

УДК 631.532/535:57.083:575.2

КЛОНАЛЬНАЯ И МИКРОКЛОНАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ

Н.А. Рябушкина

*Институт биологии и биотехнологии растений, ул. Тимирязева, 45, Алматы, 050040,
Казахстан
natrya7@yahoo.com*

АБСТРАКТ

Клональное размножение подразумевает получение потомства индивидуумов, идентичного исходному растению, из соматических тканей без половой рекомбинации генетического материала. Тем не менее, общеизвестно, что при клональном размножении, как и при размножении через культуру *in vitro*, может иметь место фенотипическая изменчивость полученного растительного материала – клональная и соматическая изменчивость. Как клональная, так и соматическая изменчивость базируются на единых генетических и эпигенетических составляющих. Клональная изменчивость обусловлена соматическими мутациями и проявляется в изменении числа хромосом, изменениях в структуре хромосом в результате транслокаций, делеций, вставок и дупликаций, мутаций отдельных участков ДНК, изменениях в количестве копий и перемещений ретроэлементов. Тогда как эпигенетические проявления основаны на изменениях в ДНК метилировании, модификациях гистонов, регуляторной функции небольших интерферирующих РНК (siRNAs). Индукция альтернативных эпигенетических состояний при действии стрессовых факторов является источником новых аллелей. Сочетание двух составляющих изменчивости растений способствует динамике популяций, адаптации к стрессовым факторам среды и, в результате, видообразованию и эволюции. Наличие стадии неорганизованного роста в стрессовых условиях *in vitro* – один из значимых факторов соматической изменчивости. Клональная селекция культурных растений существенна в поддержании генетических ресурсов. Генетические и эпигенетические изменения выявляются с помощью соответствующих типов молекулярных маркеров. Выявление полезных, закрепляемых в геноме изменений является одной из задач современной биотехнологии.

Ключевые слова: вегетативное размножение, клональность, микроклоны, соматические мутации, эпигенетические метки, молекулярные маркеры, селекция.

CLONALITY AND SOMACLONAL VARIATIONS IN PLANTS

N.A. Ryabushkina

*Institute of Plant Biology and Biotechnology, 45 Timiryazev str., Almaty, 050040, Kazakstan
natrya7@yahoo.com*

ABSTRACT

Vegetative cloning is a form of asexual reproduction in plants by which offspring arise from somatic tissues of a single organism, and inherit the genes of that parent only. The importance of clonal growth should vary along environmental gradients. Microclonal propagation is multiplying stock plant material using tissue culture methods as

an alternative means of asexual multiplication of economically important plants. It is assumed that in both reproduction approaches the clonal descendants should be homogenous and identical to an initial plant. Nonetheless phenotypic differences are often detected in both cases. Either clonal or microclonal variability has been proposed by two possible origins: genetic and epigenetic components. On the one hand clonal variability caused by somatic mutations is often associated with point mutations, chromosomal rearrangements and recombination, altered sequence, copy number, and retroelements transpositions. Differences between clones can also result from epigenetic modifications: DNA methylation, histone modifications, positioning of nucleosomes, and siRNAs in response to the environment. The presence of a disorganized growth phase in stress conditions of tissue culture is considered as one of the factors that cause somaclonal variations. The combination of genotypic and epigenetic components of variability in plants promotes dynamics of populations, adaptation to environmental stress factors and as a result a speciation and evolution. Clonal selection in cultivated species is essential for genetic resources sustaining. Appropriate molecular markers provide researchers with requisite landmarks for elucidation of genetic and epigenetic variations. Identifying useful inherited changes in plants is one of the challenges of modern biotechnology.

Keywords: vegetative propagation, clonality, microclones, somatic mutations, epigenetic marks, molecular markers, selection.

ВВЕДЕНИЕ

Большинство покрытосемянных растений способны размножаться как половым, так и бесполом, вегетативным путем. Самый распространённый способ бесполого размножения – клональное размножение. Естественное вегетативное размножение, например, травянистых и древесных многолетних растений зачастую вовлекает структурные модификации стебля или корня, реже листьев. Размножаемые из стеблей, клубней, корневищ, луковиц, клубнелуковиц, в том числе и культурные растения, включают огромное филогенетическое, морфологическое и экологическое разнообразие [1]. Помимо клонального, вегетативное размножение подразумевает прививки, размножение из отдельных органов химерных растений, апомиксис и др. В случае клонального размножения подразумевается генетическая идентичность потомства, в остальных – она не поддерживается. Хотя понимание явления клональности еще только в стадии развития, исследования направлены на выявление значения клональности в динамике популяций, приспособляемости и распространении видов, видообразовании и эволюции. Вегетативное размножение имеет определенные экологические преимущества в условиях, неблагоприятных для полового размножения для приспособления к гетерогенным местообитаниям. Факторы топографии местности и другие барьеры, препятствующие обмену генов на больших пространствах, способствуют генетической дифференциации видов. Это имеет значение, например, в горных местностях, с изменением широты,

высоты. В общем, в местообитаниях, где половое размножение может быть ограничено, в том числе распространением пыльцы, распространением семян, отсутствием опылителей и др. Изменение климата также способствует развитию и изменению адаптивных стратегий размножения. В практическом аспекте клональное размножение позволяет сохранять специфический метаболизм, компонентный биохимический состав тканей и органов, фенотип культивируемых растений.

Наряду с черенкованием, отводками, глазками, делением корневищ, корней, клубней, луковиц и др., на практике используется также «культура тканей». Клонирование в биотехнологии подразумевает клонирование клеток и/или организмов. Вегетативное размножение через культуру тканей, так называемое микроклональное размножение, активно развивается уже несколько десятилетий. Клональное (микроклональное) размножение предполагает полное соответствие потомства исходному растению, тем не менее, как при клональном размножении, так и через культуру *in vitro* может проявляться определенная фенотипическая вариабельность полученного растительного материала – клональная и соматоклональная изменчивость. Проявление клональной изменчивости – это наличие сотен и тысяч сортов плодово-ягодных культур, винограда, декоративных видов растений, размножаемых вегетативно. Клональные вариации имеют фенотипическую, генотипическую и эпигенетическую природу. Фенотипическая изменчивость имеет морфологические, биохимические, физиологические проявления. Но в основе изменчивости – генетические и эпигенетические изменения. Генетические вариации обусловлены изменением числа хромосом (полиплоидия или анеуплоидия), изменениями в структуре хромосом (транслокации, делеции, вставки, дубликации), изменениями в последовательностях (мутации) отдельных участков ДНК, количестве копий и перемещениями ретротранспозонов. Эпигенетические проявления вызваны изменениями в метилировании и амплификации генов.

ЧТО ТАКОЕ КЛОНАЛЬНОСТЬ

Значительная часть клонально размножаемых культурных растений являются перекрестными многолетниками, поэтому они не могут сохранять «*true to type*» потомство при скрещиваниях. Клональное размножение таких видов помогает сохранять гетерозиготные генотипы с гибридной силой. При этом, что также немаловажно, предотвращается имбридинг [2]. Влияние различных климатических условий способствует развитию адаптивных механизмов размножения. Так, исследователи сравнили два близкородственных таксона, подвида *Banksia ionthocarpa*, произрастающие в контрастных местообитаниях и имеющие различные стратегии размножения [3]. В

исследовании было показано, что популяции, обитающие в жестких условиях среды и размножающиеся вегетативно, были представлены множеством несмешивающихся клонов с высоким уровнем генетической дифференциации в популяциях, избыточной гетерозиготностью и неравновесным сцеплением локусов (LD, Linkage disequilibrium), что предполагает исторически сложившийся высокий уровень клональности. В противоположность этому, таксон, распространенный в гораздо более благоприятных условиях, не характеризовался клональностью, высокой гетерозиготностью, имел низкий уровень генетической дифференциации между популяциями и LD. По мнению исследователей, развитие клональности в первом подвиде сопряжено с длительностью воздействия неблагоприятных условий обитания [3].

Используя микросателлиты, цитометрию и цитологию, исследователи попытались определить, в какой степени высокая доля (до 69%) триплоидных популяций *Populus tremuloides* в западной части США может быть обусловлена широтой, климатом, размером популяций и др. [4]. Оказалось, что триплоиды наиболее распространены в засушливых регионах Северной Америки. Таким образом, взаимоотношения между клональностью и плоидностью могут быть важным, широко распространенным компонентом географических, климатических закономерностей видообразования многолетних растений. Клональность играет решающую роль, в том числе и при одомашнивании растений и фермерской практике, в эволюции репродуктивных признаков, разнообразия стратегий цветения вплоть до невозможности самоопыления (подавление имбридинга) и высоких коэффициентов перекрестного опыления и др., гарантируя в результате репродукцию и аллельное разнообразие [1, 2]. Во времени, при отсутствии половой рекомбинации, выживание популяций обеспечивается вегетативным размножением, а генетическое разнообразие – соматическими мутациями [5]. Таким образом, разнообразие внутри популяций может оставаться высоким вследствие гетерозиготности, поддерживаемой клональным размножением [6].

