



УДК 581.143.6:633.15

## Регуляція морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи групи Ланкастер

К.В. Деркач, О.Є. Абраїмова, Т.М. Сатарова

*Інститут зернових культур НААН України, Дніпропетровськ, Україна*

Охарактеризовано морфогенез *in vitro* на середовищі для регенерації у ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер порівняно з іншими гетерозисними групами – PLS61, A188 та Chi31 на базі 30-добової калусної тканини, отриманої з незрілих зародків, на фоні 30 г/л сахарози середовища для калусогенезу. Морфогенез *in vitro* у кукурудзи, який зумовлює отримання повноцінних фертильних рослин, відбувається двома шляхами: органогенезом і соматичним ембріогенезом (ембріодогенезом). Установлено генотипічний контроль за типом морфогенезу *in vitro*. Оцінено вплив фізіологічно активних речовин (6-бензиламінопурину, індолілмасляної кислоти та цефотаксиму) на співвідношення типів морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи групи Ланкастер і неланкастерівських гетерозисних груп. Переважаючий тип морфогенезу *in vitro* – органогенез для всіх досліджених гетерозисних груп. Індолілмасляна кислота сприяє інтенсифікації процесу ембріодогенезу у разі застосування її як компонента регенераційного середовища як у ланкастерівських, так і неланкастерівських ліній. Відмічено значне переважання частоти регенерації у ліній PLS61, A188 та Chi31 над аналогічним показником для ліній групи Ланкастер.

*Ключові слова:* *Zea mays*; 6-бензиламінопурин; індолілмасляна кислота; цефотаксим; калусогенез; регенерація

## Regulation of *in vitro* morphogenesis in maize inbreds of the Lancaster group

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

*Institute of Grain Crops of National Academy of Agrarian Science of Ukraine, Dnipropetrovsk, Ukraine*

The aim of this work is the comparative evaluation of the influence of physiologically active substances (PAS) on the ratio of morphogenesis types *in vitro* and plant regeneration in callus tissues of maize inbreds of the Lancaster heterotic group. Lancaster inbreds of Ukrainian selection DK267, DK6080 and DK298 and lines PLS61, A188 and Chi31 of foreign selection which represented eponymous heterotic groups were selected for into the research. For callusogenesis induction immature embryos of 1.0–1.5 mm in length were planted on a modified N6 medium with 30 g/l sucrose. For regeneration the 30-day callus tissue was transplanted to a modified MS medium containing 20 g/l sucrose and various PAS: 6-benzylaminopurine (BAP) (0.1 mg/l) or indolylbutyric acid (IBA) (1.0 mg/l), or cefotaxime (CT) (150 mg/l). Morphogenesis and plant regeneration were obtained in callus tissue by organogenesis through the formation of leaf-like structures or shoots only without roots (hemmogenesis) and by embryogenesis through the development of embryos with the cooperative laying of the apexes of the shoot and the root. The predominant type of *in vitro* morphogenesis in both groups of genotypes was organogenesis. A tendency to increasing the embryogenesis level among Lancaster inbreds in comparison with the other investigated groups was observed. A certain tendency to increase the level of embryogenesis on a medium for regeneration with IBA, compared to other PAS, was marked. So, for the Lancaster group the embryogenesis level on the medium with IBA was 33.3%, while for the other investigated genotypes it was about 10.3%. Regeneration frequency was 45.8 plantlets/100 calli for Lancaster inbred DK298, 42.2 plantlets/100 calli for DK267 and 5.6 plantlets/100 calli for DK6080. Regeneration frequency of inbred PLS61 was 204.0 plantlets/100 calli, 100.0 plantlets/100 calli for Chi31 and 11.1 plantlets/100 calli for A188. Observed reductions in capacity for plant regeneration of Lancaster inbreds may have been due to their pedigree. These inbreds belong to the commercial heterotic group that was not specially selected for increased regenerative ability, unlike the model inbreds of other heterotic groups. Overall, the level of regeneration frequency in the Lancaster group was 44.8 plantlets/100 calli on the medium under BAP, 41.4 plantlets/100 calli under IBA, and 20.7 plantlets/100 calli with CT. In general, the level of regeneration frequency for non-Lancaster heterotic groups reached 89.7 plantlets/100 calli on the medium with BAP,

96.7 plantlets/100 calli under IBA, and 93.1 plantlets/100 calli under CT. To enhance embryogenesis and frequency of regeneration for maize inbreds of the Lancaster group 30 g/l sucrose in the callusogenesis medium and physiologically active substance indolylbutyric acid (1.0 mg/l) in the medium for regeneration can be recommended.

