

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ *IN VITRO* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МЕЖВИДОВЫХ И МЕЖРОДОВЫХ ГИБРИДОВ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА BRASSICACEAE (ОБЗОР)

Е. Б. Котлярова***, Е. Н. Жидкова***, О. А. Подвигина***

* Липецкий государственный педагогический университет,

** Всероссийский научно-исследовательский и проектно-технологический институт рапса, г. Липецк,

*** Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара,
Воронежская обл., п. Рамонь

В статье представлен обзор применения методов *in vitro* для получения межвидовых гибридов растений семейства *Brassicaceae*. Показано, что сочетание методов оплодотворения *in vitro*, культивирования зародышей, завязей, семяпочек и соматической гибридизации открывает широкие возможности для получения ценных комбинаций признаков при получении межвидовых и межродовых гибридов у растений семейства *Brassicaceae*.

Основой любой селекционной программы является расширение диапазона генетической изменчивости с целью отбора желаемых признаков для улучшения возделываемых сортов сельскохозяйственных культур. Одним из методов решения данной задачи является отдаленная гибридизация. Этот вопрос особенно актуален для селекции рапса в связи с тем, что большинство современных сортов ярового рапса имеют узкую генетическую основу (Жидкова, Карпачев, 1996).

С помощью отдаленной гибридизации для данной культуры возможно повысить урожайность, устойчивость к вредителям и болезням, улучшить жирнокислотный состав масла семян, увеличивая содержание олеиновой и линолевой кислот и уменьшая содержание линоленовой кислоты, получить семена с желтой семенной оболочкой, характеризующихся улучшенным качеством масла (в отличие от темноокрашенных) и т. д. Однако лишь ограниченное число межвидовых и межродовых скрещиваний в семействе *Brassicaceae* может привести к получению полноценных гибридных растений. Трудности создания отдаленных гибридов обусловлены барьерами несовместимости, которые выражены между растениями разных таксономических групп с момента опыления, а затем проявляются на протяжении всего онтогенеза гибридных растений.

Для преодоления естественных барьеров несовместимости разработаны биотехнологические методы изолирования и выращивания в условиях

in vitro незрелых и зрелых зародышей, завязей и семяпочек, что позволило получить фертильные растения межвидовых и межродовых гибридов многих важных сельскохозяйственных культур: озимой пшеницы (Барабанова и др., 1988), ржи (Першина и др., 2003), хлопчатника (Азизходжаев, Даминова, 1988), кукурузы (Прасад и др., 1988), томата (Тодераш, 1988), лука (Титова, 1988) и других.

Цель настоящего обзора — показать возможности использования методов *in vitro* в получении межвидовых и межродовых гибридов у растений семейства *Brassicaceae*.

Первый фертильный аллополиплоидный капустно-редечный гибрид получен Г. Д. Карпеченко в 1927 году, который и показал причины нескрещиваемости разных видов и пути ее преодоления (Карпеченко, 1971).

Большие перспективы при неспособности пыльца к прорастанию открывает метод опыления рыльца, верхушки завязи (после удаления рыльца или столбика) или непосредственно изолированной завязи в условиях *in vitro*. Этот метод используется для преодоления презиготического барьера несовместимости, выражающегося в неспособности пыльца прорасти на рыльце пестика, а пыльцевых трубок достигать семяпочки из-за чрезмерной длины столбика или медленного роста пыльцевых трубок или разрывов пыльцевых трубок в столбике. Возможность оплодотворения в условиях культивирования изолированных семяпочек возрастает при удалении рыльца, столбика, стенок завязи (Першина, Шумный, 1991).

Опыление и оплодотворение *in vitro* оказалось необходимым для создания отдаленных гибридов между *Brassica napus* и *B. oleracea*, *Arabis caucasica*, *Diplotaxis tenuifolia*, *Moricandia arvensis*, *Sisymbrium loeselli* и *Sinapis alba*. Оплодотворенные завязи и развивающиеся зародыши культивировали на питательной среде MS с добавлением никотиновой кислоты и миоинозитола (Zenkeler, 1990).

Успех оплодотворения определяется совместимостью мужского и женского растений, в то время как выживание образовавшегося в результате оплодотворения зародыша обусловлено как нарушениями в клетках самого зародыша, так и отрицательным влиянием на их формирование аномально развивающихся эндоспермов и тканей, окружающих зародышевый мешок.

С целью преодоления постгамной несовместимости во многих экспериментах по созданию отдаленных гибридов растений успешно используется метод культуры зародышей, или эмбриокультуры. Данный метод для получения межвидовых гибридов растений семейства *Brassicaceae* первым использовал в 1959 году Nishi S. (цит. по Gowers et al., 1999).