Клональность проявляется в пространственной структуре популяций благодаря широкому диапазону стратегий роста. Фактор активного роста может иметь экологические преимущества для данного вида, оказывая даже отрицательное влияние на биоразнообразие растительных сообществ, поскольку клональные растения, имея способность к горизонтальному распространению, например, с помощью ризом и столонов, интенсивно размножаются на территориях с доступными ресурсами, вытесняя другие виды растений [7]. В конечном итоге в результате взаимодействия факторов среды и генетических факторов в клональных популяциях может происходить утрата полового размножения, что приводит со временем к определённому генетическому единообразию

внутри клонов. Так, находящийся под угрозой исчезновения кустарник *Acacia carneorum*, представленный небольшими изолированными популяциями с очень низкой способностью к половому размножению, показал в отдельных популяциях, способных к половому размножению, высокое клональное разнообразие и низкое в вегетативно размножающихся популяциях [8]. Исследователи объясняют это явление как следствием длительной истории вегетативного размножения, так и разрушением среды обитания вида. Единственная популяция *Haageocereus tenuis*, произрастающая на ограниченной территории 2 км² – триплоидная и размножающаяся, главным образом, фрагментацией стеблей и агамоспермией, была охарактеризована с помощью высоко вариабельных микросателлитов как один клон, что может говорить и о ее недавнем происхождении [9]. Хотя клональность может оказывать положительный эффект в небольших изолированных популяциях, подвергаемых действию стрессовых факторов, повышая аллельное разнообразие, полиморфизм и гетерозиготность, как в случае с эндемичным видом *Ruta microcarpa* [10], преимущества клонального роста утрачиваются во времени, приводя к моноклональным популяциям. Следует также помнить, что наряду с определенной утратой разнообразия и накопления вредоносных мутаций, одним из самых серьезных недостатков клонального размножения является передача потомству патогенов исходного растения: вирусов, бактерий, грибов и др. Чем старше клон, тем больше он несет различных патогенов.

Клональность характеризует группу (genet) идентичных растений, растущих в определенном местообитании, вегетативно происходящих от одного предшественника. Индивидуальное растение такой популяции определяется как рамета (ramet). Многие виды растений в природе обитают как клональные колонии. Термин «клон» используется в двух аспектах. С одной стороны, подразумевая физиологически связанные, но потенциально независимые раметы; с другой – генетически идентичные, но потенциально физиологически отдельные индивидуумы [11]. Различия в терминологии означают степень физиологической интеграции, т.е. объединяющих характеристик между раметами и, напротив, степень физиологических различий между ними. Чем меньше степень разделения между раметами, тем ближе физиологические характеристики клонов. Клональность подразумевает, что потомство индивидуумов получено из соматической ткани без прохождения через мейотический клеточный цикл и половую рекомбинацию генетического материала. При вегетативной репродукции наследуются признаки только одного исходного растения. С генетической точки зрения клональность – это «формирование» через вегетативное размножение группы генетически идентичных, физически отдельных индивидуумов, происходящих от единичного растения.

Клональная специфичность несет в себе физиологические, экологические, генетические и эволюционные аспекты. Фенотипическая вариабильность способствует адаптации, динамике популяций. Экологические аспекты проявляются во взаимоотношениях организмов между собой и с окружающей средой. В длительной перспективе вариабельность, закрепляясь в генотипах, является основой эволюции организмов [12]. Поскольку фенотипическая вариабельность описывается морфологическими, физиологическими, биохимическими, фенологическими, экологическими и др. характеристиками. Их проявление, в свою очередь, отчасти зависит от географических, агроклиматических условий произрастания растений, поэтому традиционные методы идентификации, например, сортов культурных растений в настоящее время дополняются молекулярной паспортизацией на основе различных типов полиморфных молекулярных маркеров [13]. Представляет интерес определение сцепления с определенными молекулярными маркерами признаков внутрисортной, клональной вариабельности, являющейся основой для повышения адаптивности и улучшения полезных признаков в селекционном процессе. В популяционной генетике молекулярные маркеры широко используются, например, для изучения эволюционных процессов в естественных популяциях [14].

Генетическая природа клональной изменчивости

До недавнего времени считалось, что единственная основа клональной изменчивости – генетическая. При вегетативном размножении и распространении клона увеличивается количество митотических делений клеток, что может увеличивать накопление мутаций. Последние повышают уровень генетического разнообразия. Но отсутствие полового размножения не выбраковывает вредоносные мутации. Многие вегетативно размножаемые сорта культурных растений изначально представляют собой клоны, отбираемые в различных географических местообитаниях культивирования того или иного вида. Как упомянуто выше, генетическая стабильность оценивается в настоящее время на уровне профилей ДНК с помощью молекулярных маркеров, на основе ПЦР. Предполагается, что для клонально размножаемых культурных растений каждый сорт генетически гомогенен. Тем не менее, близкородственные сорта могут различаться фенотипически благодаря одной выявленной мутации. Так, было показано, что сорт винограда *Pinot blanc*, имеющий белые ягоды, является мутантом сорта *Pinot noir* с темными ягодами [15]. Темный цвет ягоды определяется синтезом и накоплением антоцианинов. Ген *VvmybA1*, относящийся к классу Myb-регуляторных факторов

транскрипции, контролирует биосинтез антоцианинов. Сорт *Pinot noir* является гетерозиготой по этому гену с функциональной аллелью *VvmybA1c* и мутантной *VvmybA1a*. В аллели *VvmybA1a* ген претерпел изменения вследствие встраивания ретротранспозона в 5'-фланкирующей области вблизи кодирующей последовательности, что очевидно, и заблокировало экспрессию данной аллели. Сорт *Pinot blanc* утратил активную аллель *VvmybA1c*, а экспрессия *VvmybA1a* в нем заблокирована, как и в *Pinot noir*. В результате мутации в последовательности фактора транскрипции белый цвет ягоды *Pinot blanc* и обусловлен отсутствием синтеза антоцианинов. Используя 39 клонов четырех близкородственных сортов: *Pinot noir*, *Pinot blanc*, *Pinot gris*, *Pinot meunier* с помощью *SSR* и *eSNPs* маркеров исследователи выявили делеции в области хромосомы 2 вблизи *Myb* генов [16]. В *Pinot blanc* это была делеция, захватывающая области *VvMybA1* и *VvMybA2* генов, причем в обоих слоях (меристемы) химеры. В *Pinot gris* делеция была выявлена в функциональной аллели *VvMybA1*, и это были не равнозначные делеции для двух сортов, предполагая по определению авторов, независимое возникновение этих мутаций в исходном источнике. За тысячелетия развития культуры винограда созданы тысячи сортов, основой которых являются клональные варианты. Подчас сложно идентифицировать все клональные варианты внутри сортов и иногда даже дискриминировать сорта, поскольку фенотипические проявления могут варьировать в различных условиях среды. В качестве примера клональной вариабельности одного сорта винограда можно привести работу [17], в которой 10 клонов *Vitis vinifera* сорта *Cabernet franc* оценивались по ряду фенотипических и биохимических признаков: скороспелость, размер, биохимический состав ягоды, урожайность, качество вина, концентрация 3-изобутилметоксипиразина, определяющего специфический букет вина, а также устойчивость к милдью (*Plasmopara viticola*). Согласно разработанной исследователями стратегии генетическая идентификация сортовой и внутрисортовой, клональной вариабельности может быть осуществлена поэтапно с использованием нескольких типов молекулярных маркеров [18]. С помощью микросателлитов идентифицируются сорта; AFLP, SAMPL, M-AFLP и ISSR маркеры помогают выявлять внутрисортовую генетическую вариабельность и характеризовать клоны с различными морфологическими и фенологическими признаками и ампелографическими характеристиками.

Молекулярные маркеры помогают различить сорта культурных растений, которые затруднительно дискриминировать только по морфологическим признакам. Это характерно, например, для японской цветущей вишни (*Prunus subgenus Cerasus*), культивируемой в Японии более 1000 лет. Большинство сортов получены вегетативно в целях сохранения желаемых признаков. Для анализированных с помощью *SSR* маркеров

215-ти сортов только более чем половина из них отличались морфологически и имели уникальные генотипы [19]. В 22-х сортах даже *SSR* анализ выявил наличие множества клонов. Также была показана генетическая идентичность двух или более сортов в 23 группах, хотя некоторые из них, очевидно, были мутантами, поскольку имели отличающуюся морфологию. Очевидно, что определённые морфологические признаки культурных растений имеют важное экономическое значение. Это в значительной степени относится к агрономическому признаку карликовости, который коррелирует у злаков с продуктивностью и устойчивостью к полеганию. Так, у риса выявлены многие десятки рецессивных признаков карликовости и полукарликовости, среди них *sd37* мутант по гену *CYP96B4* (цитохром P450, 96B подсемейство), в белке которого треонин заменен на лизин [20]. Уменьшение высоты растений в мутанте обусловлено уменьшением количества паренхимных клеток в области апикальных меристем побегов. Одним из важнейших признаков для реализации продуктивности является соответствующее время цветения, контролируемое длиной дня и температурой. Вариации данного признака позволяют растениям адаптироваться к различным условиям произрастания. Он является наиболее важным в селекции растений, культивируемых в различных регионах. Например, в культуре риса разнообразие во времени цветения основано на полиморфизме в регуляторной области флоригена *RFT1*. Так, в условиях «длинного дня» мутация, проявляющаяся в замене аминокислоты (E105K), обусловила экстремально позднее цветение у сортов риса индика [21].

Не всегда использование определенных классов молекулярных маркеров позволяет различать сорта, имеющие клональное происхождение и клоны внутри сортов. Например, образцы двух близкородственных сортов, предположительно полученные из моноклона и являющиеся результатом мутации лесного ореха *Corylus avellana* северо-западной Италии, не различимые по 27 микросателлитам, имели тем не менее различные фенологические, органолептические и др. характеристики [22]. Эти различия были стабильны и поддерживались при размножении. По мнению исследователей, выявлению молекулярной природы изменчивости, которая представляется как кажущаяся генетическая гомогенность фенотипически различающихся образцов, могут помочь методы геномного секвенирования нового поколения (NGS). Другими словами, уровень выявляемой генетической вариабельности зависит от разрешающей способности используемых подходов. Разработка и применение методов детекции нуклеотидного полиморфизма – *SNP* (*single nucleotide polymorphisms*) или инсерционных *InDels* (*insertions-deletions*) маркеров позволяет выявлять изменчивость даже между генетически близкими образцами. Например, при сравнении двух близкородственных сортов риса *Otachi* и

Nipponbare с использованием 577 SNPs были идентифицированы различия по 132,462 SNPs, 16,448 вставкам и 19,318 делециям между этими сортами [23].

