

УДК 581.143.6:633.36

Изменчивость таксономических признаков в популяциях растений-регенерантов и генеративных потомств эспарцета песчаного (*Onobrychis arenaria* (Kit.) DC.)

Variability of taxonomic characteristics in populations of regenerated plants and generative progenies of *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC.

О. А. Рожанская, Т. В. Шилова, Е. М. Горшкова

O. A. Rozhanskaya, T. V. Shilova, E. M. Gorshkova

Сибирский научно-исследовательский институт кормов, e-mail: olgarozhanska@yandex.ru

Реферат. Экспериментальная популяция растений-регенерантов R_0 получена из соматических тканей одного проростка эспарцета песчаного (*Onobrychis arenaria* (Kit.) DC.) по разработанной нами методике рекуррентной регенерации. Изучение морфометрических характеристик растений-регенерантов in agro проводилось в 1991–2012 гг. Среди соматических клонов и поликроссных потомств I–IV поколений обнаружены особи с таксономическими признаками эспарцета виколистного (*O. viciifolia* Scop.), закавказского (*O. transcaucasica* Grossh.) и сибирского (*O. sibirica* Turcz. ex Bess.). Учитывая, что перечисленные виды эспарцета легко скрещиваются, они, в сущности, представляют собой единый полиморфный вид sensu lato, что подтвердилось размахом соматических вариаций *O. arenaria*. Мы полагаем, что соматическая изменчивость ограничивается рамками естественного внутривидового разнообразия, предназначенного для адаптации к различным природным условиям вида sensu lato.

Summary. The experimental plant population of R_0 -regenerants has been derived from somatic tissues of a single seedling of sandy sainfoin (*Onobrychis arenaria* (Kit.) DC.) according to our recurrent regeneration method. The study of morphometric characteristics of regenerated plants in agro was being held in 1991–2012. There were discovered some plants with taxonomic characteristics of *O. viciifolia* Scop., *O. transcaucasica* Grossh., *O. sibirica* Turcz. ex Bess. among somaclones and polycross progenies of I–IV generations. If we take into account that these types of sainfoin hybridize easily, they will in fact represent a single polymorphic species sensu lato, has confirmed by the scope of somaclonal variations of *O. arenaria*. We assume that somaclonal variation is limited to the framework of natural intraspecific diversity intended for the adaptation of species to different environmental conditions.

Эспарцет (*Onobrychis* Mill.) принадлежит к семейству бобовых. Виды эспарцета *O. viciifolia* Scop., *O. transcaucasica* Grossh., *O. arenaria* (Kit.) DC. распространены на территории Евразии, первые два – в Европе и Закавказье, последний в силу повышенной засухоустойчивости и зимостойкости – в степи и лесостепи Европы, Средней Азии и Сибири. Эти многолетние энтомофильные растения давно введены в культуру как ценные кормовые и медоносные травы. Ботаник Б.А. Федченко (1908) считал эспарцет одним из важнейших кормовых растений, высказывая сожаление, что «область его культуры менее велика, чем область распространения в диком виде» (с. 55). Создание новых высокопродуктивных сортов и расширение посевов эспарцета особенно актуально для обеспечения кормовой базы отечественного животноводства в условиях перманентного кризиса и экономических санкций против России.

Культивирование in vitro соматических растительных тканей часто сопровождается генетическими абберациями (соматическими вариациями), которые могут передаваться вегетативному и генеративному потомству растений-регенерантов и использоваться в селекции (Larkin, Scowcroft, 1981). Установлено, что размах изменчивости среди культивируемых клеток может выходить за пределы рода, а среди растений-регенерантов – за пределы вида, к которому принадлежит исходное растение, причём соматические вариации признаков подчиняются закону гомологических рядов Н.И. Вавилова (Кунах, 2004). Цель наших исследований – изучение соматической изменчивости в популяциях эспарцета по основным морфологическим признакам, дифференцирующим виды.