Барьер несовместимости при развитии гибридного зародыша часто возникает на средних и поздних стадиях эмбриогенеза. Обычно это проявляется в нарушении развития эндосперма или полном его отсутствии, что приводит к гибели зародышей. Специально подобранный состав компонентов питательных сред для культивирования незрелых зародышей предоставляет все необходимые вещества для нормального развития зародыша и, таким образом, заменяет эндосперм. Несмотря на то, что состав питательных сред варьирует в зависимости от вида культивируемых зародышей, очевидно, что чем менее развит зародыш, тем выше требования к составу питательных сред. Например, если относительно зрелые зародыши можно выращивать на средах только с добавлением солей и сахарозы, то для нормального развития зародышей, изолированных на ранних стадиях, необходимы витамины, аминокислоты, фитогормоны, а также сложные комплексные добавки в виде экстракта дрожжей, гидролизата казеина, кокосового молока и др. Полученные гибридные растения доращивают в условиях теплиц (Атанасов, 1993).

С использованием эмбриокультуры *in vitro* были получены гибриды от скрещивания горчицы абиссинской (*B. carinata*) с сурепицей яровой (*B. campestris*) для увеличения генетического разнообразия

внутри рода *Brassica* (Starzycki, Krzymanski, 1987), дикого вида *Diplotaxis siifolia* и культивируемых видов *Brassica*: *B. juncea* и *B. napus* (Batra et al., 1990). Также с помощью эмбриокультуры были получены гибриды в комбинациях скрещивания видов рода *Brassica* и *Raphanus* (Tang, Williams, 1988), видов рода *Sinapis* и *Brassica napus* (Mathias, 1991; Momotaz et al., 1998), *Eruca sativa* x *B. rapa* (Robers et al., 1999), *B. oleracea* x *Raphanus sativus* (Sarashima et al., 1980), *Diplotaxis tenuisiliqua* x *B. campestris* (Sarmah, Sarla, 1998), *B. napus* и *B. juncea* (Bajaj et al., 1986; Zhang et al., 2003).

Получение отдаленных гибридов с помощью культивирования зародышей *in vitro* играет немалую роль для повышения устойчивости к биотическим и абиотическим факторам. Например, реципрокные скрещивания горчицы белой (*Sinapis alba* L.) с рапсом (*Brassica napus* L.) проводили для повышения устойчивости к *Alternaria* (Ripley, Arnison, 1990; Brown et al., 1997), *B. napus* с *B. oleracea* с целью переноса устойчивости к триазину (Ayotte et al., 1987), *B. napus* с *B. juncea* и *B. carinata* для переноса устойчивости к *Phoma lingam* (Sacristan, Gerdemann, 1986). Гибриды *Brassica napus* x *Brassica oleracea* характеризовались устойчивостью к тле (Quazi, 1988; Gowers, Christey, 1999), а гибриды от скрещивания *Eruca sativa* и *B. campestris* — не только устойчивостью к тле, но и высокоурожаем (Agnihotri et al., 1990). Помимо этих признаков, гибриды от комбинации скрещивания *B. juncea* x *B. tournefortii* проявили также устойчивость к засухе (Goyal et al., 1997; Kumar et al., 2001), а гибриды *B. oleracea* и *B. campestris* — холодоустойчивость (Kudou et al., 1995).

Кроме того, в Германии разработана система успешного переноса ЦМС от редиса к рапсу методом культуры зародышей. Paulmann W., Robbelen G. (1988) не только перенесли гены восстановления фертильности редиса в рапс, но получили линии с мужской стерильностью, имеющие зеленые хлопчатые при низких температурах (Paulmann, Robbelen, 1988).

С применением эмбриокультуры были созданы ресинтезированные формы *Brassica napus* L., что позволяет само его эволюционное происхождение (Frandsen, 1947; Rudolf, 1950; Olsson, 1953, 1960; Akbar, 1987). Скрещивания *Brassica campestris* и *B. oleracea* с помощью культуры зародышей проводили во многих странах: в Японии с целью получения кочанного типа рапса (Nishi et al., 1962; 1970), Германии — для изменения биохимического состава масла (Gland, 1982), Польше (Barci-

cowska et al., 1987), США (Ozminkowski, Jourdan, 1994), Венгрии (Gyulai, 1992) — для получения желтоокрашенных семян и т.д.

С помощью эмбриокультуры во ВНИПТИР (Липецк) получены ресинтезированные формы рапса. Среди них выявлены низкорослые с ранним сроком созревания образцы, а также линии с увеличенным содержанием олеиновой кислоты с 52—61% до 68,3% (Жидкова, Муравлев, 1993; Жидкова, 1997; Жидкова, Карпачев, 2000).