Эпигенетика клональной variability

Эпигенез определяет развитие организма через последовательность этапов дифференциации клеток и формирования органов. Другими словами, эпигенетические изменения имеют место на всех этапах онтогенетического развития растительного организма. В последнее десятилетие появляется все больше свидетельств, что и при стрессовых воздействиях факторов среды эти изменения могут быть источником закрепляемых в потомстве новых полезных признаков (*epialleles*) [24]. Эпигенетические явления – модификации гистонов, регуляция структуры хроматина, метилирование ДНК, приводящие к изменениям экспрессии тех или иных генов, могут опосредовать сохраняющуюся длительное время пространственную структуру ДНК [25]. Дискриминирование наследуемых эпигенетических признаков от «преходящих» эффектов, с одной стороны, и от соматических мутаций, с другой, не так просто, поскольку, как упомянуто выше, генетическая гомогенность может быть кажущейся [2] из-за недостаточной разработанности молекулярно-генетических подходов. Поэтому разделение на генетическую и эпигенетическую составляющие отчасти затруднено, поскольку в конкретных случаях остается невыясненным, являются ли причиной изменчивости определенные мутации и/или изменения эпигенетического статуса лежат в основе наследуемой передачи измененного эпигенетического состояния. Другими словами, молекулярная основа наследования эпигенетических признаков еще далека от понимания. Эпигенетическая природа изменчивости не всегда может быть подтверждена, поскольку недостаточно известно о механизмах митотической и/или мейотической наследуемости эпигенетических «меток»: измененных состояний гистонов, метилирования и генерации регуляторных коротких РНК (*small non-coding RNA, siRNA*).

В онтогенезе и при постоянно меняющихся внешних воздействиях в растениях происходит трансдукция множества сигнальных путей, приводящих к экспрессии, активации генов, кодирующих белки-эффекторы, определяющие как стадии развития, так и способствующие адаптации к изменяющимся условиям. Растения постоянно подвержены действию неблагоприятных факторов среды: температурные колебания, недостаток влаги, высокая инсоляция и др., вредители и патогены. Очевидно отрицательное влияние стрессовых факторов на реализацию физиологических функций растительного организма. Эпигенетические изменения, обусловленные стрессовыми

воздействиями, позволяют растению в краткосрочной перспективе адекватно реагировать на меняющийся фактор. Эти изменения пластичны и обратимы. Индукция альтернативных эпигенетических состояний гипер/гипометилирования при стрессах может явиться источником новых эпиаллелей [24, 26]. Изменившиеся под действием условий признаки, обусловленные как мутациями, так и эпигенетическими событиями, могут наследоваться в поколениях [27]. Эпигенетические механизмы, в частности, гипометилирование, способствуют повышению нестабильности генома, в том числе – активизации подвижности транспозонов, ретроэлементов, которыми представлена значительная часть генома. Но с другой стороны, транскрипционный и посттранскрипционный эпигенетический контроль, в частности, биогенез *siRNA*, имеют решающее значение в комплексе сложных молекулярных механизмов в ограничении перемещения ретротранспозонов [28]. В отличие от происходящих случайно наследуемых мутационных изменений, эпигенетическое наследование предполагает «направленное» действие фактора среды на наследуемую информацию, способствуя «прямой» передаче эффекта внешнего стрессового воздействия последующим поколениям. Эпигенетическое наследование, по-видимому, реализуется благодаря избеганию «стирания эпигенетических меток» во время гаметогенеза и оплодотворения. Экспериментально подтвержденных в растительных организмах примеров эпигенетического наследования в поколениях пока еще недостаточно. Тем не менее, индуцируемые внешними стрессами соответствующие изменения в эпигенетическом статусе: изменения в метилировании цитозина и преобразовании цитозина в тимин, реактивация транспозонов, все это, снижая стабильность генома, может увеличивать частоту мутаций, тем самым указывая на пространственно-временную связь между эпигенетическим и генетическим наследованием [28, 29].

ДНК метилирование – к настоящему моменту наиболее изученный тип эпигенетической модификации. Гипометилирование/гиперметилирование ДНК обусловлено в значительной степени модификациями гистонов, контролирующими «упаковку» ДНК, регулируя таким образом доступность к генам, которые должны или не должны транскрибироваться. Комплексы гистонов нуклеосом претерпевают различные посттрансляционные модификации, наряду с тем, что каждый гистон имеет варианты, кодируемые разными генами. Все это составляет так называемый «гистонный код», определяющий транскрипционное состояние и уровень экспрессии генов [30]. ДНК метилирование может служить и системой защиты против перемещения транспозонов. Перемещения ретротранспозонов, индуцирующие мутации, стимулируются не только стрессовыми факторами среды. Вполне вероятно, что нередкие в растениях вирусные

инфекции также ответственны за активацию транспозонов. Спонтанные ошибки ответственных за метилирование ферментов в воспроизведении исходного эпигенетического состояния гена приводят к эпигенетическим вариациям состояний метилирования одной и той же генетической последовательности в отдельных клетках одной и той же ткани и в результате – к фенотипическому разнообразию. К настоящему времени появляются свидетельства, подтверждающие, что альтернативное метилирование одного и того же гена приводит к появлению альтернативных фенотипов [28]. Альтернативные состояния метилирования гена могут проявляться в физиологии, морфологии, особенностях развития и др. Изменения эпигенетических состояний в высших растениях, обусловленные ДНК-метилированием (РНК-опосредуемое ДНК метилирование, RdDM), сопряжены с регуляцией *siRNAs* [31]. В экспериментах с растениями с нарушенным *siRNA*-биогенезом ретротранспозиция, вызванная стрессом высоких температур, наследовалась и передавалась в ходе дифференциации генеративных органов [32]. Этот факт подтверждает ключевую роль *siRNAs* в ограничении перемещения ретротранспозонов, провоцируемого стрессовыми факторами среды. Эпигенетическая вариабельность может быть значима для растений с ограниченным генетическим разнообразием и используется в будущем для селекционного улучшения культур при достижении лимитов генетических ресурсов. Поддержкой этому может служить, например, тот факт, что при обработке проростков риса азацитидином (ингибитором ДНК метилтрансфераз) у линии, «приобретшей» устойчивость к бактериальному патогену *Xanthomonas oryzae*, была выявлена корреляция признака устойчивости с гипометилированием промотора соответствующего гена устойчивости [33]. Гипометилирование данного гена и устойчивость к патогену передавались последующим поколениям.

Изменения климата и предсказываемое усиление аридности заставляет исследователей изучать внутривидовую клональную вариабельность растений с целью выявления адаптационного потенциала к водному дефициту. Так, в работе [32] был оценен потенциал средиземноморского кедра (*Pinus pinea* L.), вида с очень низкой генетической вариабельностью на основе молекулярных маркеров, но при этом широко представленного в различных климатических зонах Иберийского полуострова [34]. Вариабельность была оценена в рамках 20-ти различных клонов популяций полуострова по показателям общей биомассы, скорости фотосинтеза, устьичной проводимости, эффективности использования воды. Согласно проведенному компонентному анализу, клоны по этим показателям кластеризовались в различные группы, отражая высокую фенотипическую пластичность и внутривидовую вариабельность в ответ на водный

дефицит. Сравнительная характеристика транскриптома представителей рода *Populus*, длительно произрастающих в местообитаниях, подверженных различному уровню засухи, выявила обусловленность различий в транскрипции влиянием различных географических условий произрастания [35]. Эти проявления в изменениях транскриптома были более выражены у образцов, подверженных наиболее длительному влиянию конкретных стрессовых условий среды. Характерно, что различия в ДНК-метилировании генома соответствовали тренду изменений уровней транскрипции. Эти факты предполагают эпигенетическую основу взаимоотношений генотипа и среды в адаптации к конкретным условиям местообитания, представляя особую важность для длительно живущих видов растений, таких как представители изучаемого рода. Чем старше клон, тем с большей вероятностью рамоты из различных местообитаний, имея дивергентную историю, будут проявлять дивергентный транскриптом. Интересно, что сорта риса, различающиеся по устойчивости к засухе, и их гибриды проявили различный уровень метилирования в ответ на стрессовый фактор [36]. Гиперметилирование преобладало в чувствительных к засухе сортах, тогда как устойчивые генотипы имели сниженный уровень метилирования. Более того, стерильность колосков коррелировала положительно, тогда как количество зерен на метелку, вес 100 зерен, урожай на растение – отрицательно с гиперметилированием. Гибриды также показали гипометилирование в условиях засухи, что исследователи рассматривают как эпигенетический гетерозис. Исследователи полагают, что показатель метилирования может быть индикатором роли эпигенетической регуляции признаков, связанных с урожайностью в условиях засухи. Полиморфизм метилирования может быть использован в программах по изучению засухоустойчивости культур, в селекционных программах на эпигенетический гетерозис.