Эспарцет введен в культуру in vitro по разработанной нами методике рекуррентной регенерации (Рожанская, 2007; Rozhanskaya, 2002), обеспечивающей в первом пассаже каллусообразование, эмбриогенез и регенерацию растений из листовых и корневых тканей (рис. 1). Экспериментальная популяция реге-

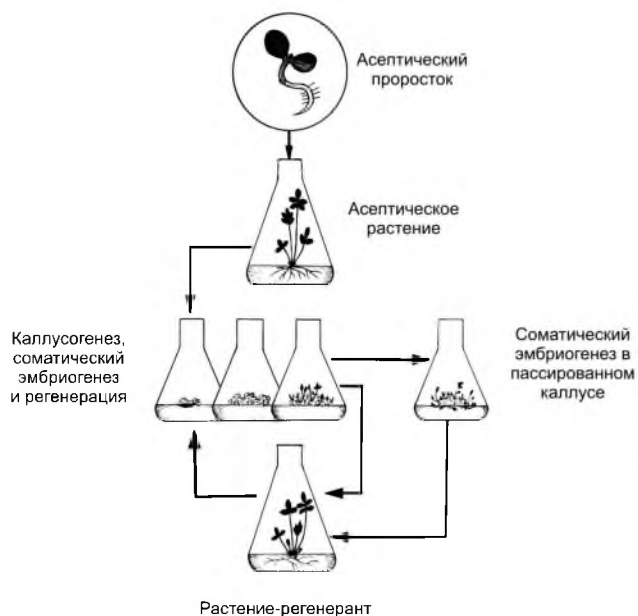


Рис. 1. Схема рекуррентной регенерации эспарцета песчаного (ориг.). Цикл включает этапы дедифференцировки, неорганизованной пролиферации, соматического эмбриогенеза и регенерации. В процессе повторения циклов рекуррентной регенерации накапливаются генетические изменения и происходит клеточная селекция на способность к регенерации и онтогенетической адаптации.

цветков по отношению к оси соцветия, строению венчика, размеру бобов, длине зубцов (вооружённости) боба. Встречались особи с признаками *O. viciifolia*: густыми соцветиями яйцевидной формы и крупными длинновооружёнными бобами (рис. 2, 3). Около половины растений в популяции соматклонов R_0 имели тонкие, полувыполненные или нежные толстые полые стебли, характерные для *O. viciifolia* и *O. transcaucasica*. Желто-зеленая окраска молодых побегов, свойственная *O. arenaria*, встречалась только у трети потомков растений-регенерантов. У многих соматклонов цветки имели флаг длиннее лодочки (признак *O. viciifolia*). Окраска лепестков цветка у большинства соматклонов была розовой, но с частотой около 10 % встречались особи с яркими пурпурно-малиновыми венчиками, свойственными *O. sibirica*; и с частотой 0,2 % – с белыми венчиками, не характерными для изучаемых видов эспарцета.



Рис. 2. Форма цветочной кисти у соматклонов эспарцета песчаного. Слева веретеновидная (мышехвостная), свойственная *O. arenaria*; справа яйцевидная, свойственная *O. viciifolia*.

нерантов R_0 объемом 76 особей получена из соматических тканей одного проростка исходного сорта СибНИИК 30, принадлежащего по совокупности признаков к виду эспарцет песчаный (*O. arenaria*). Изучение морфометрических характеристик регенерантов R_0 и их поликроссных потомств проводилось в 1991–2012 гг. в полевых питомниках Сибирского НИИ кормов (г. Новосибирск). Номенклатура видов соответствует сводке С.К. Черепанова (1981).

Среди растений-регенерантов R_0 , полученных из тканей проростка *O. arenaria*, и поликроссных потомств I–IV поколений обнаружены особи с таксономическими признаками эспарцета виколистного (*O. viciifolia*), закавказского (*O. transcaucasica*) и сибирского (*O. sibirica* Turcz. ex Bess.). Анализ признаков проводился согласно «Флоре СССР» (1948) и «Руководству по апробации сельскохозяйственных культур» (1950). Так, в популяциях соматклонов форма кисти варьировала от веретеновидной (мышехвостной), свойственной *O. arenaria*, до цилиндрической (*O. transcaucasica*) и яйцевидной (*O. viciifolia*). Подобная изменчивость наблюдалась и по другим таксономическим признакам: форме куста (от прямостоячей до развалистой), количеству одновременно открытых цветков, расположению