В селекцию на желтосемянность вовлекаются не только ресинтезированные формы, но и другие виды, например, *Brassica carinata*. Главной целью комбинации скрещивания *B. oleracea* ($2n = 20$) x *B. carinata* ($2n = 34$) было получение желтосемянных форм *B. oleracea*, которые после скрещивания с желтосемянной *B. campestris* дали бы рапс с желтой семенной оболочкой. У 8 из полученных растений число хромосом варьировало от $2n = 22$ до $2n = 28$ (Barcicowska et al., 1987).

Если гибридные зародыши абортируют на очень ранних стадиях развития, то изолирование их и культивирование в условиях *in vitro*, как правило, не дает положительных результатов. Нормальное развитие эмбрионов в этом случае возможно при изолировании семян. Основные преимущества этого метода состоят в том, что состав используемых питательных сред более прост, чем при культивировании незрелых зародышей, более того, семена выделяются намного легче, чем незрелые зародыши. Среда Нича является основной средой для культивирования семян, однако чаще используют среды с более высоким содержанием солей (Вајај et al., 1986), что исключает необходимость добавления таких комплексных компонентов, как дрожжевой экстракт, гидролизат казеина, кокосовое молоко.

Изучение эффективности использования методов изолированных семян, зародышей и завязей проводили на гибридах, полученных в скрещиваниях между различными подвидами *B. campestris*, видами *B. oleracea*, *B. napus*, *B. juncea* и *Raphanus sativus*. Оказалось, что культивирование семян было предпочтительнее перед культивированием зародышей и завязей по частоте образования гибридов при использовании *B. oleracea* в качестве женского компонента скрещивания. При использовании *B. oleracea* в качестве пыльцевого родителя культивирование семян привело к лучшим результатам, чем культивирование зародышей, но уступало культивированию завязей (Takeshita, 1980).

С помощью культуры семян получены гибриды как в межвидовых скрещиваниях, например, между *B. campestris* и *B. oleracea* (Diederichsen, Sacristan, 1994), *B. oleracea* и *B. campestris* (Hossain et al., 1988), так и межродовых между *Raphanus sativus* и *B. campestris* (Kaneko et al., 1996), *B. oleracea* и *R. sativus* (Hossain et al., 1990), *Erucastrum abyssinicum* и *B. oleracea* (Sarmah B. K., Sarla, 1998). Также с применением культуры семян проводилась межвидовая гибридизация *B. napus* с *B. juncea* и *B. carinata* с целью передачи рапсу устойчивости к *Phoma lingam* (Gerdemann, Sacristan, 1986).

С использованием данного метода во ВНИПТИР получены гибриды от реципрокных межвидовых скрещиваний рапса F_5 (Харьковская 6 x Наппа) с горчицей сарептской (сорт ВНИИМК 13) и межродовых скрещиваний рапса F_3 [(6В x F(СНк198 x L159) x (ВНИИМК 162xВНИИМК 109)] с горчицей белой (R 166). Среди них выявлены устойчивые к тле и с ранним сроком созревания образцы (неопубликованные данные). Выявили, что оптимальным сроком введения зародышей изучаемых отдаленных гибридов семейства *Brassicaceae* в культуру является 13 день после опыления. При скрещивании горчицы белой с рапсом наибольший выход проростков (1,9%) получили при использовании *B. napus* в качестве материнского компонента. В скрещиваниях с горчицей сарептской максимальную частоту образования проростков (16,4%) обнаружили в случае, если *B. napus* взят в качестве отцовской формы (Котлярова, 2006).

В тех случаях, когда попытки культивирования зародышей и семян оказываются безуспешными, нередко позволяет достичь желаемого результата культура завязей (Rangan, 1982). Так, триплоидный гибрид *Brassica* (*B. chinensis* x *B. pekinensis*) удалось получить только с помощью данного метода, поскольку зародыши в культуре были нежизнеспособны (Inomata, 1968).

В Японии получены межвидовые гибриды *B. campestris* x *B. oleracea* методом культуры завязей *in vitro* (Inomata, 1978). Используемая для этого среда Уайта, дополненная 300 мг/л гидролизата казеина, 50 мг/л сахарозы, 8 мг/л агара, с успехом применялась и в других случаях (Jahier et al., 1987). Например, при скрещивании *Brassica juncea* x *B. campestris* от выращенных на данной среде гибридов было получено больше семян, чем на других средах (4 модифицированных среды Мурашиге и Скуга) (Mohapatra D., Vajaj, 1988). Приме-

нение этой среды или ее модификаций при культивировании завязей способствовало также получению межвидовых гибридов *Brassica campestris* x *B. cretica* (Inomata, 1985), *Brassica campestris* x *B. bourgeauii* (Inomata, 1986), *Brassica campestris* x *B. montana* (Inomata, 1987), *Diplotaxis eruroides* x *Brassica napus* (Delounne et al., 1989), *Brassica juncea* x *Brassica tournefortii* (Yadav et al., 1991).

