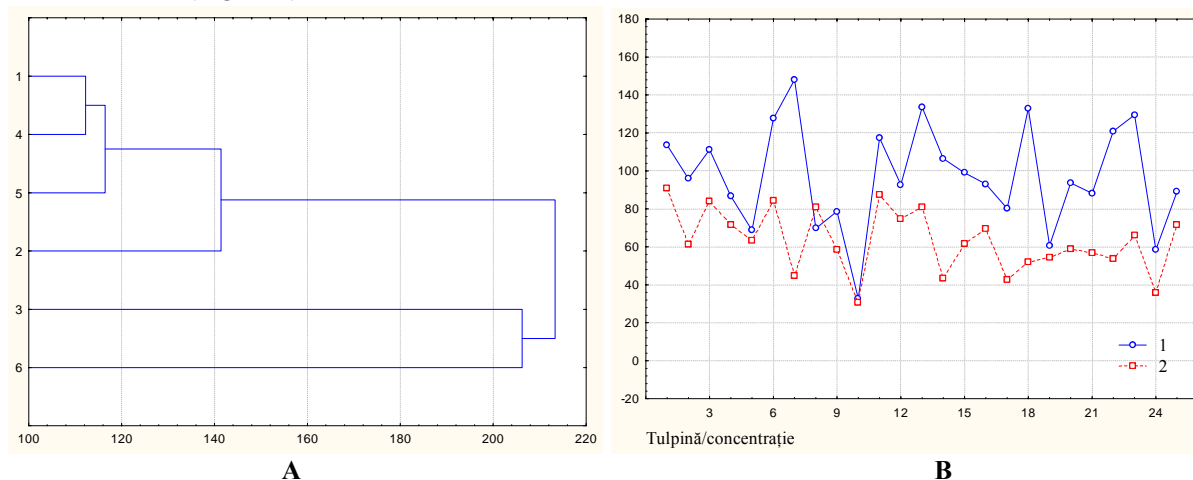


Fig.2. Analiza clusteriană a repartiției genotipurilor de grâu în baza dendrogramei (A: 1 – Basarabeanca, 2 – L M/O, 3 – L 7, 4 – L 9, 5 – f 3, 6 – f 5) și *k*-mediilor (B: 1 – f 5, L 7; 2 – M/O, f 3, L 9, Basarabeanca) în clustere.

Prin cercetarea acțiunii factorilor selectivi (*tulpină patogenă x concentrație FC*) asupra capacității de calusare a embrionilor maturi s-a constatat lipsa de sensibilitate a acestora doar în cazul *F.oxysporum* var.*orthoceras* 10, 30; 10; 10, 30% ale tulpinilor nr.49, 71, 81, respectiv. FC *F.oxysporum* var.*orthoceras* (nr.71) de 50% a exercitat presiune selectivă maximă, însă variabilitate nesemnificativă a caracterului pentru genotipurile cercetate. FC *F.oxysporum* var.*orthoceras* (nr.71) de 20% și *F.avenaceum* var. *herbarum* de 30% au indus o variabilitate superioară a caracterului cercetat (Fig.3, A, B).

