

УДК 575.16:581.143.6:634.8:631.527.8

ВЛИЯНИЕ 2,4-Д И БАП НА ЭМБРИОГЕННУЮ СПОСОБНОСТЬ У СОМАКЛОНОВ ВИНОГРАДА

А.О. МАРЧЕНКО

*Научный центр экомониторинга и биоразнообразия мегаполиса Национальной академии наук Украины
03143 Киев, ул. Акад. Лебедева, 37*

Изучали влияние содержания 2,4-Д и БАП в среде культивирования на эмбриогенную способность у соматклонов винограда и на соматклональную изменчивость. У соматклонов, полученных при использовании 1 мг/л 2,4-Д, фенотипические изменения отсутствовали, при использовании 3 мг/л 2,4-Д — изменялась гормональная зависимость эмбриоидогенеза; они различались и по морфологическим, и по фенологическим признакам. Сделаны выводы, что с помощью 2,4-Д и цитокининов можно управлять соматклональной изменчивостью; последняя связана с изменением регуляторной системы у соматклонов, которые рассматриваются как модельная система для изучения закономерностей реорганизации генома.

Ключевые слова: *Vitis L.* ауксин, цитокинин, эмбриогенная способность, соматклональная изменчивость.

Расширение спектра генетического разнообразия в клеточной культуре и его контроль, а также регенерация растений из выделенных клеточных линий — основа методологии клеточных технологий. Отсутствие удовлетворительного объяснения природы соматклональной изменчивости, эффективных подходов управления ею и процессами регенерации ограничивает использование этого явления для повышения эффективности методов генной и клеточной инженерии, клеточной и традиционной селекции.

Основные фитогормоны — ауксины и цитокинины участвуют в индукции соматклональной изменчивости [8, 20], осуществляют свои функции через регуляторные гены [25, 30], модулируют метилирование генома [2] и индуцируют стрессзависимые гены [18, 23]. При стрессовых воздействиях происходят перестройки генома и изменяется регуляторная система организма [4]. Все это определяет возможность непосредственного участия ауксинов и цитокининов в адаптационных процессах. Изменения, индуцируемые *in vitro*, реализуются через соматический эмбриогенез (эмбриоидогенез [14]) и гемморизогенез. Ауксины и цитокинины, контролируя эти процессы [19, 25, 30], участвуют в реализации соматклональной изменчивости.

Гормональная зависимость эмбриоидогенеза (эмбриогенная способность) — генетически детерминированный признак [3]. У винограда она имеет следующие особенности [6]. При использовании 1 мг/л 2,4-Д эмбриогенный каллюс появлялся только при одном уровне БАП, специфическом для каждого генотипа. В частности, эмбриогенный каллюс у сорта Подарок Магарача на среде с 1 мг/л 2,4-Д образовывался только при

($2 \pm 0,2$) мг/л БАП. При увеличении концентрации 2,4-Д до 3 мг/л эффективные концентрации БАП для этого сорта составляли 0,5–5 мг/л. С использованием этих сред были получены растения (соматоны). Поскольку 2,4-Д дает возможность преодолевать генотипическую специфичность процессов регенерации, мы предположили наличие генетических изменений у соматонов, полученных при использовании 3 мг/л 2,4-Д и БАП в концентрациях, отличных от 2 мг/л.

Основываясь на модельных представлениях о функциях ауксинов и цитокининов в онтогенезе и формировании ответа растений на действие факторов среды [8, 9], изучено влияние 2,4-Д и БАП на гормональную зависимость эмбриогенеза у винограда и соматоноальную изменчивость. Особенность эмбриогенеза у винограда [6] при применении 1 мг/л 2,4-Д использовали для определения эмбриогенной способности у соматонов.

Методика

Испытывали сорт винограда Подарок Магарача (межвидовой гибрид *Vitis*) и его соматоны: соматоны первого поколения R_1 — В3-А1, В3-45, Р1-83, Р1-153 и В5-В2; соматоны R_2 (В3-А1-5, 153-а5 и В2-77), полученные соответственно из соматонов В3-А1, Р1-153 и В5-В2. Соматон В5-В2 имеет измененную морфологию листьев [6], сходную с *Ampelopsis aegirophylla* (Bunge) Planch [1]. Эта морфология сохранилась при вегетативном размножении *in vitro* с 1987 г. и в условиях открытого грунта — с 1992 г. Все соматоны были получены по ранее описанной методике [6] по схеме: первый этап — лист → 3 мг/л 2,4-Д + БАП → каллюс; второй этап — каллюс → 2 мг/л НУК + 5 мг/л БАП → эмбриониды. Соматоны различались по концентрациям БАП на первом этапе: В3-А1 и В3-45 — 0,5 мг/л БАП; Р1-83, Р1-153, В5-В2 — 5 мг/л БАП; В3-А1-5, 153-а5 и В2-77 — 10 мг/л БАП.