Мы полагаем, что необходимым и достаточным условием появления соматклональных вариаций является неорганизованная пролиферация клеток, лишенных онтогенетического контроля целого организма. Самые грубые абберации отсеиваются в процессе автоселекции каллусных клеток; крупные генетические перестройки элиминируются в процессах регенерации, адаптации *ex vitro* или прохождения через мейотический фильтр. В первых поколениях половых потомств довольно часто обнаруживаются особи с пониженной фертильностью и низкой жизнеспособностью семян, выпадающие в следующих поколениях из состава популяции. Возможно, это связано с недостаточной энергетической активацией инициальных клеток растений-регенерантов (Kuznetsova, 2013). Наконец, имеется контролирующий механизм биогеоценоза, функционирующий посредством сопоставления фенотипов отдельных особей (Шмальгаузен, 1969). Так на ка-

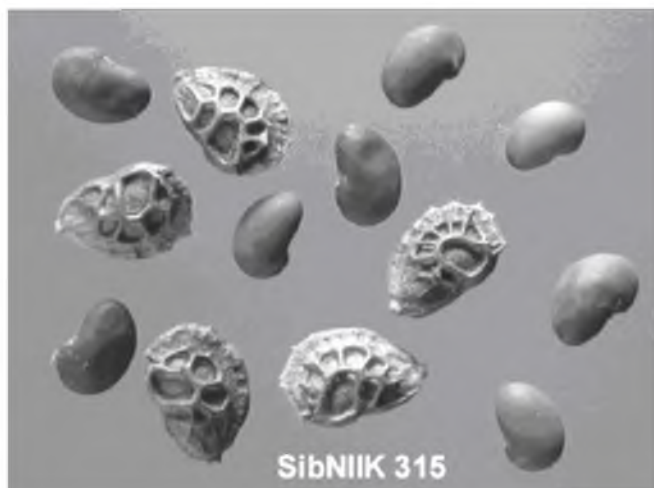


Рис. 3. Форма бобов у исходного вида *O. arenaria* (мелкие, коротковоруженные).

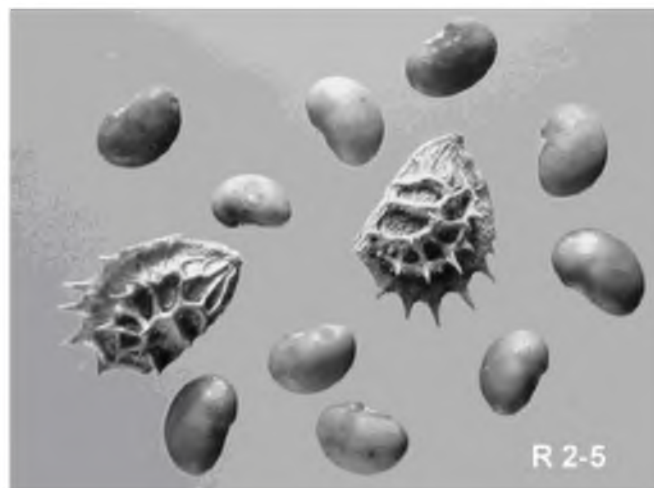


Рис. 4. Форма бобов у соматклона с признаками *O. viciifolia* (крупные, длинноворуженные).

ждом уровне структурной организации живых систем осуществляется механизм поддержания генетического гомеостаза.

У соматклонов эспарцета обнаружены признаки родственных видов. Однако в современной систематике вопрос, что считать видом, является дискуссионным (Смекалова, 2003). Систематика рода *Onobrychis* остается спорной, поскольку виды легко скрещиваются между собой, их ареалы перекрываются или дизъюнктивны. Л. П. Сергиевская (1964) рассматривала *O. sibirica* как разновидность *O. tanaitica* Spreng. var. *sibirica* (Turcz.) Polozh. Она полагала, что *O. tanaitica* и *O. arenaria* не имеют существенных различий и являются одним видом, приоритетное название которому дал Шпренгель в 1821 г. (Декандоль – в 1825 г.).

По нашим наблюдениям, морфологические различия между близкими видами эспарцета носят количественный характер и представляют собой, скорее всего, результат преобладания тех или иных аллелей в генофонде популяции в связи с экологической адаптацией или географической изоляцией.

Очевидно, виды эспарцета *O. viciifolia*, *O. transcaucasica*, *O. arenaria*, *O. tanaitica*, *O. sibirica* удовлетворяют только эколого-географическим критериям, но, в сущности, представляют собой единый полиморфный вид, что и подтвердилось размахом соматклональных вариаций *O. arenaria*.

