

ИЗМЕНЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ ЗЕМЛЯНИКИ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУР

С.Л. Расторгуев

ФГОУ ВПО «Мичуринский государственный аграрный университет», г. Мичуринск

Рецензент О.С. Корнеева

Ключевые слова и фразы: земляника; каллус; листовые диски; соматональная изменчивость.

Аннотация: Представлены результаты изучения изменчивости генеративных органов (число цветоносов и ягод) у растений, полученных в тканевых культурах земляники. Отмечено сохранение соматональных изменений в R_1 и R_2 вегетативном поколении.

Одним из перспективных направлений сельскохозяйственной биотехнологии является использование в улучшении растений метода тканевых культур. Преимущество этого метода заключается в том, что культивирование изолированных соматических групп клеток и регенерация из них целых растений позволяет индуцировать соматональную изменчивость. Эта изменчивость основана на спонтанных генетических изменениях, возникающих в выращиваемых *in vitro* клетках.

Благодаря соматональной изменчивости можно получать улучшенные растения без использования методов традиционной селекции, не прибегая к переносу чужеродных геномов. Соматоналы характеризуются комплексностью изменений, затрагивающих структуру генома, хромосом и генов. Одна из общих черт этой изменчивости – повышенная нестабильность кариотипов.

На важность и перспективность получения соматональных вариантов путем культивирования растительных клеток *in vitro* указывала Р.Г. Бутенко (1990), так как те качества, которые они обнаруживают, уникальны. Эти изменения не могут быть индуцированы никаким другим путем, в связи с тем, что генетический механизм, определяющий изменение фенотипа растений – соматоналов, очень необычен.

Механизм соматональной изменчивости пока неизвестен, но показана важность в данном процессе двух факторов (Харченко, Глазко, 2006).

Расторгуев С.Л. – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры «Биология растений и селекция плодовых культур» МичГАУ, г. Мичуринск.

Первый фактор заключается в том, что культура клеток должна пройти через дезорганизованную фазу роста (например, каллус) для того, чтобы в дальнейшем появились варианты растений, отличные от прототипа. Второе существенное обстоятельство – частота и степень изменчивости, проявляющиеся в регенерирующих растениях, пропорциональны времени нахождения их в фазе неорганизованного роста.

Методы индукции и отбора соматоклональных вариантов для плодовых культур пока еще разработаны слабо (Высоцкий, 2006). По мнению автора, возможно, это связано с трудностями идентификации наследственной природы таких изменений, а с другой стороны, с различным поведением тканей *in vitro* и полностью развитых растений в полевых условиях. Исследованиями В.М. Тюленева, Н.В. Соловых (1999), С.Л. Расторгуева, В.М. Тюленева (2005) показано, что подавляющая часть измененных форм земляники, индуцированных из каллуса, не имеет практической ценности. Однако некоторые регенеранты представляют интерес для селекции, что свидетельствует о перспективности соматоклональной изменчивости для улучшения существующих сортов.

Нами была проведена оценка изменений в репродуктивных органах растений-регенерантов, полученных из листовых дисков сорта земляники Фейерверк и каллусных культур сорта Урожайная ЦГЛ. Контролем в данных экспериментах служили растения, индуцированные из меристематических верхушек указанных сортов и размноженных в условиях *in vitro*. У опытных и контрольных регенерантов была проанализирована динамика изменчивости таких признаков, как количество цветоносов и сформировавшихся ягод на одном растении в R_0 , R_1 , R_2 вегетативном поколениях.

Полученные результаты обобщены в табл. 1 и 2.

Анализ экспериментальных данных показал изменчивость в количестве цветоносов и ягод на одном растении-регенеранте. При этом спектр изменений у контрольных растений отличался от опытных.

В вегетативном поколении R_0 коэффициенты вариации по этим признакам были выше у растений, индуцированных непосредственно из листовых дисков сорта Фейерверк, чем в культуре апексов. При оценке крайних величин признака количества цветоносов на растении (или их полное отсутствие) выяснилось, что наибольшее значение этих показателей оказалось у опытных регенерантов. Изменчивость по количеству ягод на растении не столь ярко выражена.

Для того чтобы выяснить сохраняется ли изменчивость в потомстве, растения-регенеранты были вегетативно размножены и, таким образом, получено первое R_1 и второе R_2 вегетативные поколения.