**Keywords:** *Zea mays*; 6-benzilaminopurine; indolylbutyric acid; cefotaxim; callusogenesis; regeneration

## Вступ

Кукурудза – поширений об'єкт у біотехнологічних дослідженнях, включаючи роботи з клітинної селекції та генетичної інженерії *in vitro*, які ведуться на базі калусної тканини. Проте використання калусної тканини для цих актуальних робіт повинно закінчуватися отриманням фертильних рослин-регенерантів, здатних рости та розвиватися *in vivo*. Разом із тим, розвиток рослин-регенерантів залежить від типу морфогенезу, за яким відбувається їх формування в культурі калусної тканини. Морфогенез із подальшою регенерацією рослин *in vitro*, за класифікацією Т.Б. Батигіної (Batygina et al., 2010), може здійснюватися як шляхом органогенезу, тобто несполученого розвитку стеблової меристеми (гемогенезу) та кореневої системи (ризогенезу), так і шляхом соматичного ембріогенезу (ембріодогенезу), тобто розвитку асексуальної біполярної структури, яка за будовою відповідає зиготичному зародку та має точки росту стебла та кореня, а також сім'ядолі. Відомі різні стадії соматичного ембріогенезу, зокрема стадії кулясто-подібного зародка, грушоподібного зародка, щиткоподібного ембріона та зрілого ембріона (Liu et al., 2015).

Саме соматичний ембріогенез здатен забезпечити розвиток рослин-регенерантів одночасно з пагоном і кореневою системою (González et al., 2012), що є актуальним у біотехнологічних дослідженнях з отримання соматональних варіантів (Qamar et al., 2015) і в генетичній трансформації кукурудзи (Assem, 2015). Для активізації процесу ембріодогенезу потребують оптимізації умови культивування як за ініціації калусогенезу, так і на етапі регенерації рослин. Регенераційна здатність залежить від генотипу (Bedada et al., 2012; Ali et al., 2014). Разом із тим, у праці (Akooyi et al., 2013) для тропічних інбредних ліній кукурудзи показана незалежність від генотипу при формуванні соматичних зародків на середовищі MS (Murashige and Skoog, 1962) з дикамбою. Певний вплив фітогормонів (6-бензиламінопурину (БАП) у поєднанні з індолілоцтовою кислотою (ІМК)) на регенераційну здатність калусів кукурудзи з незрілих зародків відмічено Shohael et al. (2003). Використання цитокінінів, зокрема БАП у поєднанні з кінетином, забезпечувало успішну регенерацію пагонів шляхом органогенезу з калусів, отриманих як із незрілих, так і зрілих зародків кукурудзи (Ali et al., 2014; Guruprasad et al., 2015; Guruprasad et al., 2016), хоча і БАП окремо також підвищував регенераційну здатність (Guruprasad, 2015). Додавання БАП у різних концентраціях до регенераційного середовища мало незначний вплив на формування рослинки шляхом соматичного ембріогенезу у кенійських генотипів кукурудзи (Oduor et al., 2006). Безгормональне регенераційне середовище провокувало розвиток рослинки шляхом ембріодогенезу у тропічних ліній кукурудзи (Bedada et al., 2012). Високий вміст БАП (1,5 мг/л) у поєднанні з низьким рівнем нафтілоцтової кислоти (0,2 мг/л) у середовищі з мінеральною основою MS і 1,0 мг/л

кінетину, сприяв високому рівню регенерації з ембріодів у індійських генотипів кукурудзи (Malini et al., 2015). Ці відомості свідчать про актуальність установлення необхідного рівня фітогормонального впливу для отримання регенерантів за рахунок певного типу морфогенезу для конкретних груп перспективних господарськоцінних генотипів кукурудзи.