Использование культуры оплодотворенных завязей в скрещивании *Moricandia arvensis* с видами *Brassica* привело к созданию форм с более низким уровнем фотодыхания (Takahata, Takeda, 1990), а в скрещивании рапса с черной горчицей — передаче устойчивости к *Phoma lingam* (Jahier et al., 1987).

Помимо рассмотренной выше половой гибридизации большие перспективы в получении отдаленных гибридов открывает соматическая гибридизация — слияние изолированных протопластов соматических клеток. В результате объединения растительных геномов (ядер и цитоплазмы) возникают уникальные возможности для получения новых комбинаций генов, которые очень трудно получить с применением классических методов генетики и селекции, но они могут представлять практический интерес для селекции. Например, перенос цитоплазматических генов ЦМС и генов восстановления фертильности от *Moricandia arvensis* к *Brassica juncea*, стал возможен с помощью соматической гибридизации (Prakash, 1998). Кроме этого, применение метода слияния протопластов позволило получить жизнеспособные межродовые гибриды между горчицей белой (*Sinapis alba*) и рапсом (*Brassica napus*), резистентные к вредителям и болезням, которые трудно получить посредством половой гибридизации (Primard et al., 1988; Lelivelt et al., 1993; Chevre et al., 1994; Plumper, Sacristan, 1995). Также в результате соматической гибридизации были получены гибриды *Brassica napus* и *Brassica nigra*, устойчивые к *Phoma lingam* (Sjodin, Glimelius, 1989; Gerdemann-Knoerck et al., 1994), *Sinapis alba* и *Brassica oleracea*, устойчивые к альтернариозу (Hansen, Earle, 1997; Sigareva et al., 1999), *Brassica napus* и *Raphanus sativus*, устойчивые к поражению нематодами (*Heterodera schachtii* Schm.) (Lelivelt, Krens, 1992) и т. д.

Таким образом, сочетание методов оплодотворения *in vitro*, культивирования зародышей, завязей, семяпочек и соматической гибридизации открывает широкие возможности для получения ценных комбинаций признаков при получении

межвидовых и межродовых гибридов у растений семейства *Brassicaceae*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азизходжаев А. Пути получения гибридных растений и семян при отдаленной межвидовой гибридизации хлопчатника / А. Азизходжаев, Д.М. Даминова // Биология культивируемых клеток и биотехнология. — Новосибирск, 1988, Т. 2. — С. 204—205.
2. Атанасов А. Биотехнология в растениеводстве / А. Атанасов // Новосибирск, 1993. — 241 с.
3. Барабанова Е.А. Регенерация растений из культивируемых зародышей озимой пшеницы / Е.А. Барабанова, В.П. Банникова, В.С. Гирко // Биология культивируемых клеток и биотехнология — Новосибирск, 1988, Т. 1. — С. 110.
4. Жидкова Е.Н. Использование культуры *in vitro* для получения ресинтезированных форм рапса / Е.Н. Жидкова, А.А. Муравлев // Науч.-техн. бюл. ВНИИР им. Н. И. Вавилова. — 1993, Т. 230. — С. 30.
5. Жидкова Е.Н. Получение ресинтезированных форм ярового рапса с целью селекции на желтосемянность и жирнокислотность масла / Е.Н. Жидкова, В.В. Карпачев // Сельскохозяйственная биология. — 1996. — № 5: — С. 123—125.
6. Жидкова Е.Н. Теоретические и практические аспекты отдаленной гибридизации рапса / Е.Н. Жидкова // Генетика, 1997. — Т. 33, № 1. — С. 5—11.
7. Жидкова Е.Н. Основные направления работы с отдаленными гибридами ярового рапса во ВНИПТИР / Е.Н. Жидкова, В.В. Карпачев // Научное обеспечение отрасли рапсосоения и пути реализации биологического потенциала рапса. — Липецк, 2000. — С. 34 — 35.
8. Карпачев Г.Д. Теория отдаленной гибридизации / Г.Д. Карпачев. — М., 1971. — С. 147—209.
9. Котлярова Е.Б. Влияние направления скрещивания и сроков введения в культуру на развитие зародышей отдаленных гибридов семейства *Brassicaceae* / Е.Б. Котлярова // Проблемы преподавания молекулярной биологии, биотехнологии и вирусологии в высших педагогических учебных заведениях. — Орехово-Зуево, 2006. — С. 129—133.
10. Першина Л.А. Проблемы использования методов *in vitro* при отдаленной гибридизации злаков / Л.А. Першина, В.К. Шумный // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. — М, 1991. — С. 102—114.
11. Першина Л.А. Влияние хромосом ржи на особенности каллусогенеза и регенерации в каллусной культуре незрелых зародышей пшенично-ржаных замещенных линий *Triticum aestivum* L. сорта Саратовская 29 x *Secale cereale* L. сорта Онохойская / Л.А. Першина, О.Б. Добровольская, Т.С. Раковцева, Л.А. Кравцова, А.И. Щапова, В.К. Шумный // Генетика. — 2003. — Т. 39, № 8. — С. 1073—1080.
12. Прасад М. Сатъя. Действие генотипа и состава питательной среды на соматический эмбриогенез и регенерацию растений из незрелых зародышей / М. Сатъя Прасад, А.Н. Кравченко // Биология культивируемых