Полиморфизм, в основе которого мутации в соматических клетках, накапливается в ходе многочисленных циклов вегетативного размножения. Секвенирование нового поколения (NGS) при характеристике трех клонов *Pinot noir* позволило выявить три типа полиморфизма (SNPs, Indels, mobile elements) [37]. Но наиболее важным мутационным фактором среди них оказался полиморфизм, генерируемый мобильными элементами, транспозонами. Для изучения клональной вариабельности мобильные элементы, включая полиморфизм, обусловленный вставками, были классифицированы в качестве потенциальных маркеров (S-SAP). Четыре из них были использованы и подтверждены во всех клонах *Pinot noir*, зарегистрированных во Франции [38]. Более 95% винограда в питомниках Франции являются клонами. Использование MSAP (*methylation-sensitive amplified polymorphism*) маркеров показало наличие как стабильных, так и лабильных фрагментов в клонах *Pinot noir*. 23 стабильных фрагмента позволили дискриминировать

92,5% изучаемых клонов, обусловленных эпигенетической вариабельностью. Ретротранспозоны с повторностями в концевой области наиболее распространены в растительном геноме и играют важную роль в реорганизациях генома, индуцируемых внешними воздействиями. Их промоторы взаимодействуют с различными сигнальными путями, которые способствуют адаптации растения к стрессовым факторам среды [39]. Исследователи выделили из генома пшеницы ретротранспозон *Ty1-copia-like (Ttd1a)* и скринировали с помощью RT-PCR и S-SAP полиморфизм вставки Ttd1a при действии солевого и светового стрессов. Было установлено, что одна из вставок расположена вблизи гена устойчивости, т.е. активация и мобилизация этого элемента коррелировала со стрессами. Предположение, что транспозоны участвуют в эволюции путем обеспечения генов цис-регуляторными элементами, было подтверждено тем, что промоторы определенных транспозонов подобны таковым генов устойчивости растений и могут связывать индуцирующие защиту факторы транскрипции [40]. СААТ последовательность в промоторе ретротранспозона *Ttd1a* вовлекалась в связывание ДНК и ядерного белка при стрессах и тем самым регулировала *Ttd1a* активность (лиганд-зависимая активация при действии стресса).

Соматоклональная изменчивость

Системы, основанные на культуре растительных клеток и тканей, представляют огромный потенциал для массового клонального размножения, генной инженерии, синтеза и накопления ценных метаболитов и др. [36, 41]. Уже несколько десятилетий технологии культивирования *in vitro* используются как для размножения элитного материала, так и для выявления новых клональных вариантов, в основе которых соматоклональная изменчивость. Очевидно, что в первом случае подразумевается сохранение генетической стабильности после прохождения стадии *in vitro*. В то время как получение соматоклонов возможно только при генетической вариабельности, нестабильности, которая есть результат действия условий и компонентов среды культивирования, используемого генотипа и экспланта, количества пассажей, продолжительности нахождения в условиях культуры и др. Частота и доминантность мутаций в культуре выше, чем при других формах мутагенеза, и эти мутации могут проявляться быстрее в ограниченном пространстве и времени культуры [36]. Это обусловлено тем, что количество клеток в популяции *in vitro* после двадцати делений увеличивается до 10^6 раз. Вероятно, причины кажущегося противоречия двух обозначенных выше целей применения культуры тканей и неудач в получении желаемого

результата – в недостаточном понимании молекулярных механизмов процессов, происходящих в растительных клетках в условиях *in vitro*, таких как деление, дифференциация и морфогенез, а также изменений генома в ответ на стрессовые воздействия. Отделение экспланта от исходного растения, помещение в асептические условия с экзогенными источниками неорганических элементов, гормонов, витаминов, источников углерода, окислительно-восстановительный потенциал среды, температура, качество света, фотопериод – все эти факторы вызывают неизбежное перепрограммирование клеточных процессов, физиологии, метаболизма, что подтверждается на уровне рецепторов, таких как киназы, факторов транскрипции, структурных белков и ферментов [42]. Кроме того, при массовом микроклональном размножении зачастую не учитывается скрытая, фенотипически не проявляющаяся клональная вариабельность исходных растений. Использование культуры *in vitro* для анализа физиологической, биохимической и молекулярной составляющих регуляции процессов развития и ответов на стрессовые воздействия представляется исследователям крайне перспективным, что в результате приведет к более осмысленным практическим приложениям. С практической точки зрения, разработка стабильных и эффективных протоколов регенерации важных сельскохозяйственных культур и ценных диких видов растений, и, с другой стороны, выявление причин полезных, закрепляемых в геноме изменений являются востребованными направлениями современной биотехнологии.

Особенность растительных клеток в культуре – это способность переходить из одного состояния дифференциации в другое согласно программе развития растительной ткани и/или органа, и/или «возвращаться» в дедифференцированное состояние, образуя каллусную ткань. Растительные клетки в культуре проявляют генетическую и эпигенетическую нестабильность, что приводит к далеко не всегда полезным закрепляемым изменениям – это многократно подтверждаемый факт. Проблема соматоклональной вариабельности остается актуальной на протяжении многих десятилетий. Наследуемая вариабельность после культуры *in vitro*, проявляющаяся фенотипически, генотипически и эпигенетически, показана для многих видов растений, в том числе культурных: кукурузы, риса, ячменя, пшеницы, сои, кофе, картофеля, лука, моркови, банана, клубники, и др. [41, 42]. Очевидно, что первоначально соматоклональная вариабельность была отмечена на фенотипическом уровне. Молекулярные подходы позволили выявить изменения на генетическом уровне: абберации, перегруппировки хромосом, изменения в количестве хромосом, копий, изменения в амплификации генов, изменения в последовательностях участков ДНК, транспозиции и т.д. [43]. Для реализации потенциала жизнедеятельности клетки отвечают на факторы, имеющие место

в условиях *in vitro*, изменениями активностей соответствующих ферментов. В этом на уровне экспрессии генов решающую роль играет эпигенетическая регуляция.

Очевидно, что как и в составе нативных тканей исходного растения, в условиях *in vitro* процессы дифференциации определяются концентрациями и соотношениями гормонов [44]. В ответ на соответствующие гормональные стимулы в культуре растительные клетки из той или иной ткани растения могут начать дедифференцироваться, размножаться, дифференцироваться и в конечном итоге развиться в целое растение. При разработке протоколов микроклонального размножения при использовании тех или иных эксплантов в большинстве исследований в первую очередь испытывается влияние различных сочетаний и концентраций цитокининов и ауксинов, синтетических регуляторов роста на эффективность размножения. Концентрации гормонов ниже и выше оптимальных уровней, и тем более синтетические регуляторы обуславливают соматоклональные вариации в культуре *in vitro*. Влияние гормонов на соматоклональную вариабельность можно проиллюстрировать несколькими примерами. Различные концентрации 2,4-D и кинетина были использованы для получения каллусов и на стадии регенерации растеньиц риса сорта *Pokkali* [45]. Из 26-ти перспективных соматоклональных линий в 6-ом поколении были отобраны 4, в которых урожайность и связанные с ней показатели достоверно отличались в полевых условиях при засолении. Микроклоны хлопчатника, полученные из эмбриогенных каллусов с использованием двух комбинаций гормонов: 2,4-D и кинетин, ИБК (IBA) и кинетин – были генотипированы с помощью RAPD и SSR маркеров, в них было определено количество хромосом и уровень ploидности [46]. Был выявлен более высокий уровень генетической вариабельности в культуре с 2,4-D. При этом количество хромосом и ploидность были одинаковы в 25 эмбриогенных клеточных линиях, за исключением двух, в которых было утрачено по одной хромосоме (4-я и 5-я). С использованием молекулярных маркеров генотипические различия подтверждались разделением 67-ми, полученных посредством соматического эмбриогенеза регенерантов на два кластера, соответственно двум комбинациям гормонов. Потомство соматоклонов ржи, полученных из эмбриоидов на средах с двумя регуляторами роста: 2,4-D и дикамба (*dicamba*) было оценено по показателям высоты растений, количества колосьев, количества колосков, количества зерен в колосе, веса зерен в колосе, веса 1000 зерен и др. [47]. Вариабельность показателей превышала таковую в контроле. Позитивные изменения в 7 растениях на 2,4-D и 1 растении на дикамба передавались потомству. Из 5 из них были получены стабильные соматоклональные линии. Рассчитанная эффективность положительных соматоклональных изменений составляла 0,64%. Используя в качестве эксплантов листья и сердцевину растений сахарной свеклы генотипа S97US297,

исследователи использовали для каллусо- и органогенеза различные концентрации 2,4-D и ИУК (IAA) [48]. Полиморфизм полученных соматклонов оценивался с помощью RAPD and SSR маркеров и составлял 32 и 67%, соответственно. Определенные соматклоны проявляли устойчивость к грибковому патогену сахарной свеклы *Colletotrichum falcatum*. Уровень соматклональной вариации в культуре банана сорта 'Zelig' оценивался с помощью RAPD-PCR в зависимости от гормонов: ауксинов (IAA, IBA и NAA) и цитокининов (BA и TDZ), количества пассажей [49]. Было установлено, что при увеличении пассажей повышалась клональная вариабельность. Более 88% соматклонов приобрели признак карликовости, что коррелировало с отсутствием в них соответствующего бэнда, характерного для нормальных растений. Важно иметь в виду, что не только гормоны, но и другие компоненты среды культивирования могут влиять на соматклональную вариабельность. Например, изменение концентрации железа привело к появлению ряда наследуемых вариантов окраски цветков *Torenia fournieri* Lind [50]. Неоднозначные данные для различных видов растений публикуются относительно влияния количества пассажей и продолжительности нахождения в условиях *in vitro*. Хотя в ряде работ не было выявлено микроклональной вариабельности даже при продолжительности нахождения *in vitro* в течение ряда лет, это может быть связано с использованными типами молекулярных маркеров. Так, в работе [51] в 24-летней культуре побегов гороха использование SSR, ISSR и IRAP (*inter-retrotransposon amplified polymorphism*) маркеров не выявило полиморфизма, тогда как AFLP и MSAP показали 11 и 18% полиморфизма, соответственно. При этом достоверных различий в глобальном статусе метилирования цитозина выявлено не было.