Источниками эксплантатов служили растения, выращиваемые *in vitro* при 25 °С, освещении 2500 лк, 16-часовом фотопериоде на модифицированной среде МС [21] с 0,1 мг/л НУК и 0,01 мг/л БАП (рН 5,7 до автоклавирования). Для опытов с соматоном R_1 брали растения, вегетативно размножаемые *in vitro* с 1987 г. — более чем 40-е вегетативное поколение, с соматоном R_2 — растения *in vitro* 12-го вегетативного поколения. Использовали модифицированную среду МС и методику, примененную для получения соматонов R_1 [6]. Все листья 5 растений *in vitro* каждого генотипа (в среднем по 30 листьев) исходно культивировали на средах, содержащих различные комбинации 2,4-Д и БАП (таблица). Образовавшиеся каллюсы через 30–40 сут переносили на среду с 2 мг/л НУК и 5 мг/л БАП. В опыте 5 каллюсы не субкультивировали. Сформировавшиеся эмбриониды переносили на среду с 0,1 мг/л НУК или с 0,2 мг/л БАП. Эксплантаты и каллюсы культивировали в темноте, при 28 °С. Эмбриониды культивировали при 25 °С и освещении 2500 лк. Отмечали образование проэмбрионидных структур и эмбрионидов. На соматоне В5-В2 изучали сохранение морфологии листа в процессе эмбриогенеза.

Результаты и обсуждение

На среде, эффективной для индукции эмбриогенеза у сорта Подарок Магарача, эмбриогенез у его соматонов R_1 не индуцировался (см.

Зависимость эмбриогенеза винограда от генотипа и содержания 2,4-Д, БАП в среде культивирования

| Номер опыта | Сорт винограда и его соматклоны | Содержание регулятора роста, мг/л | | Число эмбрионных эксплантатов с одного растения,* % |
|-------------|------------------------------------|-----------------------------------|-------------|---|
| | | 2,4-Д | БАП | |
| 1 | Подарок Магарача** | 1 | 2 | 40 ± 8 |
| | | 1 | 0,5; 5; 10 | 0 |
| | V3-A1, V3-45, B5-B2; P1-83; P1-153 | 1 | 2 | 0 |
| 2 | V3-A1; V3-45 | 1 | 0,5 | 31 ± 5; 31 ± 8 |
| | | 1 | 5; 10 | 0 |
| | B5-B2; P1-83; P1-153 | 1 | 0,5; 10 | 0 |
| | | 1 | 5 | 33 ± 6; 37 ± 11; 30 ± 9 |
| 3 | V3-A1-5; 153-a5; B2-77 | 1 | 0,5; 2; 5 | 0 |
| | | 1 | 10 | 22 ± 8; 35 ± 11; 43 ± 17 |
| 4 | Подарок Магарача | 3 | 1; 2; 5; 10 | 33±5; 29±7; 52±4; 41±5 |
| | V3-A1, V3-45 | 3 | 1; 2 | (30±14; 27±4), (34±11; 33±6) |
| | V3-A1, V3-45 | 3 | 5; 10 | (20±5; 33±7), (18±2; 19±2) |
| | B5-B2, P1-83, P1-153 | 3 | 1 | 27 ± 4, 35 ± 7, 33 ± 7 |
| | B5-B2, P1-83, P1-153 | 3 | 2 | 24 ± 4, 33 ± 9, 20 ± 2 |
| | B5-B2, P1-83, P1-153 | 3 | 5 | 45 ± 5; 40 ± 7; 35 ± 6 |
| | B5-B2, P1-83, P1-153 | 3 | 10 | 30 ± 7, 22 ± 5, 40 ± 4 |
| 5 | Подарок Магарача | 4 | 5 | 40 ± 5 |
| | P1-83 | 1; 4 | 5 | 40 ± 7; 60 ± 7 |

*Эксплантаты, образовавшие эмбрионный каллус; представлены средние арифметические значения и их стандартные погрешности: в опытах 1—3 — по трем независимым сериям экспериментов и 30 биологическим повторностям в каждом, в опытах 4 и 5 — по 5 растениям *in vitro*, имевшим по 4—6 листьев.