клеток и биотехнология. — Новосибирск, 1988. — Т. 1. — С. 154—155.

13. Титова И.В. Включение методов культуры *in vitro* в процесс создания исходного материала при межвидовой гибридизации лука / И.В. Титова // Биология культивируемых клеток и биотехнология. Новосибирск, 1988. — Т. 2. — С. 233.

14. Тодераш Л.Г. Использование культуры *in vitro* зародышей томата в селекции растений / Л.Г. Тодераш // Биология культивируемых клеток и биотехнология. — Новосибирск, 1988. — Т. 2. — С. 238—239.

15. Agnihotri A. Production of *Eruca-Brassica* hybrids by embryo rescue / A. Agnihotri, V. Gupta, M.S. Laksiimikumar, K.R. Shivanna, S. Prakash, V. Jagannathan // Plant. Breed. — 1990. — Vol. 104, № 4. — P. 281—289.

16. Akbar M.A. Resynthesis of *Brassica napus* for earliness and daylength insensitivity: Dissertation / M. A. Akbar. — Uppsala, 1987. — 75 p.

17. Ayotte R., Harney P. M., Souza Machado V. The transfer of triazine resistance from *B. napus* to *B. oleracea* L. I. Production of hybrids through embryo culture. *Euphytica*, 1987, 36: 615—624.

18. Bajaj Y.P.S. Interspecific hybridization of *Brassica napus* and *B. juncea* through ovary, ovule and embryo culture / Y.P.S. Bajaj, S.K. Mahajan, K.S. Labana // *Euphytica*. — 1986. — Vol. 35. — P. 103—109.

19. Barcicowska B. On the way to yellow seeded *Brassica napus* L. hybrids of *B. campestris* x *B. oleracea* and of *B. oleracea* x *B. carinata* yellow-seeded / B. Barcicowska, E. Zwiczynowska, M. Baliska // 7th Int. Rapeseed Congress. — Poznan, 1987. — Vol. 2. — P. 492—495.

20. Batra V. Intergeneric hybridization between *Diplo-taxis siifolia*, a wild species and crop brassicas / V. Batra, S. Prakash, K.R. Shivanna // *Theor. Appl. Gen.* — 1990. — Vol. 80, № 4. — P. 537—541.

21. Brown J. Intergeneric hybridization between *Sinapis alba* and *Brassica napus* / J. Brown, A.P. Brown, J.B. Davis, D. Erickson // *Euphytica*. — 1997. — Vol. 93, № 2. — P. 163—168.

22. Chen B.Y. Resynthesis of *Brassica napus* L. through interspecific hybridization between *B. alboglabra* Bailey and *B. campestris* L. with special emphasis on seed color / B.Y. Chen, S.K. Heneen, R. Jonsson // *Plant Breeding*. — 1988. — Vol. 101. — P. 52—59.

23. Chevre A.M. Comparison of somatic and sexual *Brassica napus* — *Sinapis alba* hybrids and their progeny by cytogenetic studies and molecular characterization / A. M. Chevre, F. Eber, E. Margale, M.C. Kerlan, C. Primard, F. Vedel, M. Delsen, G. Pelletier // *Genome*. — 1994. — Vol. 37, № 3. — P. 367—374.

24. Deloune R. Intergeneric hybridization of *Diplo-taxis erucoides* with *B. napus*. I. Cytogenetic analysis of F₁ and BC₁ progeny / R. Deloune, F. Eber, A.M. Chevre // *Euphytica*. — 1989. — Vol. 41, № 1—2. — P. 123—128.

25. Diederichsen E. The use of ovule culture in reciprocal hybridization between *B. campestris* L. and *B. oleracea* L. / E. Diederichsen, M.D. Sacristan // *Plant Breeding*. — 1994. — Vol. 113. — P. 79—82.

26. Frandsen K.J. The experimental formation of *Brassica napus* L. var. *oleifera* DC. and *Brassica carinata* Braun. / K.J. Frandsen // *Dansk Bot. Arkiv*. — 1947. — Vol. 12. — P. 1—16.