Большинство трансгенных растений проходят стадию *in vitro*. Для выяснения влияния этого этапа на растения-регенеранты исследователи используют сиквенирование генома, картирование с использованием маркеров. Было показано, что линии-регенеранты риса, как и нетрансформированные растения, на стадии каллуса характеризовались существенной утратой метилирования на участках цитозин, гуанин (CG) по сравнению с исходными растениями [52]. Эта утрата метилирования в значительной степени была связана с промоторами определенных белок-кодирующих генов и передавалась в поколениях, и более того, определенные участки генома были в большей степени подвержены деметилированию. В свою очередь, это было связано с потерей small RNA, а это влекло за собой утрату эпигенетических «меток». Наоборот, на участках СНН (где Н – аденин, тимин или цитозин), находящихся преимущественно в промоторах генов, наблюдалось гиперметилирование, но оно делиминировалось в последующих поколениях. Феномен деметилирования может объяснить, по мнению исследователей,

фенотипическую вариабельность растений, полученных *in vitro* [52]. Интересно, что в различных линиях гены с повышенной (*up-regulated*) экспрессией были различны. Очевидно, это косвенно проявляется в степени фенотипической выраженности соматоклональности. По определению исследователей, стадия *in vitro* оставляет после себя эпигенетический след, передающийся последующим поколениям. Как упоминалось выше, одной из составляющих феномена метилирования/деметиления может быть перемещение транспозонов. Анализ генома трех полученных регенерантов риса, происходивших из одного семени, выявил высокий уровень полиморфизма SNP, вставок и делеций (*Indels*) [53]. Наряду с этим, один транспозон *Tos17* из 43 анализированных имел отношение к соматоклональной вариации. Молекулярный спектр мутаций был аналогичен таковому спонтанных мутаций в *Arabidopsis thaliana*, однако интенсивность на сайт и генерацию в случае культуры ткани была в 248 раз выше, чем спонтанных мутаций в арабидопсисе. Существенному гипометилированию могут быть подвержены определенные участки гетерохроматина, тогда как эухроматин гиперметируется. Это было показано на клетках суспензионной культуры арабидопсиса [42]. ДНК-гипометилирование происходило вследствие транскрипционной активации специфических транспозонов, которые были связаны с уровнем 21-нуклеотидных siRNAs. Это предполагает вклад РНК-интерференции и модификации хроматина при эпигенетическом реконструировании генома вслед за активацией транспозонов.

Наличие стадии неорганизованного роста в культуре является одним из значимых факторов соматоклональной вариабельности. Это в свою очередь зависит от выбранного экспланта. Чем более организована, дифференцирована исходная ткань, тем больше вероятность наследуемых изменений при прохождении стадии дедифференциации, т.е. неорганизованного каллуса, суспензионной культуры клеток или эмбриогенного каллуса. Происходящие при этом соматоклональные изменения в большей степени обусловлены эпигенезом, чем мутациями [54]. В эксплантах с наименьшей вероятностью дезорганизации, содержащих меристему, таких как: апексы побегов, узлы побегов, аксилярные меристемы, почки – вероятность соматоклональных изменений не очень велика, поскольку происходит не дедифференциация, а скорее рост и развитие побегов из предсуществующих меристем. Генотипирование с использованием 27 RAPD + 8 ISSR маркеров микроклонов, полученных из зрелых узлов, семядолей и каллусов, не выявило вариабельности в первом случае, 2% микроклональной вариабельности из семядольных и 6% – из каллусных эксплантов [55]. Прохождение стадии дедифференциации необходимо избегать при введении в культуру химерных растений, меристема которых состоит из двух и более различных слоев и растения-регенеранты образуются из клеток одного или

другого слоя меристемы [56]. Например, виноград относится к **периклиальной** химере, меристема которого сформирована как минимум из двух слоев. При соматическом эмбриогенезе регенеранты представляют генотип, т.е. профиль ДНК одного из слоев, и соответственно фенотип, отличающийся от исходного растения. В случае же формирования побега из экспланта, содержащего меристему, с большой долей вероятности будет получен «*true-to-type*» генотип [57].

Истощение разнообразия генетических ресурсов диких видов растений, в первую очередь лекарственных, но также редких и исчезающих видов требует разработки биотехнологических подходов, с одной стороны для получения растительного сырья, с другой – сохранения биоразнообразия. И хотя стадия *in vitro* позволяет получать высокий коэффициент размножения, всегда существуют опасения в сохранении идентичности исходному материалу. С этой целью, как упоминалось выше, исследователи проводят анализ полученного материала с использованием тех или иных типов молекулярных маркеров. Использование, например, RAPD и ISSR по отдельности или в сочетании в целом ряде случаев подтверждает идентичность полученных через *in vitro* растений «донорным». Однако эти маркеры, основанные на выявлении изменений в последовательностях ДНК, не фиксируют возможных эпигенетически наследуемых изменений. Например, DAMD (*denaturation analysis of methylation differences*) маркеры оказались наиболее действенными, по сравнению с ISSR и RAPD, для выявления внутрисортовой изменчивости пяти видов *Cymbidium* [58].

Анализ множества проявлений соматической вариативности, выявленный во множестве экспериментальных работ, позволил исследователям [59] сформулировать обоснование степени и последствия этой вариативности, классифицировав изменения клеток *in vitro* следующим образом: «*true-to-type*», «нейтральные», «неблагополучные» (*deleterious*) и «полезные» (*beneficial*). В случае регенерации растений из первого типа клеток никакой соматической вариативности не наблюдается, но в процессе происходят обратимые эпигенетические модификации, обусловленные соответствующими стадиями развития исходного экспланта до растения-регенеранта. Нейтральные клетки дают начало организму без каких-либо видимых фенотипических изменений, хотя имеют место наследуемые альтернативные гены и/или метаболические пути. Третий тип клеток формирует растения с пониженным уровнем жизнеспособности. И только последний «*beneficial*» тип – клетки, дающие начало растениям с повышенными адаптационными способностями. Стадия каллуса обуславливает наибольшее количество аномалий. Однако не следует игнорировать и предсуществующую вариативность используемых эксплантов, особенно с эпигенетической точки зрения [59].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, механизмы изменчивости, заложенные в растительных организмах и реализуемые в ответ на изменения окружающей среды и, в конечном итоге, в эволюционном процессе, проявляются также и при микроклональном размножении, но с гораздо более выраженной интенсивностью, что может быть обусловлено комплексным действием целого ряда факторов *in vitro*. Степень их выраженности зависит от генотипа, степени дифференциации экспланта, состава среды, в первую очередь гормональных составляющих, условий и продолжительности культивирования и др. При размножении ценных генотипов, клонов, генетически трансформированных растений необходимо подбирать компоненты и условия *in vitro*, с большой долей вероятности позволяющие сохранить идентичность микроклонально полученных растений исходному материалу. Для подтверждения идентичности важно использовать «адекватные» типы молекулярных маркеров, которые, с одной стороны, способны подтвердить это соответствие исходным растениям, с другой – выявить возможные изменения на генетическом и эпигенетическом уровнях. При размножении культурных растений необходима также оценка сохранения в полевых условиях, для многолетних культурных растений по достижении стадии генеративного развития, хозяйственно ценных количественных признаков, морфологии, биохимического состава и др. в полученных через *in vitro* растениях.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Гранта 0048/ГФ по подприоритету: «Исследования в области продовольственной безопасности» Бюджетной программы 055, финансируемой Государственным учреждением «Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан».

ЛИТЕРАТУРА

1. Vallejo-Mar'in M., Dorken M.E., and Barrett S.C.H. *The Ecological and Evolutionary Consequences of Clonality for Plant Mating* // *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* – 2010. – Vol. 41. – P. 193-213.
2. McKey D., Elias M., Pujol B., Duputie A. *Tansley review. The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants* *New Phytologist.* – 2010. – Vol. 186. – P. 318-332.

3. Millar M.A., Byrne M., Coates D.J. The maintenance of disparate levels of clonality, genetic diversity and genetic differentiation in disjunct subspecies of the rare *Banksia ionthocarpa* // *Mol Ecol.* – 2010. – Vol. 19. – P. 4217-4227.
4. Mock K.E., Callahan C.M., Islam-Faridi M.N., Shaw J.D., Rai H.S., Sanderson S.C., Rowe C.A., Ryel R.J., Madritch M.D., Gardner R.S., Wolf P.G. Widespread triploidy in Western North American aspen (*Populus tremuloides*). *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7(10).
5. Van der Merwe M., Spain C.S., and Rossetto M. Enhancing the survival and expansion potential of a founder population through clonality // *New Phytologist.* – 2010. – Vol. 188. – P. 868-878.
6. Balloux F., Lehmann L., de Meeu's T. The population genetics of clonal and partially clonal diploids // *Genetics.* – 2003. – Vol. 164. – P. 1635-1644.
7. Eilts J.A., Mittelbach G.G., Reynolds H.L., Gross K.L. Resource Heterogeneity, Soil Fertility, and Species Diversity: Effects of Clonal Species on Plant Communities // *The American Naturalist.* – 2011. – Vol. 177. – P. 574-588.
8. O'Brien E.K., Denham A.J., Ayre D. J. Patterns of genotypic diversity suggest a long history of clonality and population isolation in the Australian arid zone shrub *Acacia carneorum* // *Plant Ecol.* – 2014. – Vol. 215. – P. 55-71.
9. Arakaki M., Speranza P., Soltis P.S., Soltis D.E. Genetic Variability of an Unusual Apomictic Triploid Cactus—*Haageocereus tenuis* Ritter—from the Coast of Central Peru // *Journal of Heredity.* – 2013. – Vol. 104. – P.127-133.
10. Meloni M., Reid A., Caujape J., Castells, Marrero A., Fernandez-Palacios J.M., Mesa-Coelo R.A., Conti E. Effects of clonality on the genetic variability of rare, insular species: the case of *Ruta microcarpa* from the Canary Islands // *Ecology and Evolution.* – 2013. – Vol. 3. – P. 1569-1579.
11. Herben T., Hara T., Marshall Ch., Soucupova L. *Plant Clonality: Biology and Diversity* // *Folia Geobot. Phytotax.* – 1994. – Vol. 29. – P. 113-124.
12. Angers B., Castonguay E., Massicotte R. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after // *Mol Ecol.* – 2010. – Vol. 19. – P. 1283-1295.
13. Nybom H., Weising K. *DNA-Based Identification of Clonally Propagated Cultivars* // *In Plant Breeding Reviews.* By Jules Janick. – 2011. – Vol. 34, Ch. 6. – P. 222-288.
14. Rozenfeld A.F., Arnaud-Haond S., Hernandez-Garcia E., Eguiluz V.M., Matias M.A. Serrao E. and Duarte C.M. Spectrum of genetic diversity and networks of clonal organisms // *J. R. Soc. Interface.* – 2007. – Vol. 4. – P. 1093-1102.