**У сорта Подарок Магарача на среде с 1 мг/л 2,4-Д эмбрионный каллус образовывался только при использовании 2 мг/л БАП.

таблицу, опыт 1). Эмбрионный каллус у каждого соматклона R₁ образовывался только при той концентрации БАП, при использовании которой каждый из них был получен (см. опыт 2). Следовательно, у соматклонов винограда под действием 2,4-Д и БАП эмбрионная способность относительно исходного сорта изменилась. Эмбриониды наблюдали спустя 50—70 сут от начала культивирования листьев. Результаты опыта 2 подтвердились в опыте 3 на соматклонах R₂. Это означает, что под действием 2,4-Д клеточная культура адаптируется к используемой концентрации цитокинина — у нее изменяется эмбрионная способность. Следовательно, с помощью 2,4-Д и цитокинина можно управлять соматклональной изменчивостью. Подобный эффект цитокинина (зависимость пролиферации от фактора клеточного деления) наблюдался и в клеточной культуре табака [20].

При повышении концентрации 2,4-Д устранялись различия соматклонов по эмбрионной способности и необходимость использования среды с НУК и БАП для образования эмбрионидов (см. таблицу, опыты 4 и 5). Так, на средах с 3 и 4 мг/л 2,4-Д соматклоны винограда не разли-

чались по эмбриоидогенезу. В опыте 5 эмбриоиды наблюдали спустя 40—60 сут от начала культивирования листьев без субкультивирования каллюсов на средах с НУК и БАП. В других работах, например в [28], также представлен способ получения эмбриоидов винограда без применения НУК, но при многократном субкультивировании каллюсов на средах с низким содержанием 2,4-Д (0,1—2 мг/л). В этих случаях для получения эмбриоидов требовалось более 120 сут. Эти и наши результаты подтвердили, что необходимый эффект 2,4-Д (дедифференциация клеток) может достигаться сразу и последовательно.

Применение 2,4-Д для индукции эмбриоидогенеза обязательно для большинства культур, в том числе и для винограда [7, 22]. Она является индуктором стрессзависимых генов [18]. Экспрессия многих стрессзависимых генов на ранних стадиях эмбриоидогенеза и возможность его индукции стрессовыми факторами сформировали представление об эмбриоидогенезе как стрессовой реакции культуры растительных клеток [22]. При пролиферации клеток в условиях стрессовых воздействий возможны перестройки их генома и изменения регуляторной системы [4], с которыми могут быть связаны эпигенетические изменения [11, 16, 17, 26]. Основываясь на этом, мы предположили, что вместе с изменением эмбриогенной способности могли измениться и другие признаки соматклонов.

Из соматклонов R_1 повторным эмбриоидогенезом получали соматклоны до 4-го поколения: $R_1 \rightarrow R_2 \rightarrow R_3 \rightarrow R_4$. Эмбриогенный каллюс формировался на средах с 3 мг/л 2,4-Д + (5; 10) мг/л БАП. Различие соматклонов R_3 и R_4 от R_1 наблюдалось уже на стадии регенерации проростков. Соматклоны R_1 были получены при культивировании эмбриоидов на среде с 0,1 мг/л НУК; проростки образовывались у более чем 20 % эмбриоидов. При культивировании эмбриоидов для получения соматклонов R_3 и R_4 на средах с 0,1 мг/л НУК проростки образовывались только в единичных случаях. У остальных эмбриоидов проростки удалось получить на среде с 0,2 мг/л БАП. Среди таких соматклонов были растения с нарушениями роста и развития, с измененным габитусом и т.д. Негативное влияние 2,4-Д на развитие эмбриоидов наблюдалось, например, и у *Drosera spathulata* Labill [15].