27. Gerdemann M. Attempts to transfer resistance to *Phoma lingam* from *Brassica juncea* and *B. carinata* to *B. napus* through interspecific hybridization followed by ovule culture / M. Gerdemann, M. Sacristan // *Gen. Manipulat. Plant Breed., Proc. Int. Symp.* — Berlin, New York, 1986. — P. 149—151.

28. Gerdemann-Knoerck M. Utilization of asymmetric somatic hybridization for the transfer of disease resistance from *Brassica nigra* to *Brassica napus* / M. Gerdemann-Knoerck, M.D. Sacristan, C. Braatz, O. Scheider // *Plant Breed.* — 1994. — Vol. 113. — P. 106—113.

29. Gland A. Gehalt und Muster der Glucosinolate in Samen von resynthetisierten *Rapsformen* / A. Gland // *Z. Pflanzenzücht.* — 1982. — Vol. 88. — P. 242—254.

30. Gowars S. Intercrossing *Brassica napus* and *B. oleracea* to introgress characters from kale to rape / S. Gowars, M.C. Christey // 10th Int. Rapeseed Congress. — Canberra, 1999. — P. 1147—1149.

31. Goyal R.K. Development of fertile *Brassica juncea* x *B. tournefortii* hybrids through embryo rescue / R.K. Goyal, J.B. Chowdhury, R.K. Jain // *Cruciferae Newslett. Eucarpia*. — 1997. — Vol. 19. — P. 19—20.

32. Gyulai G. Biotechnology of rapeseed (*Brassica napus* L.) / G. Gyulai, E. Kiss, L.E. Heszky // *Acta Agronomica Hungarica*. — 1992. — Vol. 41, № 3—4. — P. 277—287.

33. Hansen L.N. Somatic hybrids between *Brassica oleracea* L. and *Sinapis alba* L. with resistance to *Alternaria brassicae* / L.N. Hansen, E.D. Earle // *Theor. Appl. Gen.* — 1997. — Vol. 94. — P. 1078—1085.

34. Hossain M.M. Intergeneric and interspecific hybrids through in vitro ovule culture in the *Cruciferae* / M.M. Hossain, H. Inden, T. Asahira // *Plant Sci.* — 1988. — Vol. 58, № 1. — P. 121—128.

35. Hossain M.M. In vitro ovule culture of intergeneric hybrids between *Brassica oleracea* and *Raphanus sativus* / Hossain, H. Inden, T. Asahira // *Sci. hort. (Neth.)*. — 1990. — Vol. 41, № 3. — P. 181—188.

36. Inomata N. In vitro culture of ovaries of *Brassica* hybrids between 2x and 4x. I. Culture medium / N. Inomata // *Jpn. J. Breed.* 1968. — Vol. 18. — P. 139—148.

37. Inomata N. Production of interspecific hybrids in *Brassica campestris* x *B. oleracea* by culture in vitro of excised ovaries. I. Development of excised ovaries in the crosses of various cultivars / N. Inomata // *Jap. J. Genet.* 1978. — Vol. 53. — P. 161—173.

38. Inomata N. Interspecific hybrids between *Brassica campestris* and *B. cretica* by ovary culture in vitro / N. Inomata // *Cruciferae Newslett. Eucarpia*. — 1985. — Vol. 10. — P. 92—93.

39. Inomata N. Interspecific hybrids between *Brassica campestris* and *B. bourgeauii* by ovary culture in vitro. *Cruciferae Newslett. Eucarpia*. — 1986. — Vol. 11. — P. 14—15.