15. Yakushiji H., Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Jeong S.T., Sueda T., Mitani N., Azuma A. A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot Noir to white-skinned Pinot Blanc, is caused by deletion of the functional *VvmybA1* allele // *Bioscience, Biotechnol, Biochem.* – 2006. – Vol. 70. – P. 1506-1508.
16. Vezzulli S., Leonardelli L., Malossini U., Stefanini M., Velasco R., Moser C. Pinot blanc and Pinot gris arose as independent somatic mutations of Pinot noir // *Journal of Experimental Botany.* – 2012. – Vol. 63. – P. 695-709.
17. van Leeuwen C., Roby J.P., Alonso-Villaverde V., Gindro K. Impact of clonal variability in *Vitis vinifera* Cabernet franc on grape composition, wine quality, leaf blade stilbene content, and downy mildew resistance // *J Agric Food Chem.* – 2013. – Vol. 61. – P. 19-24.
18. Meneghetti S., Calò A., Bavaresco L. A strategy to investigate the intravarietal genetic variability in *Vitis vinifera* L. for clones and biotypes identification and to correlate molecular profiles with morphological traits or geographic origins // *Mol Biotechnol.* – 2012. – Vol. 52. – P. 68-81.
19. Kato Sh., Matsumoto A., Yoshimura K, Katsuki T., Iwamoto K., Tsuda Y., Ishio Sh., Nakamura K., Moriwaki K., Shiroishi T., Gojobori T., Yoshimaru H. Clone identification in Japanese flowering cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) cultivars using nuclear SSR markers // *Breeding Science.* – 2012. – Vol. 62. – P. 248-255.
20. Zhang J., Liu X., Li Sh., Cheng Zh., Li Ch. The Rice Semi-Dwarf Mutant *sd37*, Caused by a Mutation in *CYP96B4*, Plays an Important Role in the Fine-Tuning of Plant Growth // *PLOS ONE.* – 2014. – Vol. 9.
21. Ogiso-Tanaka E., Matsubara K., Yamamoto S., Nonoue Y., Wu J., Fujisawa H., Ishikubo H., Tanaka T., Ando T., Matsumoto T., Yano M. Natural variation of the *RICE FLOWERING LOCUS T 1* contributes to flowering time divergence in rice // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8.
22. Valentini N., Calizzano F., Boccacci P., Botta R. Investigation on clonal variants within the hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivar 'Tonda Gentile delle Langhe' *Scientia Horticulturae.* – 2014. – Vol. 165. – P. 303-310.
23. Arai-Kichise Y., Shiwa Y., Nagasaki H., Ebana K., Yoshikawa H., Yano M., Wakasa K. Discovery of genome-wide DNA polymorphisms in a landrace cultivar of Japonica rice by whole-genome sequencing // *Plant Cell Physiol.* – 2011. – Vol. 52. – P. 274-82.
24. Mirouze M., and Paszkowski J. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Current Opinion in Plant Biology.* – 2011. – Vol. 14. – P. 267-274.

25. Hauser M.-T., Aufsatz W., Jonak C., Luschnig Ch. Transgenerational epigenetic inheritance in plants // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2011. – Vol. 1809. – P. 459-468.

26. Chinnusamy V. and Zhu J.-K. Epigenetic responses to drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2009. – Vol. 12. – P. 133-139.

27. Paszkowski J. and Grossniklaus U. Selected aspects of transgenerational epigenetic inheritance and resetting in plants // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2011. – Vol. 14. – P.195-203.

28. Ito H., Gaubert H., Bucher E., Mirouze M., Vaillant I., Paszkowski J. An siRNA pathway prevents transgenerational retrotransposition in plants subjected to stress // *Nature*. – 2011. – Vol. 1472. – P. 115-119.

29. Jablonka E., Raz G. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution // *The Quarterly Review of Biology*. – 2009. – Vol. 84. – P. 131-176.

30. Rothbart S.B., and Strahl B.D. Interpreting the language of histone and DNA modifications // *Biochim Biophys Acta*. – 2014, Mar 12. – pii: S. 1874-9399(14)00052-2.

31. Zaratiegui M., Martienssen R.A. SnapShot: small RNA-mediated epigenetic modifications // *Cell*. – 2012. – Vol. 151. – P. 456-456.

32. Sanchez-Gomez D., Velasco-Condeb T., Cano-Martina F.J., Guevarac M.A., Cerverac M.T., Arandac I. Inter-clonal variation in functional traits in response to drought for a genetically homogeneous Mediterranean conifer // *Environmental and Experimental Botany*. – 2011. – Vol. 70. – P. 104–109.

33. Akimoto K., Katakami H., Kim H.-J., Ogawa E., Sano C.M., Wada Y., Sano H. Epigenetic inheritance in rice plants // *Ann Bot*. – 2007. – Vol. 100. – P. 205-217.

34. Vendramin G.G., Fady B., Gonzalez-Martinez S.C., Hu F.S., Scotti I., Sebastiani F., Soto A., Petit R.J. Genetically depauperate but widespread: the case of an emblematic Mediterranean pine // *Evolution*. – 2008. – Vol. 62. – P. 680-688.

35. Raj S., Bräutigam K., Hamanishi E.T., Wilkins O., Thomas B.R., Schroeder W., Mansfield S.D., Plant A.L., Campbell M.M. Clone history shapes *Populus* drought responses // *Proc Natl Acad Sci*. – 2011. – Vol. 108. – P. 12521-12526.

36. Gayacharan Joel A.J. Epigenetic responses to drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) // *Physiol Mol Biol Plants*. – 2013. – Vol. 19. – P. 379-387.

37. Carrier G., Cunff L., Dereeper A., Legrand D., Sabot F., Bouchez O., Audeguin L., Boursiquot J.M., This P. Transposable elements are a major cause of somatic polymorphism in *Vitis vinifera* L. // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7.

38. Ocaña J., Walter B., Schellenbaum P. Stable MSAP Markers for the Distinction of *Vitis vinifera* cv Pinot Noir Clones // *Mol. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 55. – P. 236-248.
39. Woodrow P., Pontecorvo G., Fantaccione S., Fuggi A., Kafantaris I., Parisi D., Carillo P. Polymorphism of a new Ty1-copia retrotransposon in durum wheat under salt and light stresses. *Theor Appl Genet.* – 2010. – Vol. 121. – P. 311-22.
40. Woodrow P., Pontecorvo G., Ciarmiello L.F., Fuggi A., Carillo P. Ttd1a promoter is involved in DNA-protein binding by salt and light stresses // *Mol Biol Rep.* – 2011. – Vol. 38. – P. 3787-3794.
41. Bairu M.W., Aremu A.O., Van Staden J. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods // *Plant Growth Regul.* – 2011. – Vol. 63. – P. 147-173.
42. Tanurdzic M., Vaughn M.W., Jiang H., Lee T.-J., Slotkin R.K., Sosinski B., Thompson W.F., Doerge R.W., Martienssen R.A. Epigenomic Consequences of Immortalized Plant Cell Suspension Culture // *PLoS Biology.* – 2008. – Vol. 6. – P. 2880-2895.
43. Lee M., Phillips R.L. The chromosomal basis of somaclonal variation // *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* – 1988. – Vol. 39. – P. 413-437.
44. Skoog F., Miller C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro // *Symp Soc Exp Biol.* – 1957. – Vol. 54. – P. 118-130.
45. Mandal A.B., Chowdhury B., Sheeja T.E. Development and characterization of salt tolerant somaclones in rice cultivar pokkali // *Indian J Exp Biol.* – 2000. – Vol. 38. – P. 74-79.
46. Jin S., Mushke R., Zhu H., Tu L., Lin Z., Zhang Y., Zhang X. Detection of somaclonal variation of cotton (*Gossypium hirsutum*) using cytogenetics, flow cytometry and molecular markers // *Plant Cell Rep.* – 2008. – Vol. 27. – P. 1303-1316.
47. Rakoczy-Trojanowska M. The effects of growth regulators on somaclonal variation in rye (*Secale cereale* L.) and selection of somaclonal variants with increased agronomic traits // *Cell Mol Biol Lett.* – 2002. – Vol. 7. – P. 1111-1120.
48. Shahid M.T., Khan F.A., Saeed A., Fareed I. Variability of red rot-resistant somaclones of sugarcane genotype S97US297 assessed by RAPD and SSR // *Genet Mol Res.* – 2011. – Vol. 10. – P. 1831-1849.
49. Bairu M.W., Fennell C.W., van Staden J. The effect of plant growth regulators on somaclonal variation in Cavendish banana (*Musa AAA* cv. 'Zelig') // *Scientia Horticulturae.* – 2006. – Vol. 108. – P. 347-351.
50. Nhut D.T., Hai N.T., Thu P.T., Thi N.N., Hien T.T., Tuan T.T., Nam N.B., Huy N.P., Chien H.X., Jain S.M. Protocol for inducing flower color somaclonal variation in *Torenia* (*Torenia fournieri* Lind.) // *Methods Mol Biol.* – 2013. – Vol. 11013. – P. 455-462.

51. Smykal P., Valledor L., Rodriguez R, Griga M. Assessment of genetic and epigenetic stability in long-term in vitro shoot culture of pea (*Pisum sativum* L.) // *Plant Cell Rep.* – 2007. – Vol. 26. – P. 1985-1998.