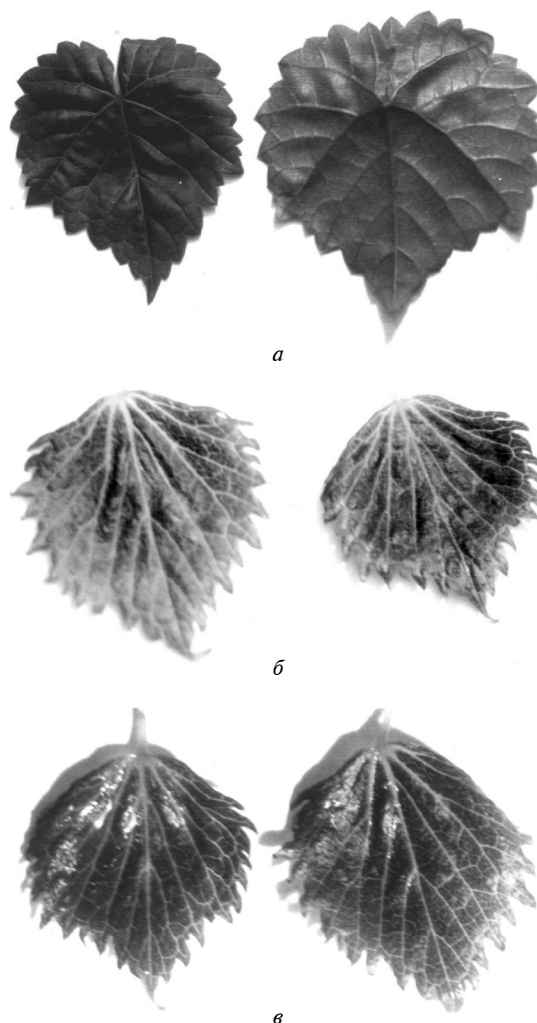
Анализом в условиях *in vitro* и в полевых условиях установлено, что у соматклонов, полученных при использовании 1 мг/л 2,4-Д фенотипические изменения отсутствовали, среди растений, сформировавшихся при использовании 3 мг/л 2,4-Д, были различающиеся по морфологическим и фенологическим признакам, по характеристикам урожая и морфогенетическим реакциям в условиях *in vitro* (морфология листьев, корневой системы и стеблей). Из соматклона В5-В2 (рисунок), морфология листьев которого подобна морфологии листьев *Ampelopsis aegirophylla* (Bunge) Planch [6], получено 80 соматклонов R_2 , в том числе и В2-77; из соматклона В2-77 получено 30 соматклонов R_3 . После двух циклов эмбриоидогенеза и более 30 циклов вегетативного размножения у большинства соматклонов R_2 и R_3 морфология листьев не изменилась по сравнению с В5-В2, у 20 % соматклонов R_3 она несколько изменилась по сравнению с В5-В2 и В2-77, сохранив подобие морфологии листа *A. aegirophylla* (Bunge) Planch. Следовательно, при получении более поздних поколений соматклонов амплитуда экспрессии признаков может меняться.

Реализация в растении генетических и эпигенетических изменений должна быть связана с адаптационными преобразованиями регуляторной системы [2, 10, 11, 16], которые возможны в критические периоды

развития зародыша [13] при стрессовых воздействиях [4]. В связи с этим рассмотрим роль эмбриогенеза, ауксинов и цитокининов в реализации наблюдаемой соматональной изменчивости.

Реализация в растении результатов молекулярных преобразований генома определяется степенью изолированности процесса образования инициальной клетки для развития нового индивидуума от взаимодействий с материнским организмом [4]. Инициаль для эмбриогенеза *in vitro* максимально изолирована [29], и это позволяет реализовываться существенно реорганизованному геному [4]. Однако такая возможность ограничена жизнеспособностью нового индивидуума и определяется свойствами его регуляторной системы. Значительность генетических перестроек в клеточной культуре *in vitro* [5] и их несовместимость в большинстве случаев с нормальным развитием организма проявляется в низком проценте (до 5 %) формирования проростков из эмбриоидов. Для сравнения: при эмбриогенезе *in vivo* (или при вторичном эмбриогенезе *in vitro*) инициаль образуется под влиянием материнского организма [13]. Это обеспечивает более высокий по сравнению с эмбриогенезом *in vitro* процент формирования проростков и высокую частоту образования проростков из искусственных семян, эмбриоиды для которых образуются клонированием эмбриогенных клеток и эмбриоидов вторичным эмбриогенезом *in vitro*. Эти данные указывают на то, что регуляторная система нового организма непосредственно при эмбриогенезе не модифицируется. Она может модифицироваться на стадии образования инициали — критической стадии развития зародыша [13].