У сучасній селекційній практиці кукурудзи задіяні такі гетерозисні групи як Ланкастер, Айодент, Рейд, BSSS тощо (Bennetzen and Hake, 2009), біотехнологічні властивості яких мало досліджені. Зокрема, група Ланкастер через ранньостиглість, високу комбінаційну здатність, посухостійкість і значну врожайність – одна з найперспективніших для вирощування в Україні (Satarova et al., 2013), хоча її здатність морфогенезу та регенерації *in vitro* недостатньо вивчені.

Мета цієї статті – оцінити вплив фізіологічно активних речовин середовища для регенерації на співвідношення типів морфогенезу *in vitro* та регенерацію рослин у культурі калусної тканини ліній кукурудзи гетерозисної групи Ланкастер порівняно з лініями-представниками інших гетерозисних груп.

## Матеріал і методи досліджень

Гетерозисна група Ланкастер кукурудзи (*Zea mays* L.) представлена в нашому дослідженні лініями української селекції ДК267, ДК6080 та ДК298. Для порівняння досліджували модельні лінії кукурудзи зарубіжної селекції PLS61, A188 та Chi31, які представляють однойменні гетерозисні групи. Для індукції калусогенезу використовували 10–12-добові незрілі зародки довжиною 1,0–1,5 мм, ізольовані з 3–5 польових донорних рослин відповідного генотипу. Як середовище для індукції калусогенезу застосовували модифіковане середовище N6 (Derkach et al., 2011), яке містило макро-, мікроелементи та вітаміни за N6 (Chu et al., 1975), 690 мг/л L-проліну, 100 мг/л гідролізату казеїну, 100 мг/л мезоінозиту, 10 мг/л нітрату срібла, 30 г/л сахарози та 8 г/л агар-агару. Отриману 30-добову калусну тканину висаджували на середовище для регенерації. Для індукції регенерації використовували модифіковане середовище з макро-, мікроелементами та вітамінами MS (Murashige and Skoog, 1962) з додаванням 690 мг/л L-проліну, 100 мг/л гідролізату казеїну, 100 мг/л мезоінозиту, 20 г/л сахарози, 7 г/л агар-агару, а також фізіологічно активних речовин: 6-бензиламінопурину у концентрації 0,1 мг/л або індолілмасляної кислоти у концентрації 1,0 мг/л, або цefотаксиму в концентрації 150 мг/л. Для останнього компонента відомий стимулювальний вплив на ініціацію ембріодогенезу для деяких генотипів кукурудзи (Danilova and Dolgikh, 2004). Культивували за +26 °C, для зародків і калусів у темряві, а для рослин-регенерантів – за 16-годинного фотоперіоду.

Частоту органогенезу (%) та частоту ембріодогенезу (%) визначали як процентне відношення кількості рос-

лин-регенерантів, отриманих із калусної тканини за тим чи іншим типом морфогенезу, до загальної кількості отриманих рослин-регенерантів. Частоту регенерації рослин (рослин/100 калусів) визначали як кількість отриманих рослин-регенерантів на 100 культивованих калусів. Визначення частоти певного типу морфогенезу та частоти регенерації проводили у період від трансплантації калусної тканини на середовище для регенерації до 180-ї доби культивування. Статистичну обробку проводили згідно з Welham et al. (2015). Статистично оброблені дані в таблицях представлені у вигляді  $x \pm 1,96 \cdot SD$ .

### Результати та їх обговорення

В усіх досліджених ліній із частотою 98–99% на середовищі для індукції калусогенезу на щитках незрілих зародків отримано морфогенну калусну тканину типу I за класифікацією (Green and Phillips, 1975), яка культивувалася 30 діб. Морфогенез і регенерація рослин в отриманій калусній тканині відбувалися як шляхом органогенезу з утворенням листкоподібних структур або рослинки у вигляді лише пагонів (гемогенез) і не сполучених із ними коренів (ризогенез), так і шляхом розвитку ембріодів зі сполученим закладанням апексів пагона та корінця.