Проведённый нами анализ спектра соматклональных вариаций заставляет предположить существование предела, ограничивающего изменчивость в рамках естественного внутривидового разнообразия, предназначенного для адаптации к различным природным условиям. Мы полагаем, что при достаточном количестве растений-регенерантов соматклональная изменчивость способна раскрыть внутривидовое разнообразие в полном объёме.

Возможно, в современной систематике растений избыточный вес придается географическому и морфологическому критериям вида. Концепция «мелкого вида» привела к возникновению множества таксонов, трудно различимых на практике, когда определяющее значение придается географическому и морфологическому критериям без учета популяционного разнообразия. Представляется более разумной позиция Н.И. Вавилова (1931) – сторонника концепции линнеевского вида *sensu lato* как системы, дифференцированной на географические и экологические типы и состоящей иногда из огромного количества разновидностей.

Мы полагаем, что современная систематика растений недооценивает генетический критерий вида, который было бы полезно применять следующим образом: 1) относить к одному виду легко скрещивающиеся формы, дающие плодовитое потомство (такой подход увеличит объем вида за счет объединения морфологических вариантов, экологических и географических рас); 2) не считать отсутствие гибридизации основанием для выделения нового вида, если прочие критерии соблюдены (это позволит избежать производства в ранг вида многочисленных апомиктических форм). Возможно, метод соматклональной изменчивости найдет применение в деле воссоздания утраченных «промежуточных звеньев» между таксонами, что упростит определение видов *in situ* и сделает классификацию более естественной.

Выявленное свойство ограниченности соматклональной изменчивости пределами вида *sensu lato* может облегчить организацию генетических банков растений, создаваемых с целью сохранения биоразнообразия мировой флоры *in vitro*. Мы имеем в виду, что при разработке методик культивирования тканей редких

и исчезающих видов не следует опасаться генетической variability и можно широко применять каллусные и суспензионные культуры. Более того, соматональную изменчивость рекомендуется использовать для восстановления из одной исходной особи всего спектра признаков, свойственного виду. Соматональные вариации недопустимы лишь при сохранении *in vitro* внутривидовых таксонов, сортов и ценных форм культурных растений.

ЛИТЕРАТУРА

- Вавилов Н. И.* Линнеевский вид как система. – М. – Л., 1931. – 32 с.
- Кунах В. А.* Закон гомологических рядов Н.И. Вавилова в соматональной изменчивости растений // Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития: Материалы 3 съезда ВОГИС (Москва, 6–12 июня 2004 г.). Т. 1. – М., 2004. – С. 73.
- Рожанская О. А.* Создание исходного материала для селекции кормовых культур в условиях Сибири с помощью методов биотехнологии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – СПб., 2007. – 35 с.
- Руководство по апробации сельскохозяйственных культур. Т. 4. Кормовые растения. Хинчук А. Г. Эспарцет. – М. – Л.: Сельхозгиз, 1950. – С. 129–146.
- Сергиевская Л. П.* Флора Западной Сибири. Т. 12 (дополнительный), ч. 2. – Томск, 1964. – С. 3255–3550.
- Смекалова Т. Н.* Систематика культурных растений вчера, сегодня, завтра / Ботанические исследования в азиатской России: Материалы XI съезда РБО (18–22 авг. 2003 г., Новосибирск-Барнаул). Т. 3. – Барнаул: Изд-во «АзБука», 2003. – С. 114–116.
- Федченко Б. А.* Туркестанские эспарцеты // Русский ботанический журнал, 1908. – № 1–2. – С. 55.
- Флора СССР. Род *Onobrychis*. – М. – Л.: АН СССР, 1948. – Т. XIII. – С. 319–341.
- Черепанов С. К.* Сосудистые растения СССР. – Л.: Наука, 1981. – 510 с.
- Шмальгаузен И. И.* Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. – М.: Наука, 1969. – 451 с.
- Kuznetsova N. F.* Corpuscular-wave nature and wave properties of plant cells. – New York: Nova Science Publ., 2013. – 210 p.
- Larkin P. J., Scowcroft W. R.* Somaclonal variation – a novel source of variability from cell culture for plant improvement // Theor. and Appl. Genet., 1981. – Vol. 60, No. 1. – P. 197–214.
- Rozhanskaya O. A.* Quantitative somaclonal variation of sainfoin *Onobrychis arenaria* (Kit.) DC. // Bull. of the State Nikitski Bot. Garden, 2002. – No. 86. – P. 27–31.