40. Inomata N. Interspecific hybrids between *Brassica campestris* and *B. montana* by ovary culture *in vitro* / N. Inomata // *Cruciferae Newslett. Eucarpia*. — 1987. — Vol. 12. — P. 8—9.
41. Jahier J. Extraction of disomic addition lines *B. napus* — *B. nigra* and introduction of *B. nigra* type *Phoma lingam* resistance to rapeseed / J. Jahier, A.M. Tanguy, A.M. Chevre, X. Tanguy, M. Renard // 7 Int. Rapeseed Congress. — Poznan, 1987. — Vol. 2. — P. 445—448.
42. Kaneko K. Production of interspecific hybrids between *Brassica campestris* and *B. oleracea* and intergeneric hybrids between *Raphanus sativus* and *B. campestris* by ovule culture / K. Kaneko, Y. Okafuji, O. Matsumoto // *Bull. Yamaguchi Agr. Exp. Sta.* — 1996. — Vol. 47. — P. 6—13.
43. Kudou R. Raising of *Brassica* interspecific hybrids by embryo culture / R. Kudou, Y. Fujime, N. Fukada // *Acta Hort.* — 1995. — Vol. 392. — P. 87—96.
44. Kumar R. Interspecific hybridization in *Brassica juncea* and *Brassica tournefortii* through embryo rescue and their evaluation for biotic and abiotic stress tolerance / R. Kumar, J.B. Chowdhury, R.K. Jain // *Indian J. Exper. Biol.* — 2001. — Vol. 39, № 9. — P. 911—915.
45. Lelivelt C.L. Transfer of resistance to the beet cyst nematode *Heterodera schachtii* Schm. into the *Brassica napus* L. gene pool through intergeneric somatic hybridization with *Raphanus sativus* L. / C.L. Lelivelt, F.A. Krens // *Theor. Appl. Gen.* — 1992. — Vol. 83. — P. 887—894.
46. Lelivelt C.L.C. Transfer of resistance of the beet cyst nematode (*Heterodera schachtii* Schm.) from *Sinapis alba* L. (white mustard) to the *Brassica napus* L. gene pool by means of sexual and somatic hybridization / C.L.C. Lelivelt, E.H.M. Leunissen, H. J. Frederiks, J.P.F.G. Helsper, F.A. Krens // *Theor. Appl. Gen.* 1993. — Vol. 85. — P. 688—696.
47. Mathias R. Improved embryo rescue technique for intergeneric hybridization between *Sinapis* species and *Brassica napus* I.R. Mathias // *Cruciferae Newslett.* — *Eucarpia*, 1991. — Vol. 14/15. — P. 90—91.
48. Mohapatra D. Hybridization in *Brassica juncea* x *B. campestris* through ovary culture / D. Mohapatra, Y.P.S. Bajaj // *Euphytica*. — 1988. — Vol. 37, № 1. — P. 83—88.
49. Momotaz A. Production of intergeneric hybrids between *Brassica* and *Sinapis* species by means of embryo rescue techniques / A. Momotaz, M. Kato, F. Kakihara // *Euphytica*. — 1998. — Vol. 103. — P. 123—130.
50. Nishi S. On the breeding of interspecific hybrids between two genomes, c and a of *Brassica* through the application of embryo culture techniques / S. Nishi, J. Kawata, M. Toda // *Japanese Journal of Breeding*. — 1959. — Vol. 8. — P. 215—222.
51. Nishi S. Studies on the embryo culture in vegetable crops. II. Breeding of interspecific hybrids between cabbage varieties and Chinese cabbage varieties through the application of embryo culture techniques / S. Nishi, J. Kawata, M. Toda // *Bull. Hort. Res. Sta.* — 1962 — A, № 1. — P. 111—156.
52. Nishi S. Studies on the embryo culture in vegetable crops. III. On the condition affect to embryoculture of interspecific hybrids between cabbage and Chinese cabbage / S. Nishi, M. Toda, T. Toyoda // *Bull. Hort. Res. Sta.* — 1970. A, №9. — P. 75—100.
53. Olsson G. Undersökning av självfertiliteten hos artificiell raps (Investigation of self compatibility of artificial rapeseed) / G. Olsson // *Kungl. Lantbr. Akad. Tidskr.* — 1953. — Vol. 92. — P. 394—402.
54. Olsson G. Species crosses within the genus *Brassica*. I. Artificial *Brassica juncea* Coss. / G. Olsson // *Hereditas*. — 1960. — Vol. 46. — P. 171—222.
55. Ozminkowski R.H. Comparing the resynthesis of *Brassica napus* L. by interspecific somatic and sexual hybridization 1. Producing and identifying hybrids / R.H. Ozminkowski, P. Jourdan // *J. Am. Soc. Hort. Sc.* — 1994. — Vol. 119, №4. — P. 808—815.
56. Paulmann W. Effective transfer of cytoplasmic male sterility from radish (*Raphanus sativus* L.) to rape (*Brassica napus* L.) / W. Paulmann, G. Robbelen // *Plant Breed.* — 1988. — Vol. 100, № 4. — P. 299—309.
57. Plumper B. Asymmetric somatic hybrids *Sinapis alba* (+) *Brassica napus* / B. Plumper, M.D. Sacristan // 9 Int. Rapeseed Congress. — Cambridge, 1995. — Vol. 4. — P. 1240—1242.
58. Prakash S. A *Moricandia arvensis* — based cytoplasmic male sterility and fertility restoration system in *Brassica juncea* I.S. Prakash, P.B Kirti, S.R. Bhat, K. Gai kwad, V.D.Kumar, V.L. Chopra // *Theor. Appl. Gen.* — 1998. — Vol. 97, № 3. — P. 488—492.
59. Primard C. Interspecific somatic hybridization between *Brassica napus* and *Brassica hirta* (*Sinapis alba* L.) / C. Primard, F. Vedel, C Mathieu // *Theor. Appl. Gen.* — 1988. — Vol. 75, № 4. — P. 546—552.
60. Quazi M.H. Interspecific hybrids between *Brassica napus* L. and *B. oleracea* L. by embryo culture / M.H.Quazi // *Theor. Appl. Gen.* — 1988. — Vol. 75, № 2. — P. 309—318.
61. Rangan T.S. Ovary, ovule, and nucellus culture / T.S. Rangan // *Experimental embryology of vascular plants.* — 1982. — P. 105—129.
62. Ripley Van L. Hybridization of *Sinapis alba* L. and *Brassica napus* L. via embryo rescue / Van L. Ripley, P.G. Arnison // *Plant Breed.* — 1990. — Vol. 104, № 1. — P. 26 — 33.
63. Robers M.B. Cytogenetics of *Eruca sativa* / *Brassica rapa* hybrids produced by embryo rescue / M.B. Robers, P.H. Williams, T.C. Osborn // *Cruciferae Newslett.* — *Eucarpia*, 1999. — Vol. 21. — P. 41—42.
64. Rudolf W. Über die erzeugung und die eigenschaften synthetischer Rapsformen / W. Rudolf // *Zschr. Pf. Zucht.* — 1950. — Vol. 29. — P. 35—54.
65. Sacristan M.D. Different behavior of *Brassica juncea* and *Brassica carinata* as sources of *Phoma lingam* resistance in experiments of interspecific transfer to *B. napus* I.M.D. Sacristan, M. Gerdemann // *Plant Breed.* — 1986. — Vol. 97, № 4. — P. 304—314.
66. Sarashima M. Intergeneric hybridization between *Brassica oleracea* and *Raphanus sativus* by embryo culture / M. Sarashima, Y. Matsuzawa, T. Kimura // *Cruciferae Newslett.* — *Eucarpia*, 1980. — Vol. 5. — P. 25.