Морфогенез і регенерація в калусній тканині у більшості досліджених ліній кукурудзи групи Ланкастер починалися вже в перші 30 діб культивування на регенераційних середовищах, а максимальна кількість регенерантів утворювалася переважно з 31-ї по 60-ту добу. Регенерація калусної тканини високочутливих до культури *in vitro* ліній PLS61, A188 та Chi31 починалася пізніше, після 30 діб культивування на регенераційних середовищах.

У лінії ДК267 найбільша частота ембріодогенезу спостерігалася на середовищі із ЦТ, а у лінії ДК298 – на середовищі з БАП, хоча в цілому у цих ліній переважав органогенез (84,2% та 72,7%, відповідно) (табл. 1). Лінія ДК6080 сформувала лише одну рослину-регенерант шляхом ембріодогенезу на середовищі з ІМК. У цілому по групі Ланкастер спостерігалася тенденція зростання рівня ембріодогенезу на середовищі для регенерації з ІМК – 33,3% проти 15,4% та 16,7% на середовищах із БАП та ЦТ, відповідно. Найбільшою частотою регенерації серед ліній цієї групи володіла ДК298 (45,8 рослин/100 калусів), найменшою – ДК6080 (5,6 рослин/100 калусів). Лінія ДК267 мала значення цього показника на рівні 42,2 рослин/100 калусів. У цілому по групі Ланкастер рівень частоти регенерації склав на середовищі для регенерації з БАП – 44,8 рослин/100 калусів, на середовищі з ІМК – 41,4, а на середовищі з ЦТ – 20,7 рослин/100 калусів.

Таблиця 1

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

Лінія	Фітогормони середовища для регенерації	Кількість калусів, висаджених на середовище для регенерації, шт.	Кількість отриманих рослин-регенерантів, шт.	Тип морфогенезу, %		Частота регенерації, рослин/100 калусів
				органогенез	ембріодогенез	
ДК267	БАП*	15	8	100,0	0	53,3
	ІМК**	15	8	75,5	25,0	53,3
	ЦТ***	15	3	66,7	33,3	20,0
	Середнє			84,2	15,8	42,2
ДК6080	БАП*	6	0	0	0	0
	ІМК**	6	1	0	100,0	16,7
	ЦТ***	6	0	0	0	0
	Середнє			0	100,0	5,6
ДК298	БАП*	8	5	60,0	40,0	62,5
	ІМК**	8	3	66,7	33,3	37,5
	ЦТ***	8	3	100,0	0	37,5
	Середнє			72,7	27,3	45,8
За трьома лініями						
	БАП*	29	13	84,6	15,4	44,8
	ІМК**	29	12	66,7	33,3	41,4
	ЦТ***	29	6	83,3	16,7	20,7
	Середнє	87	31	77,4 ± 15,7	26,6 ± 15,7	35,6 ± 10,3

**Примітки:** \* – БАП – 6-бензиламінопурин, 0,1 мг/л; \*\* – ІМК – індолілмасляна кислота, 1 мг/л; \*\*\* – ЦТ – цефотаксим, 150 мг/л.

У ліній PLS61 та A188 морфогенез шляхом ембріодогенезу спостерігався лише за використання БАП у середовищі для регенерації та становив 11,8% та 33,3%, відповідно (табл. 2). У лінії Chi31 найвищий рівень ембріодогенезу відмічено на середовищі для регенерації з ЦТ. У цілому по групі наявна тенденція до зростання рівня ембріодогенезу на середовищі для регенерації з ІМК – 10,3% проти 5,4% та 7,4% на середовищах із БАП та ЦТ, відповідно. Найбільшою частотою регенерації володіла лінія PLS61 (204,0 рослин/100 калусів), найменшою – A188 (11,1 рослин/100 калусів). Лінія Chi31

мала значення цього показника на рівні 100,0 рослин/100 калусів. У цілому в неланкастеровських гетерозисних груп рівень частоти регенерації на середовищі для регенерації з БАП склав 89,7 рослин/100 калусів, на середовищі з ІМК – 96,7, а на середовищі з ЦТ – 93,1 рослин/100 калусів.