52. Stroud H., Ding B., Simon S.A., Feng S., Bellizzi M., Pellegrini M., Wang G.L., Meyers B.C., Jacobsen S.E. Plants regenerated from tissue culture contain stable epigenome changes in rice // *Elife.* – 2013. – Vol. 2.

53. Miyao A., Nakagome M., Ohnuma T., Yamagata H., Kanamori H., Katayose Y., Takahashi A., Matsumoto T., Hirochika H. Molecular spectrum of somaclonal variation in regenerated rice revealed by whole-genome sequencing // *Plant Cell Physiol.* – 2012. – Vol. 53. – P. 256-264.

54. Miguel C. and Marum L. An epigenetic view of plant cells cultured in vitro: somaclonal variation and beyond // *Journal of Experimental Botany.* – 2011. – Vol. 62. – P. 3713–3725.

55. Joshi P., and Purohit S.D. Genetic stability in micro-clones of *Feronia limonia* (L.) swingle derived from different pathways of micropropagation as revealed by RAPD and ISSR markers // *Acta Horticulturae.* – 2011. – Vol. 961. – P. 217-224.

56. Pogany M.F. and Lineberger R.D. *Plant Chimeras in Tissue Culture: A Review.* // <http://aggie-horticulture.tamu.edu/tisscult/chimeras/chimera.html>

57. Bertsch Ch., Kieffer F., Maillot P., Farine S., Butterlin G., Merdinoglu D., Walter B. Genetic chimerism of *Vitis vinifera* cv. Chardonnay 96 is maintained through organogenesis but not somatic embryogenesis // *BMC Plant Biology.* – 2005. – Vol. 5, №20.

58. Sharma S.K., Kumaria S., Tandon P., Rao S.R. Single primer amplification reaction (SPAR) reveals inter- and intra-specific natural genetic variation in five species of *Cymbidium* (Orchidaceae) // *Gene.* – 2011. – Vol. 483. – P. 54-62.

59. Wang Q-M., Wang L. An evolutionary view of plant tissue culture: somaclonal variation and selection // *Plant Cell Rep.* – 2012. – Vol. 31. – P. 1535-1547.

REFERENCES

1. Vallejo-Mar'in M., Dorken M.E., and Barrett S.C.H. The Ecological and Evolutionary Consequences of Clonality for Plant Mating. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 2010, vol. 41, pp. 193-213.

2. McKey D., Elias M., Pujol B., Duputie A. Tansley review. The evolutionary ecology of clonally propagated domesticated plants. *New Phytologist*, 2010. vol. 186, no. 2, pp. 318-332.

3. Millar M.A., Byrne M., Coates D.J. The maintenance of disparate levels of clonality, genetic diversity and genetic differentiation in disjunct subspecies of the rare *Banksia ionthocarpa*. *Mol Ecol*, 2010, vol. 19, no. 19, pp. 4217-4227.
4. Mock K.E., Callahan C.M., Islam-Faridi M.N., Shaw J.D., Rai H.S., Sanderson S.C., Rowe C.A., Ryel R.J., Madritch M.D., Gardner R.S., Wolf P.G. Widespread triploidy in Western North American aspen (*Populus tremuloides*). *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 10:e48406.
5. Van der Merwe M., Spain C.S., Rossetto M. Enhancing the survival and expansion potential of a founder population through clonality. *New Phytologist*, 2010, vol. 188, no. 3, pp. 868-878.
6. Balloux F., Lehmann L., de Meeûs T. The population genetics of clonal and partially clonal diploids. *Genetics*, 2003, vol. 164, no. 4, pp. 1635-1644.
7. Eilts J.A., Mittelbach G.G., Reynolds H.L., Gross K.L. Resource Heterogeneity, Soil Fertility, and Species Diversity: Effects of Clonal Species on Plant Communities. *The American Naturalist*, 2011, vol. 177, no. 5, pp. 574-588.
8. O'Brien E.K., Denham A.J., Ayre D. J. Patterns of genotypic diversity suggest a long history of clonality and population isolation in the Australian arid zone shrub *Acacia carneorum*. *Plant Ecol*, 2014, vol. 215, no. 1, pp. 55-71
9. Arakaki M., Speranza P., Soltis P.S., Soltis D.E. Genetic Variability of an Unusual Apomictic Triploid Cactus—*Haageocereus tenuis* Ritter—from the Coast of Central Peru. *Journal of Heredity*, 2013, vol. 104, no. 1, pp. 127-133.
10. Meloni M., Reid A., Caujape J., Castells, Marrero A., Fernandez-Palacios J.M., Mesa-Coelo R.A., Conti E. Effects of clonality on the genetic variability of rare, insular species: the case of *Ruta microcarpa* from the Canary Islands. *Ecology and Evolution*, 2013, vol. 3, no. 6, pp. 1569-1579.
11. Herben T., Hara T., Marshall Ch., Soucupova L. Plant Clonality: Biology and Diversity. *Folia Geobot. Phytotax*, 1994, vol. 29, no. 1, pp. 113-124.
12. Angers B., Castonguay E., Massicotte R. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. *Mol Ecol*, 2010, vol. 19, no. 7, pp. 1283-1295.
13. Nybom H. Weising K. DNA-Based Identification of Clonally Propagated Cultivars. In *Plant Breeding Reviews*. By Jules Janick, 2011, vol. 34, ch. 6, pp. 222-288.
14. Rozenfeld A.F., Arnaud-Haond S., Hernandez-Garcia E., Eguiluz V.M., Matias M.A. Serrao E. and Duarte C.M. Spectrum of genetic diversity and networks of clonal organisms. *J.R. Soc. Interface*, 2007, vol. 4, pp. 1093-1102. doi: 10.1098/rsif.2007.0230.

15. Yakushiji H., Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Jeong S.T., Sueda T., Mitani N., Azuma A. A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot Noir to white-skinned Pinot Blanc, is caused by deletion of the functional *VvmybA1* allele. *Bioscience, Biotechnol, Biochem*, 2006, vol. 70, no. 6, pp. 1506-1508.
16. Vezzulli S., Leonardelli L., Malossini U., Stefanini M., Velasco R., Moser C. Pinot blanc and Pinot gris arose as independent somatic mutations of Pinot noir. *Journal of Experimental Botany*, 2012, vol. 63, pp. 695-709.
17. van Leeuwen C., Roby J.P., Alonso-Villaverde V., Gindro K. Impact of clonal variability in *Vitis vinifera* Cabernet franc on grape composition, wine quality, leaf blade stilbene content, and downy mildew resistance. *J Agric Food Chem*, 2013, vol. 61, no. 1, pp. 19-24.
18. Meneghetti S., Calò A., Bavaresco L. A strategy to investigate the intravarietal genetic variability in *Vitis vinifera* L. for clones and biotypes identification and to correlate molecular profiles with morphological traits or geographic origins. *Mol Biotechnol.*, 2012, vol. 52, no. 1, pp. 68-81.
19. Kato Sh., Matsumoto A., Yoshimura K., Katsuki T., Iwamoto K., Tsuda Y., Ishio Sh., Nakamura K., Moriwaki K., Shiroishi T., Gojobori T., Yoshimaru H. Clone identification in Japanese flowering cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) cultivars using nuclear SSR markers. *Breeding Science*, 2012, vol. 62, no. 3, pp. 248-255.
20. Zhang J., Liu X., Li Sh., Cheng Zh., Li Ch. The Rice Semi-Dwarf Mutant *sd37*, Caused by a Mutation in *CYP96B4*, Plays an Important Role in the Fine-Tuning of Plant Growth. *PLoS One*, 2014, vol. 9.
21. Ogiso-Tanaka E., Matsubara K., Yamamoto S., Nonoue Y., Wu J., Fujisawa H., Ishikubo H., Tanaka T., Ando T., Matsumoto T., Yano M. Natural variation of the *RICE FLOWERING LOCUS T 1* contributes to flowering time divergence in rice. *PLoS One*, 2013, vol. 8.
22. Valentini N., Calizzano F., Boccacci P., Botta R. Investigation on clonal variants within the hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivar 'Tonda Gentile delle Langhe'. *Scientia Horticulturae*, 2014, vol. 165, pp. 303-310.
23. Arai-Kichise Y., Shiwa Y., Nagasaki H., Ebana K., Yoshikawa H., Yano M., Wakasa K. Discovery of genome-wide DNA polymorphisms in a landrace cultivar of Japonica rice by whole-genome sequencing. *Plant Cell Physiol*, 2011, vol. 52, no. 2, pp. 274-282.
24. Mirouze M., and Paszkowski J. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011, vol. 14, no. 3, pp. 267-274.

25. Hauser M.-T., Aufsatz W., Jonak C., Luschnig Ch. Transgenerational epigenetic inheritance in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, vol. 1809, pp. 459-468. doi: 10.1016/j.bbagr.2011.03.007.

26. Chinnusamy V. and Zhu J.-K. Epigenetic responses to drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, vol. 12, pp. 133-139.

27. Paszkowski J. and Grossniklaus U. Selected aspects of transgenerational epigenetic inheritance and resetting in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011, vol. 14, pp. 195-203. doi: 10.1016/j.pbi.2011.01.002.

28. Ito H., Gaubert H., Bucher E., Mirouze M., Vaillant I., Paszkowski J. An siRNA pathway prevents transgenerational retrotransposition in plants subjected to stress. *Nature*, 2011, vol. 472, pp. 115-119. doi: 10.1038/nature09861.

29. Jablonka E., Raz G. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *The Quarterly Review of Biology*, 2009, vol. 84, no. 2, pp. 131-176.

30. Rothbart S.B., and Strahl B.D. Interpreting the language of histone and DNA modifications. *Biochim Biophys Acta*, 2014, Mar 12. pii: S1874-9399(14)00052-2. doi: 10.1016/j.bbagr.2014.03.001.