В наших опытах наблюдался низкий процент регенерации проростков из эмбриоидов R_3 и R_4 . Получены соматоклоны с морфологией листьев, характерной для другого рода (*A. aegirophylla* (Bunge) Planch). Она сохранилась в двух циклах эмбриогенеза и в более чем 40 циклах вегетативного



Типичные листья растений винограда сорта Подарок Магарача (а), соматоклона В2-77, полученного из соматоклона В5-В2 (б) и одного из соматоклонов (R_3), полученного из соматоклона В2-77 (в) (В5-В2 — соматоклон R_1 , полученный из сорта Подарок Магарача [6])

размножения (см. рисунок). Эти результаты можно рассматривать как свидетельство гетерогенности клеточной культуры винограда, а изменение морфологии листьев — как результат возможных генетических изменений [5, 17, 26]. Проростки из эмбриоидов R_3 и R_4 , не способных развиваться при обычных условиях культивирования, скорее всего формировались либо вторичным прямым эмбриоидогенезом (на эмбриоидах), либо геммогенезом — образованием адвентивных почек из меристематических клеток эмбриоида. В отношении первого пути следует отметить, что в природе репродуктивный потенциал эмбриоидогенеза используется для реализации репродуктивной функции в стрессовых ситуациях [4, 22]. Например, у таксона *Eranthis* [13]. Образование вторичных эмбриоидов на зародышах и эмбриоидах *in vitro*, не способных развиваться, можно рассматривать как способ сохранения и реализации возникших новых генотипов. Один из таких примеров — эмбриогенез у пиона [13]. На ранних этапах развития эмбриоидов уровень эндогенного ауксина (ИУК) может повышаться более чем в 1000 раз [24]. Поэтому на среде с БАП проростки могли регенерировать также и через геммогенез из адвентивных почек, сформировавшихся из меристематических клеток эмбриоидов. Например показана возможность образования адвентивных почек (стеблевой морфогенез) у винограда из соматических тканей на средах с высоким содержанием ауксина и цитокинина [27]. В обоих случаях через связь инициали с первичным эмбриоидом посредством фитогормонов возможно преобразование регуляторной системы у вторичных эмбриоидов (или почек). В этом проявляется гормональный контроль репродуктивной стратегии организма [14] и надежность биологических систем [12]. Тогда изменения свойств и признаков у соматических клонов винограда свидетельствуют о реализации в них разных состояний регуляторной системы исходного сорта. В этом случае соматические клоны можно использовать как модельную систему для изучения закономерностей изменений генома [17] и определения морфогенетического потенциала организмов [8, 9].

Таким образом, на примере винограда показано, что с помощью ауксинов и цитокининов можно управлять соматической изменчивостью; обнаружена прямая связь уровня 2,4-Д с индуцированной изменчивостью, реализуемой в растениях. Доказано, что под действием фитогормонов изменяются признаки растений; растения образуются из эмбриоидов, не способных развиваться при обычных условиях культивирования.

1. *Ампелография СССР*. — М.: Пищепромиздат, 1946. — Т. 1. — 496 с.
2. Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК и эпигенетика // Генетика. — 2006. — 42, № 9. — С. 1186—1199.
3. Игнатова С.А., Белоусова А.А., Сидоренко Л.В. Генотипическая специфичность морфогенетических процессов в культуре соматических тканей кукурузы // Цитология и генетика. — 1993. — 27, № 3. — С. 39—44.
4. Кашин А.С. Половое размножение, агамоспермия и видообразование у цветковых // Журн. общей биологии. — 1998. — 59, № 2. — С. 171—191.
5. Кунах В.А. Изменчивость растительного генома в процессе дедифференцировки и каллусообразования *in vitro* // Физиология растений. — 1999. — 46, № 6. — С. 919—929.
6. Марченко А.О. Индукция эмбриоидогенеза в первичных каллусах из стебля и листьев винограда // Там же. — 1991. — 38, № 3. — С. 580—590.
7. Марченко А.О. Реализация морфогенетического потенциала растительных организмов // Успехи соврем. биологии. — 1996. — 116, № 3. — С. 306—319.
8. Марченко А.О. Реализация морфогенетического потенциала растительных организмов: калибровочный подход // Журн. общей биологии. — 1999. — 60, № 6. — С. 654—667.