Порівняння даних таблиць 1 та 2 вказує на те, що як у ліній групи Ланкастер, так і у ліній неланкастерівських груп переважаючим типом морфогенезу *in vitro* за застосування 30 г/л сахарози у середовищі для калусогенезу та БАП, ІМК та ЦТ у середовищі для регенерації є орга-

ногенез. Рівень ембріодогенезу для ліній гетерозисної групи Ланкастер залежно від ФАР середовища для регенерації складає 15,4–33,3%, а для неланкастерівських гетерозисних груп – 5,4–10,3%, тобто спостерігається тенденція до певного зростання рівня ембріодогенезу у ліній групи Ланкастер. Натомість частота регенерації для неланкастерівських гетерозисних груп переважає аналогічний показник ліній групи Ланкастер – 89,7–96,7 рослин/100 калусів залежно від ФАР середовища для регенерації проти 20,7–44,8 рослин/100 калусів у ліній групи Ланкастер.

Знижена здатність до утворення рослинок-регенерантів калусною тканиною ліній групи Ланкастер пояснюється тим, що ці лінії належать до комерційної гетерозисної групи, яка не проходила спеціальний відбір на підвищену регенераційну здатність, як то використані

модельні лінії інших гетерозисних груп. У праці Guruprasad et al. (2016) у генотипу кукурудзи MU2092 відмічено 4,2 пагона/калус, тобто 420 рослин/100 калусів як максимальну кількість утворення пагонів за використання 0,5 мг/л БАП у поєднанні з 0,5 мг/л кінетину, що набагато вище, ніж у нашому дослідженні з лініями кукурудзи. У праці Muoma et al. (2011) отримано 55 рослин/100 калусів та 76 рослин/100 калусів для тропічних ліній кукурудзи та 58–99 рослин/100 калусів для їх гібридних комбінацій, що відповідає отриманим нами даним. Для танзанійських вільнозапилюваних сортів кукурудзи відмічена частота регенерації на рівні 5,4–30,8 рослин/100 калусів залежно від компонентів середовища для регенерації (Seth et al., 2012), що менше, ніж у нашому дослідженні.

Таблиця 2

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

Лінія	Фітогормони середовища для регенерації	Кількість калусів, висаджених на середовище для регенерації, шт.	Кількість отриманих рослин-регенерантів, шт.	Тип морфогенезу, %		Частота регенерації, рослин/100 калусів
				органогенез	ембріодогенез	
PLS61	БАП	8	17	88,2	11,8	212,5
	ІМК	9	15	100,0	0	166,7
	ЦТ	8	19	100,0	0	237,5
	середнє			96,1	3,9	204,0
A188	БАП	12	3	66,7	33,3	25,0
	ІМК	12	0	0	0	0
	ЦТ	12	1	100,0	0	8,3
	середнє			75,0	25,0	11,1
Chi31	БАП	9	6	83,3	16,7	66,7
	ІМК	9	14	78,6	21,4	155,6
	ЦТ	9	7	71,4	28,6	77,8
	середнє			77,8	22,2	100,0
за трьома лініями						
	БАП	29	26	84,6	5,4	89,7
	ІМК	30	29	89,7	10,3	96,7
	ЦТ	29	27	92,6	7,4	93,1
	Середнє	88	82	89,0 ± 6,9	11,0 ± 6,9	93,2 ± 5,4

Примітка: див. табл. 1.