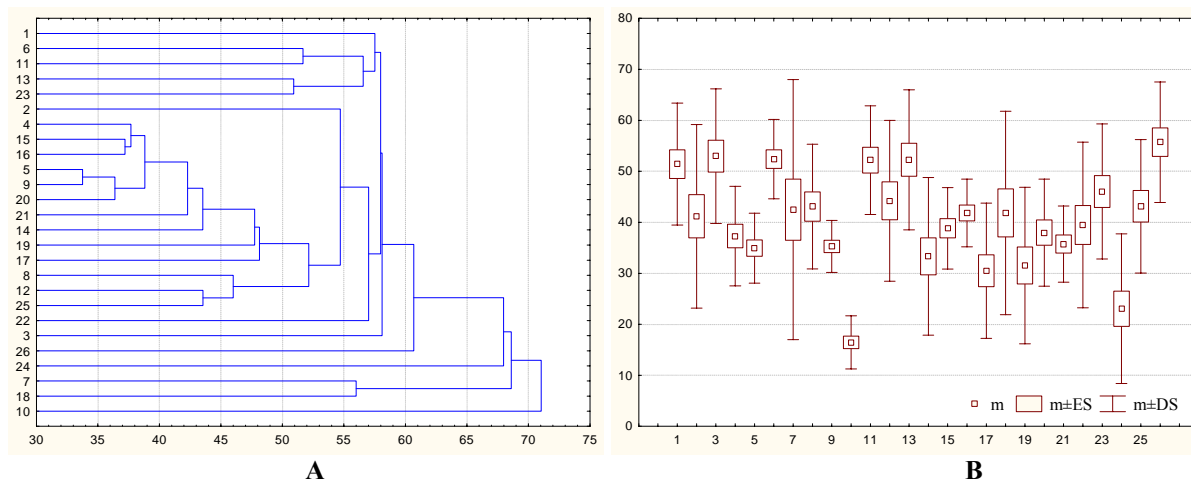


Fig.3. Analiza clusteriană a repartiției tulpinilor patogene funcție de capacitatea selectivă (A) și capacitatea de calusare a embrionilor maturi (B): 1, 2*, 3, 4*, 5* – FC *F.oxysporum* var.*orthoceras* (nr.49); 6, 7*, 8*, 9*, 10* – FC *F.oxysporum* var.*orthoceras* (nr.71); 11, 12*, 13, 14*, 15* – FC *F.oxysporum* var.*orthoceras* (nr.81); 16*, 17*, 18*, 19*, 20* – *F.avenaceum* var. *herbarum*; 21*, 22*, 23*, 24*, 25* – *F.sporotrichiella*, respectiv, 10, 20, 30, 40, 50% FC; 26 – Martor.

* - suport statistic al testului F

Genotipurile de grâu comun de toamnă în cultura *in vitro* a embrionilor maturi au prezentat potențial divers de calusare, dar, totodată, pretabilitate înaltă pentru acest caracter.

Capacitatea de calusare generală a embrionilor maturi pe mediul MS suplimentat cu FC *Fusarium* sp. în diferite concentrații a prezentat atât stimulare, cât și reprimare, în dependență de genotipul plantei, FC *Fusarium* sp. și concentrația acestuia.

Calusarea generală este influențată semnificativ de factorii concentrație FC (41,97%) și genotipul de grâu (21,11%). Pentru populațiile f 5, L M/O, L 9, L 7 a avut importanță majoră factorul de concentrație FC.

Analiza clusteriană a diferențiat genotipurile în baza caracterului de calusare a embrionilor maturi la acțiunea tulpinilor *Fusarium*/concentrație FC în trei cluster: populațiile f 5, L 7 (clusterul 1); L M/O (clusterul 2); f 3, L 9, Basarabeanca (clusterul 3).

FC *F.oxysporum* var.*orthoceras* (nr.71) de 50% a exercitat presiune selectivă maximă, dar variabilitate diminuată a calusării la genotipurile cercetate, pe când FC *F.oxysporum* var.*orthoceras* (nr.71) de 20% și *F.avenaceum* var. *herbarum* de 30% FC au indus o variabilitate înaltă a caracterului.

Referințe:

1. Козырева О.Г., Дунаева С.Е. Генетика регенерации в культуре *in vitro* злаков // Генетика, 1994, том 30, 10, с.1432-1440.
2. Amirova A.K., Bishimbayeva N.K., Rakhimbayev I.R. Overcoming genotype limitation and long-term regeneration maintenance in wheat (*Triticum aestivum*) tissue culture // Бюл. Гос. Никит. ботан. сада, 2002, №86, с.26-27, 70-71.
3. Przetakiewicz A., Orczyk W., Nadolska-Orczyk A. The effect of auxin on plant regeneration of wheat, barley and triticale // Plant Cell, Tissue and Organ. Cult., 2003, vol.73, 3, p.245-256.
4. Искакова К.М., Анапияев Б.Б., Сатыбалдиев Д.Д. и др. Гаплоидная биотехнология в селекции зерновых культур // 4 Московский международный конгресс „Биотехнология: состояние и перспективы развития”, Москва, 12-16 марта, 2007: Материалы конгресса. - Москва, 2007, с.217-218.
5. Катасонова А.А. Оптимизация технологии получения растений-регенерантов яровой мягкой пшеницы в каллусной культуре *in vitro*: Автореферат диссертации на соискание ученой степени канд. биол. наук. - Уфа: Ин-т биол. УНЦ РАН. 2007.
6. Фадеева И.Ю. Проллиферативный антиген инициалей в исследовании морфогенетических процессов в культуре *in vitro* пшеницы: Автореферат диссертации на соискание ученой степени канд. биол. наук. - Саратов: Ин-т биохимии и физиол. раст. и микроорганизмов РАН, 2007.
7. Евсева Н.В., Ткаченко О.В., Лобачев Ю.В. и др. Биохимическая оценка морфогенетического потенциала каллусных клеток пшеницы *in vitro* // Физиол. раст., 2007, том 54, 2, с.306-311.
8. Lupașcu G., Fandeev E. Genetica rezistenței culturii triticale la fuzarioză. Cercetări *in vitro*. - Chișinău: Tipografia AȘM, 2004.
9. Fandeev E. Selecția *in vitro* a formelor de triticale rezistente la fuzarioză // Cercetari de Genetică Vegetală și Animală, 2006, vol.IX, „Fundulea”, p.79-86.
10. Шаяхметов И.Ф. Культура клеток и тканей пшеницы *in vitro* и соматический эмбриогенез: Автореферат диссертации на соискание ученой степени канд. биол. наук. - С.-Петербург: Гос. ун-т, 2001.
11. Сурин Н.А., Громовых Т.И., Зобова Н.В. и др. Получение регенерантов ярового ячменя, устойчивых к токсинам корневых гнилей в условиях Восточной Сибири // Микология и фитопатология, 2002, том 36, 2, с.67-71.
12. Sașco E. Specificitatea genotipică a sarcinătății de calusare somatică la *Triticum aestivum* sub influența filtratelor de cultură *Fusarium* spp. // Buletinul AȘM Științele vieții, 2006, nr.2 (299), p.65-70.
13. Moraru I., Răducanu F., Ittu M. și colab. Reacția *in vitro* a unor genotipuri de grâu (*Triticum aestivum* L.) și porumb (*Zea mays* L.) la toxina sintetică ZEN // AICSP, 1998, vol.LXV, p.29-35.
14. Шевелуха В.С., Рогинская В.А., Хижняк С.В. Перспективы использования токсинов возбудителя обыкновенной корневой гнили зерновых в клеточной селекции // Сельскохозяйственная биология, 1992, №3, p.45-51.
15. Волощук С.И., Волощук А.Д., Гирко В.С. Морфолого-биохимические характеристики каллусов пшеницы при культивировании с патогенными грибами // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук, 2005, №3, p.35-37.
16. Wu B.H., Zheng Y.L., Lui D.C., Zhou Y.H. Trait correlation of immature embryo culture in bread wheat // Plant Breed, 2003, vol.122, 1, p.47-51.
17. Хапилина О.Н., Турганбаева А.К., Созинова Л.Ф., Саданов А.К. Клеточная селекция мягкой пшеницы на устойчивость к возбудителям обыкновенной корневой гнили // Агробиохимические проблемы биологической интенсификации земледелия: Сборник докладов Международной научно-практической конференции. Владимир, 5-7 июля, 2005. - Владимир, 2005, с.332-344.
18. Ganesan M., Jayabalan N. Isolation of disease-tolerant cotton (*Gossypium hirsutum* L. Cv. SVRP 2) plants by screening somatic embryos with fungal culture filtrate // Plant Cell. Tissue and Organ Cult, 2006, vol.87, 3, p.273-284.
19. Мепаришвили Г.В. Использование соматической изменчивости в создании форм пшеницы, устойчивых к фузариозу: Автореферат диссертации на соискание ученой степени канд. биол. наук. ВНИИ фитопат. - Большие Вязьмы, 2003.

20. Casian H., Stroe E., Moraru I. Utilizarea culturii de embrioni maturi la unele genotipuri de grâu (*Triticum aestivum*) // Lucrări științifice, U.Ș.A.M.V.B. Seria A, 1999, vol.XLII, 2, p.17-21.
21. Bozhanova V., Dechev D. Assessment of tissue culture – derived durum wheat lines for somaclonal variation // Cereal Res. Commun, 2002, vol.30, no.3-4, p.277-284.
22. Овчиникова В.Н., Варламова Н.В., Мелик-Саркисов О.С. и др. Получение регенерантов у ярового ячменя *Hordeum vulgare* L. в культуре *in vitro* // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук, 2004, №3, с.8-10.
23. Klcova L., Havrlentova M., Farago J. Cultivar and environmental conditions affect the morphogenic ability of harley (*Hordeum vulgare*) scutelum – derived calli // Biol. Sec. Bot., 2004, vol.59, no.4, p.501-504.
24. Birsin M.A., Ozgen M. A comparison of callus induction and plant regeneration from different embryo explants of triticale (x *Triticosecale* Wittmack) // Cell. And Mol. Biol. Lett., 2004, vol.9, no.2, p.353-361.
25. Zale J.M., Borchardt-Wier H., Kidwell K.K., Steber C.M. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of a diverse set of wheat genotypes // Plant Cell, Tissue and Organ Cult., 2004, vol.76, no.3, p.277-281.
26. Przetakiewicz A., Orczyk W., Nadolska-Orczyk A. The effect of auxin on plant regeneration of wheat, barley and triticale // Plant Cell, Tissue and Organ Cult., 2003, vol.73, no.3, p.245-256.

Prezentat la 22.03.2010