Анализ вегетативно размноженных регенерантов R_1 показал, что коэффициент вариации по количеству цветоносов у опытных растений, в среднем за два года, имел некоторую тенденцию к увеличению (см. табл. 1). В вегетативном поколении R_2 коэффициент вариации по этому признаку у опытных и контрольных растений находился примерно на одном уровне (15,4 и 12,5 % соответственно). Более стабильным в вегетативных поколениях R_0 , R_1 , R_2 оказался признак количества плодов на растении.

Приведенные в табл. 2 данные анализа показывают, что варьирование признаков количества цветоносов и ягод у регенерировавших в каллусной

**Изменчивость в количестве цветоносов и ягод на растениях-регенерантах,
полученных из листовых дисков сорта Фейерверк**

Вегетативное поколение	Год	Вариант	Процент растений с цветоносами, шт.								Количество ягод на растении, шт.	Коэффициент вариации V, %	
			0	1	2	3	4	5	>5	Коэффициент вариации V, %			
R ₀	1993	Опыт	13,2	69,1	4,4	1,5	10,3	1,5	0	15,4	4,2	4,6	
		Контроль	1,5	16,2	60,3	13,2	8,8	0	0	3,2	6,7	2,9	
R ₁	1994	Опыт	0	53,0	25,8	4,6	12,1	1,5	3,0	20,3	5,4	5,9	
		Контроль		19,1	54,4	17,6	7,4	1,5	0	5,6	7,0	1,7	
	1995	Опыт		42,4	27,3	10,6	9,1	6,1	4,5	14,8	5,9	2,9	
		Контроль		19,1	48,5	23,5	7,4	1,5	0	13,6	7,0	2,6	
R ₂	1996	Опыт		31,8	25,8	21,1	7,6	7,6	6,1	15,4	5,4	2,3	
		Контроль		16,2	48,5	19,1	14,7	1,5	0	12,5	6,8	1,1	
Среднее за 4 года		Опыт		3,3	49,1	20,8	9,5	9,7	4,2	3,4	16,5	5,2	3,9
		Контроль		0,4	17,7	52,9	18,3	9,6	1,1	0	8,7	6,9	2,1

**Изменчивость в количестве цветоносов и ягод на растениях-регенерантах,
полученных из каллуса сорта Урожайная ЦГЛ**

Вегета- тивное поколение	Год	Вариант	Процент растений с цветоносами, шт.								Количество ягод на растении, шт.	Коэффициент вариации V, %
			0	1	2	3	4	5	>5	Коэффициент вариации V, %		
R ₀	1993	Опыт	3,6	20,0	21,8	18,2	12,7	12,7	11,0	20,2	6,2	19,3
		Контроль	0	16,4	34,5	43,6	5,5	0	0	6,8	6,8	4,0
R ₁	1994	Опыт	3,6	18,2	21,8	16,4	12,8	14,5	12,7	28,2	4,3	29,4
		Контроль	0	18,2	34,5	40,0	7,3	0	0	11,3	7,6	3,6
	1995	Опыт	3,6	16,4	21,8	25,5	9,1	10,9	12,7	30,0	2,5	24,5
		Контроль	0	10,9	43,6	29,2	14,5	1,8	0	2,7	6,6	4,5
R ₂	1996	Опыт	3,6		10,9	23,6	18,2	21,8	11,0	10,9	27,2	3,8
		Контроль	0	38,2		40,0	9,1	1,8	0	2,7	6,4	3,8
Среднее за 4 года		Опыт	3,6	16,8	22,3	19,6	14,1	12,3	11,8	26,4	4,2	22,6
		Контроль	0	14,1	37,7	38,2	9,1	0,9	0	5,9	6,9	4,0

культуре сорта Урожайная ЦГЛ растений выражено значительно сильнее, чем у контрольных. Причем, это наблюдалось у регенерантов всех изученных вегетативных поколений. В среднем за 4 года коэффициент вариации количества цветоносов в опыте составил 26,4 %, и ягод – 22,6 %, а в контроле 5,9 и 4,0 % соответственно.