Відомий стимулювальний вплив ЦТ на регенерацію *in vitro*, що пов'язано або з його дією як антибіотика, або з розкладанням його у живильному середовищі до сполук, які володіють фітогормональною активністю (Danilova and Dolgykh, 2004). Для ліній A188 та R91 та їх гібриду відмічено зростання частоти регенерації до 240, 540 та 340 рослин/100 калусів, відповідно, порівняно з контролем, де отримано відповідно для тих самих ліній 120, 30 та 130 рослин/100 калусів. У нашому дослідженні стимулювального ефекту ЦТ як на частоту регенерації, так і для зростання рівня ембріодогенезу не виявлено. Відомо (Jia et al., 2008), що БАП саме у концентрації 0,1 мг/л на регенераційному середовищі з 0,5 мг/л 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти забезпечував значно вищий, ніж без БАП рівень утворення як окремих пагонів (органогенез), так і рослинки (ембріодогенез). У нашому ж дослідженні дія БАП у концентрації 0,1 мг/л перебувала у межах довірчого інтервалу, порівняно з іншими ФАР. ІМК часто використовується для укорінення рослинки (Omboji, 2008; Guruprasad, 2016), проте у нашому дослідженні саме за використання цієї ФАР відмічено тенденцію до зростання рівня соматичного ембріогенезу. Таким чином, різні генотипи кукурудзи по-різному реагують на присут-

ність у живильному середовищі для регенерації тієї чи іншої ФАР, зокрема проявом різної частоти регенерації та переважаючим типом морфогенезу *in vitro*.

## Висновки

Установлено генотипічний контроль за типом морфогенезу *in vitro*. Морфогенез ліній кукурудзи групи Ланкастер та інших гетерозисних груп має певні відмінності, хоча в обох порівнюваних групах переважає органогенез. У ліній групи Ланкастер спостерігається тенденція до зростання рівня ембріодогенезу порівняно з лініями неланкастерівських гетерозисних груп. В обох порівнюваних групах ліній відмічено тенденцію до зростання рівня ембріодогенезу на середовищі для регенерації з індолилмасляною кислотою (1 мг/л).

Для посилення процесів ембріодогенезу у ліній кукурудзи групи Ланкастер на фоні 30 г/л сахарози у середовищі для калусогенезу як фізіологічно-активну речовину в середовищі для регенерації рекомендовано використовувати індолилмасляну кислоту в концентрації 1 мг/л.