67. Sarmah B.K. *Diplotaxis tenuisiliqua* x *Brassica campestris* hybrids obtained by embryo rescue / B.K. Sarmah, N. Sarla // Indian J. Genet. Pl. Breed. — 1998. — Vol. 58. — P. 35—39.
68. Sarmah B.K. *Erucastrum abyssinicum* x *Brassica oleracea* hybrids obtained by ovary and ovule culture / B.K. Sarmah, N. Sarla // Euphytica. — 1998. — Vol. 102. — P. 37—45.
69. Sigareva M. Introgression of resistance to *Alternaria brassicicola* from *Sinapis alba* to *Brassica oleracea* via somatic hybridization and back—crosses / M. Sigareva, J. Ren, E.D. Earle // Cruciferae Newslett. — Eucarpia, 1999. — Vol. 21. — P. 135—136.
70. Sjodin C. *Brassica naponigra*, a somatic hybrid resistant to *Phoma lingam* I C. Sjodin, K. Glimelius // Theor. Appl. Gen. — 1989. — Vol. 77, № 5. — P. 651—656.
71. Starzycki M. Production of *B. carinata* x *B. campestris* hybrids from crosses made in field and greenhouse conditions using *in vitro* embryo culture / M. Starzycki, J. Krzymanski // 7th Int. Rapeseed Congress. — Poznan, 1987. — Vol. 2. — P. 421—422.
72. Takahata Y. Intergeneric (intersubtribe) hybridization between *Moricandia arvensis* and *Brassica* A and B genome species by ovary culture / Y. Takahata, T. Takeda // Theor. Appl. Gen. — 1990. — Vol. 80. — P. 38—42.
73. Takeshita M. Application of ovule culture to the production of intergeneric or interspecific hybrids in *Brassica* and *Raphanus* IM. Takeshita, M. Kato, S. Tokumasu // Jap. J. Genet. — 1980. — Vol. 55, № 5. — P. 373—387.
74. Tang K. A comparison of ovary, ovule and embryo culture in producing hybrids from wide crosses among rapid cycling *Brassica* species and *Raphanus* I K. Tang, P. H. Williams // Cruciferae Newslett. — Eucarpia, 1988. — Vol. 13. — P. 82—83.
75. Yadav R.C. Interspecific hybridization in *Brassica juncea* x *Brassica tournefortii* using ovary culture / R.C. Yadav, P.K. Sareen, J.B. Chowdhury // Cruciferae Newslett. Eucarpia. — 1991. — Vol. 14/15. — P. 84.
76. Zenkteler M. In vitro fertilization of ovules of some species of *Brassicaceae* I M. Zenkteler // Plant Breed. — 1990. — Vol. 105, №3. — P. 221—228.
77. Zhang G.Q. Plant regeneration from the hybridization of *Brassica juncea* and *B. napus* through embryo culture / G.Q. Zhang, W.J. Zhou, H.H. Gu, W.J. Song, E.J.J. Momoh // Journal of Agronomy and Crop Science. — 2003. — Vol. 189, № 5. — P. 347—350.