В вегетативном поколении R_0 количество растений-регенерантов из каллуса, сформировавших более пяти цветоносов, составляли 11,0 %, и в последующих поколениях этот показатель был примерно на одном уровне (12,7–10,9 %), то есть соматональная изменчивость сохранялась. Аналогичная динамика отмечена и у регенерантов, у которых не происходило заложение и развитие цветоносов (3,6 %). В вегетативных поколениях R_1 и R_2 наблюдалась значительная изменчивость признаков количества цветоносов и ягод на опытных растениях по сравнению с контрольными.

Довольно низкий коэффициент вариации каждого признака в контроле показывает, что меристематические верхушки и индуцированные из них растения, по нашему мнению, генетически наиболее стабильны и организованны. У контрольных растений сортов Урожайная ЦГЛ и Фейерверк варьирование анализируемых признаков в среднем за 4 года было незначительным (для количества цветоносов $V = 5,9$ и $8,7$ %, ягод $V = 2,1$ и $4,0$ %). Вариабельность между такими растениями-регенерантами, по-видимому, не превышала уровня естественной изменчивости. Поэтому, изменения признаков репродуктивных органов, которые установлены у опытных растений в контроле, не отмечены.

По мнению О.П. Джонс (1987) изменчивость, которая наблюдается у растений-регенерантов можно отнести к двум категориям: 1) эпигенетическая изменчивость, в виде кратковременных или долговременных изменений; 2) генетическая изменчивость, возникающая в результате геномных, хромосомных, генных мутаций. Автор отмечает, что генетические изменения в клетках могут быть вызваны возможным мутагенным действием ауксинов, особенно 2,4-Д или цитокининов. Однако, наиболее вероятным источником генетической вариабельности могут быть изменения, происходящие при дифференцировке соматических клеток (Skirvin, 1978; Джонс, 1987).

Можно предположить, что у растений земляники, индуцированных из листовых дисков, мы столкнулись с проявлением эпигенетических (долговременных) эффектов. По-видимому, это связано с морфологическим строением тканей листа. Хлоренхима и эпидерма листа состоят из дифференцированных и специализированных клеток, которые генетически стабильны и, вероятно, изменчивость не связана с изменениями в ядерных структурах, то есть не сохраняется в цикле «клетка → растение → клетка». Подобные клетки в значительно меньшей степени реагируют на мутагенное действие факторов культуры *in vitro* (фитогормоны, продукты метаболизма, температура). Вместе с тем, при культивировании листовых эксплантов не исключена возможность получения мутантных растений из отдельных клеток хлоренхимы, содержащих спонтанные мутации, которые проявляются лишь при регенерации *in vitro*.

Каллусные клетки, в отличие от соматических клеток, возникают путем неорганизованной пролиферации и не являются дифференцированными. По каллусным культурам в литературе приводится много данных о кариотипических нарушениях, происходящих в их клетках. Поэтому, в клетках каллусной ткани сорта Урожайная ЦГЛ более вероятно возникновение генетических изменений и появление соматональных вариантов в виде мутантных растений-регенерантов. В результате чего, изолированные линии отличаются от прототипа по некоторым признакам, как это было показано в наших экспериментах.

Таким образом, анализ регенерантов, полученных в каллусной культуре земляники сорта Урожайная ЦГЛ, показал значительную изменчивость репродуктивных признаков, а именно, количества цветоносов ($V = 26,4\%$) и ягод ($V = 22,6\%$) на растении, которые сохранялись в вегетативных поколениях R_1 и R_2 , что указывает на возможность отбора соматональных вариантов. В меньшей степени выражено варьирование этих признаков у растений, регенерировавших в культуре листовых дисков сорта Фейерверк (для количества цветоносов $V = 16,5\%$, ягод $V = 3,9\%$). Тот факт, что изменения в растениях-регенерантах земляники имеют генетическую или эпигенетическую природу и сохраняют фенотипическое проявление при вегетативном размножении, указывает на возможность их использования для ускорения селекционного процесса земляники.

Variability of Strawberry Regenerants Produced by Method of Tissue Cultures

S.L. Rastorguev

Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk

Key words and phrases: strawberry; self-cloned variability; callus; sheet disks.

Abstract: The results of research into variability of reproductive organs (the number blooms and berries) of plants produced in tissue cultures of strawberry are presented. The preservation of self-cloned changes in R_1 and R_2 of vegetative generations is noted.

© С.Л. Расторгуев, 2008