## Бібліографічні посилання

- Akoyi, J., Mgtutu, A.J., Machuka, J., van Lijsebettens, M., Taracha, C., Anami, S.E., 2013. Dicamba growth regulator promotes genotype independent somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of tropical maize inbred lines. *J. Life Sci.* 7(7), 677–689.
- Ali, F., Ahsan, M., Saeed, N.A., Ahmed, M., Ali, Q., Kanwal, N., Tehseen, M.M., Ijaz, U., Bibi, I., Niazi, N.K., 2014. Establishment and optimization of callus-to-plant regeneration system using mature and immature embryos of maize (*Zea mays*). *Int. J. Agric. Biol.* 16, 111–117.
- Assem, S.K., 2015. Maize, tropical (*Zea mays* L.). *Methods Mol. Biol.* 1223, 119–134.
- Batygina, T.B., Kruglova, N.N., Gorbunova, V.Y., Titova, G.Y., Seldimirova, O.A., 2010. Ot mikroskopa k raznoobraziju [From microspore to variety]. Nauka, Moscow (in Russian).
- Bedada, L.T., Seth, M., Runo, S.M., Tefera, W., Jesse, M., 2012. Regenerability of elite tropical maize (*Zea mays* L.) inbred lines using immature zygotic embryo explants. *Afr. J. Biotechnol.* 11(8), 598–605.
- Bennetzen, J.L., Hake, E.S.A., 2009. Handbook of maize. Genetics and Genomics. Springer Science, New York.
- Chu, C.C., Wang, J.J., Sun, J.S., 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments of the nitrogen sources. *Sci. Sinica* 18(5), 659–668.
- Danilova, S.A., Dolgikh, Y.I., 2004. The stimulatory effect of the antibiotic cefotaxime on plant regeneration in maize tissue culture. *Russ. J. Plant Physiol.* 51(4), 559–562.
- Derkach, K.V., Abraimova, O.E., Satarova, T.M., 2011. Kalusogenyj potencial linij kukurudzy grupy Lankaster v umovah in vitro [Callusogenic potential of maize lines of Lancaster group *in vitro*]. *Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.* 19(1), 16–21 (in Ukrainian).
- González, G.A., Pacheco, M.G., Oneto, C.D., Etchart, V.J., Kandus, M.V., Salerno, J.C., Eyherabide, G., Presello, D., Lewi, D.M., 2012. Somatic embryogenesis and plant regeneration capacity in Argentinean maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Electron J. biotechnol.* 15(1), 1–7.
- Green, C.E., Phillips, H.L., 1975. Plant regeneration from tissue cultures of maize. *Crop Sci.* 15(5), 417–421.
- Guruprasad, M., Sridevi, T.V., Udaya Sri, A.P.P., Kumar, M.S., 2015. Plant regeneration through callus initiation from mature and immature embryos of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Multidisciplinary Advanced Research Trends* 2(1), 195–202.
- Guruprasad, M., Sridevi, T., Vijayakumar, G., Kumar, M.S., 2016. Plant regeneration through callus initiation from mature and immature embryos of maize (*Zea mays* L.). *Indian J. Agr. Res.* 50(2), 135–138.
- Jia, X.X., Zhang, J.W., Wang, H.N., Kong, W.P., 2008. Efficient maize (*Zea mays* L.) regeneration derived from mature embryos *in vitro*. *Maydica* 53, 239–248.
- Liu, B., Su, S., Wu, Y., Li, Y., Shan, X., Li, S., Liu, H., Dong, H., Ding, M., Han, J., Yuan, Y., 2015. Histological and transcript analyses of intact somatic embryos in an elite maize (*Zea mays* L.) inbred line Y423. *Plant Physiol. Biochem.* 92, 81–91.
- Malini, N., Anandakumar, C.R., Hari Ramakrishnan, S., 2015. Regeneration of Indian maize genotypes (*Zea mays* L.) from immature embryo culture through callus induction. *Journal of Applied and Natural Science* 7(1), 131–137.
- Muoma, J., Ombori, O., Machuka, J., 2011. Improvement in inheritance of somatic embryogenesis and plantlet regeneration in tropical maize lines from friable callus. *Maize Genet. Coop. News Lett.* 85, 1–2.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15, 473–497.
- Oduor, R.O., Njagi, E.N.M., Machuka, J.S., 2006. *In vitro* regeneration of dryland Kenyan maize genotypes through somatic embryogenesis. *Int. J. Bot.* 2(2), 146–151.
- Ombori, O., Gitonga, N.M., Machuka, J., 2008. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of tropical maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Biotechnology* 7, 224–232.
- Qamar, Z., Aaliyah, K., Nasir, I.A., Farooq, A.M., Tabassum, B., Ali, Q., Ali, A., Awan, M.F., Tariq, M., Hasnain, T., 2015. An overview of genetic transformation of glyphosate resistant gene in *Zea mays*. *Nature and Science* 13(3), 80–90.
- Satarova, T.M., Cherchel, V.Y., Cherenkov, A.V., 2013. Kukuruz: Biotehnologicheskie i selekcionnye aspekty gaploidii [Maize: Biotechnological and breeding aspects of haploidy]. *New ideology, Dnipropetrovsk* (in Russian).
- Seth, M.S., Bedada, L.T., Mneney, E.E., Oduor, R.O., Machuka, J.S., 2012. *In vitro* regeneration of selected commercial Tanzanian open pollinated maize varieties. *Afr. J. Biotechnol.* 11(22), 6043–6049.
- Shohael, A.M., Akanda, M.A.L., Parvez, S., Mahfuja, S., 2003. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryoderived callus of inbred mays (*Zea mays* L.). *Biotechnology* 2(2), 154–161.
- Welham, S.J., Gezan, S.A., Clark, S.J., Mead, A., 2015. Statistical methods in biology: Design and analysis of experiments and regression. CRC Press, Boca Raton.

Надійшла до редколегії 12.06.2016