31. Zaratiegui M., Martienssen R.A. SnapShot: small RNA-mediated epigenetic modifications. *Cell*, 2012, vol. 151, no. 2, pp. 456.

32. Sanchez-Gomez D., Velasco-Conde T., Cano-Martina F.J., Guevarac M.A., Cerverac M.T., Arandac I. Inter-clonal variation in functional traits in response to drought for a genetically homogeneous Mediterranean conifer. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, vol. 70, no. 1, pp. 104-109.

33. Akimoto K., Katakami H., Kim H.-J., Ogawa E., Sano C.M., Wada Y., Sano H. Epigenetic inheritance in rice plants. *Ann Bot*, 2007, vol. 100, no. 2, pp. 205-217.

34. Vendramin G.G., Fady B., Gonzalez-Martinez S.C., Hu F.S., Scotti I., Sebastiani F., Soto A., Petit R.J. Genetically depauperate but widespread: the case of an emblematic Mediterranean pine. *Evolution*, 2008, vol. 62, no. 3, pp. 680-688.

35. Raj S., Bräutigam K., Hamanishi E.T., Wilkins O., Thomas B.R., Schroeder W., Mansfield S.D., Plant A.L., Campbell M.M. Clone history shapes *Populus* drought responses. *Proc Natl Acad Sci*, 2011, vol. 108, no. 30, pp. 12521-12526.

36. Gayacharan, Joel A.J. Epigenetic responses to drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Physiol Mol Biol Plants*, 2013, vol.19, no. 3, pp. 379-387.

37. Carrier G., Cunff L., Dereeper A., Legrand D., Sabot F., Bouchez O., Audeguin L., Boursiquot J.M., This P. *Transposable elements are a major cause of somatic polymorphism in Vitis vinifera L. PLoS ONE*, 2012, vol. 7.

38. Ocaña J., Walter B., Schellenbaum P. *Stable MSAP Markers for the Distinction of Vitis vinifera cv. Pinot Noir Clones. Mol. Biotechnol*, 2013, vol. 55, no. 3, pp. 236-248.

39. Woodrow P., Pontecorvo G., Fantaccione S., Fuggi A., Kafantaris I., Parisi D., Carillo P. *Polymorphism of a new Ty1-copia retrotransposon in durum wheat under salt and light stresses. Theor Appl Genet*, 2010, vol. 121, no. 2, pp. 311-322.

40. Woodrow P., Pontecorvo G., Ciarmiello L.F., Fuggi A., Carillo P. *Ttd1a promoter is involved in DNA-protein binding by salt and light stresses. Mol Biol Rep*, 2011, vol. 38, no. 6, pp. 3787-3794.

41. Bairu M.W., Aremu A.O., Van Staden J. *Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. Plant Growth Regul*, 2011, vol. 63, no. 2, pp. 147+173.

42. Tanurdzic M., Vaughn M.W., Jiang H., Lee T.-J., Slotkin R.K., Sosinski B., Thompson W.F., Doerge R.W., Martienssen R.A. *Epigenomic Consequences of Immortalized Plant Cell Suspension Culture. PLoS Biology*, 2008, vol. 6, no. 12, pp. 2880-2895.

43. Lee M., Phillips R.L. *The chromosomal basis of somaclonal variation. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.*, 1988, vol. 39, pp. 413-437.

44. Skoog F., Miller C.O. *Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symp Soc Exp Biol.*, 1957, vol. 54, pp. 118-130.

45. Mandal A.B., Chowdhury B., Sheeja T.E. *Development and characterization of salt tolerant somaclones in rice cultivar pokkali. Indian J Exp Biol.*, 2000, vol. 38, no. 1, pp. 74-79.

46. Jin S, Mushke R., Zhu H., Tu L., Lin Z., Zhang Y., Zhang X. *Detection of somaclonal variation of cotton (Gossypium hirsutum) using cytogenetics, flow cytometry and molecular markers. Plant Cell Rep*, 2008, vol. 27, no. 8, pp. 1303-1316.

47. Rakoczy-Trojanowska M. *The effects of growth regulators on somaclonal variation in rye (Secale cereale L.) and selection of somaclonal variants with increased agronomic traits. Cell Mol Biol Lett*, 2002, vol. 7, no. 4, pp. 1111-1120.

48. Shahid M.T., Khan F. A., Saeed A., Fareed I. *Variability of red rot-resistant somaclones of sugarcane genotype S97US297 assessed by RAPD and SSR. Genet Mol Res*, 2011, vol. 10, pp. 1831-1849.

49. Bairu M.W., Fennell C.W., van Staden J. *The effect of plant growth regulators on somaclonal variation in Cavendish banana (Musa AAA cv. 'Zelig'). Scientia Horticulturae*, 2006, vol. 108, no. 4, pp. 347-351.

50. Nhut D.T., Hai N.T., Thu P.T., Thi N.N., Hien T.T., Tuan T.T., Nam N.B., Huy N.P., Chien H.X., Jain S.M. Protocol for inducing flower color somaclonal variation in *Torenia* (*Torenia fournieri* Lind.). *Methods Mol Biol*, 2013, vol. 11013, pp. 455-462.

51. Smykal P., Valledor L., Rodriguez R., Griga M. Assessment of genetic and epigenetic stability in long-term *in vitro* shoot culture of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Cell Rep*, 2007, vol. 26, no. 11, pp. 1985-1998.

52. Stroud H., Ding B., Simon S.A., Feng S., Bellizzi M., Pellegrini M., Wang G.L., Meyers B.C., Jacobsen S.E. Plants regenerated from tissue culture contain stable epigenome changes in rice. *Elife*, 2013, vol. 2.

53. Miyao A., Nakagome M., Ohnuma T., Yamagata H., Kanamori H., Katayose Y., Takahashi A., Matsumoto T., Hirochika H. Molecular spectrum of somaclonal variation in regenerated rice revealed by whole-genome sequencing. *Plant Cell Physiol*, 2012, vol. 53, no. 1, pp. 256-264.

54. Miguel C. and Marum L. An epigenetic view of plant cells cultured *in vitro*: somaclonal variation and beyond. *Journal of Experimental Botany*, 2011. vol. 62, no. 11, pp. 3713-3725.

55. Joshi P., and Purohit S.D. Genetic stability in micro-clones of *Feronia limonia* (L.) swingle derived from different pathways of micropropagation as revealed by RAPD and ISSR markers. *Acta Horticulturae*, 2012, vol. 961, pp. 217-224.

56. Pogany M.F. and Lineberger R.D. *Plant Chimeras in Tissue Culture: A Review* // <http://aggie-horticulture.tamu.edu/tisscult/chimeras/chimera.html>.

57. Bertsch Ch., Kieffer F., Maillot P., Farine S., Butterlin G., Merdinoglu D., Walter B. Genetic chimerism of *Vitis vinifera* cv. Chardonnay 96 is maintained through organogenesis but not somatic embryogenesis. *BMC Plant Biology*, 2005, vol. 5, no. 20.

58. Sharma S.K., Kumaria S., Tandon P., Rao S.R. Single primer amplification reaction (SPAR) reveals inter- and intra-specific natural genetic variation in five species of *Cymbidium* (Orchidaceae). *Gene*, 2011, vol. 483, no. 1-2, pp. 54-62.

59. Wang Q-M., Wang L. An evolutionary view of plant tissue culture: somaclonal variation and selection. *Plant Cell Rep*, 2012, vol. 31, no. 9, pp. 1535-1547.

ТҮЙІН

Клондық және соматклондық өзгергіштік бұл генетикалық және эпигенетикалық бірлестілігімен негізделеді. Клондық көбею бұл генетикалық материалдың жыныссыз рекомбинациялануысыз, яғни индивидуумдардың соматикалық ұлпаларынан алынған ұрпақ және де осы ұрпақтың алғашқы өсімдіктен біркелкілігін сақтап қалу. Сонымен қатар, клондық көбею кезінде және *in vitro* әдісімен көбейту кезінде де, алынған өсімдік материалынан фенотиптік әртүрлілік байқалатыны жалпыға мәлім – бұл клондық және соматклондық өзгергіштік. Бір жағынан, клондық әртүрлілік бұл соматикалық мутациялардың болуымен және хромосомалар санының өзгеруінен, транслокация, делеция, дупликация кезінде

хромосома құрылымдарының өзгеруінен және ДНҚ кейбір бөліктерінде жүретін мутациялардан туындайтын үдеріс. Эпигенетикалық көрініс ДНҚ метилдену кезіндегі өзгеруімен, гистондардың модификациялануы және РНҚ реттегіш функциясының интерференциялануымен негізделген (siRNAs). Альтернативті эпигенетикалық жағдайдың индукциясы күйзеліс факторлары кезінде жаңа эпигенетикалық пайда болуына себепкер болады. Соматондық әртүрліліктің факторларының бірі ол – *in vitro* күйзеліс жағдайында өсу кезіндегі ұйымдастырылмаған кезеңдердің болуымен байланысты. Өсімдіктің өзгергіштігінің екі жасаушысын байланыстыру популяцияның құбылысына, ортаның күйзеліс факторларына төзімділігіне және де түрдің пайда болуына, эволюцияға ықпал етеді. Мәдени өсімдіктердің клондық селекциясы генетикалық ресурстарды қолдауда маңызы зор. Генетикалық және эпигенетикалық өзгергіштік белгілі бір молекулалық маркерлер арқылы айқындалады. Қазіргі заманғы биотехнологияның бірден бір мақсаты ол геномда өзгергіштіктің пайдалылығын және бекемдеушілігін табу.

Кілттік сөздер: вегетативті көбейту, клондық, микроклондар, соматикалық мутациялар, эпигенетикалық таңбалар, молекулалық маркерлер, селекция.