9. Марченко А.О., Мендыгулов Ю.Д. Реализация морфогенетического потенциала растительных организмов: гормонально-генетический подход // Биофизика. — 2003. — **48**, № 3. — С. 558—564.
10. Терехин Э.С. Проблемы эволюции онтогенеза семенных растений. — 39-е Комаровские чтения. — Тр. БИН им. В.Л. Комарова АН СССР. — Вып. 2. — СПб., 1991. — 68 с.
11. Тищенко Е.Н., Дубровная О.В. Эпигенетическая регуляция. Метилирование ДНК генов и трансгенов растений. — Киев: Логос, 2004. — 236 с.
12. Эмбриология цветковых растений. Т. 1. Генеративные органы цветка / Под ред. Т.Б. Батыгиной. — СПб.: Мир и Семья-95, 1994. — 512 с.
13. Эмбриология цветковых растений. Т. 2. Семя / Под ред. Т.Б. Батыгиной. — СПб.: Мир и Семья-95, 1997. — 1164 с.
14. Эмбриология цветковых растений. Т. 3. Системы репродукции / Под ред. Т.Б. Батыгиной. — СПб.: Мир и Семья-95, 2000. — 640 с.
15. Bobak M., Samaj J., Blehova A. et al. A histological and SEM study of early stages of direct somatic embryogenesis in leaves of sundew *Drosera spathulata* Labill // Acta Bot. Hung. — 2006. — **48**, N 1—2. — P. 29—38.
16. Chandler V.L. Paramutation: from maize to mice // Cell. — 2007. — **128**, N 4. — P. 641—645.
17. Chatelet P., Laucou V., Fernandez L. et al. Characterization of *Vitis vinifera* L. somatic variants exhibiting abnormal flower development patterns // J. Exp. Bot. — 2007. — **58**. — P. 4107—4118.
18. Davletova S., Meszaros T., Miskolczi P. et al. Auxin and heat shock activation of a novel member of the calmodulin like domain protein kinase family in cultured alfalfa cells // Ibid. — 2001. — **52**. — P. 215—221.
19. Jenik P.D., Kathryn B.M. Surge and destroy: the role of auxin in plant embryogenesis // Development. — 2005. — **132**. — P. 3577—3585.
20. Meins F.Jr., Seldran M. Pseudodirected variation in the requirement of cultured plant cells for cell-division factors // Ibid. — 1994. — **120**. — P. 1163—1168.
21. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. — 1962. — **15**. — P. 473—497.
22. Pasternak T., Prinsen E., Ayaydin F. et al. The role of auxin, pH and stress in the activation of embryogenic cell division in leaf protoplast-derived cells of alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Plant Physiol. — 2002. — **129**. — P. 1807—1819.
23. Reiser V., Raitt D.C., Saito H. Yeast osmosensor Sln1 and plant cytokinin receptor Cre1 respond to changes in turgor pressure // J. Cell Biol. — 2003. — **161**. — P. 1035—1040.
24. Ribnicky D.M., Cohen J.D., Hu W.S., Cooke T.J. An auxin surge following fertilization in carrots: a mechanism for regulating plant totipotency // Planta. — 2002. — **214**. — P. 505—509.
25. Schmulling T., Schafer S., Romanov G. Cytokinins as regulators of gene expression // Physiol. Plant. — 1997. — **100**. — P. 505—519.
26. Schneider S., Reustle G., Zyprian E. Detection of somaclonal variation in grapevine regenerants from protoplasts by RAPD-PCR // Vitis. — 1996. — **35**, N 2. — P. 99—100.
27. Stamp J.A., Colby S.M., Meredith C.P. Direct shoot organogenesis and plant regeneration from leaves of grape (*Vitis vinifera* L.) // Plant Cell., Tissue and Organ Culture. — 1990. — **22**. — P. 127—133.
28. Stamp J.A., Meredith C.P. Somatic embryogenesis from leaves and anthers of grapevine // Scientia Hort. — 1988. — **35**. — P. 235—250.
29. Williams E.G., Maheswaran G. Somatic embryogenesis: Factors influencing coordinated behaviour of cells as an embryogenic group // Annals Bot. — 1986. — **57**. — P. 443—462.
30. Woodward A.W., Bartel B. Auxin: regulation, action, and interaction // Ibid. — 2005. — **95**, N 5. — P. 707—735.

Получено 30.05.2008

ВПЛИВ 2,4-Д І БАП НА ЕМБРІОГЕННУ ЗДАТНІСТЬ У СОМАКЛОНІВ ВІНОГРАДУ

О.О. Марченко

Науковий центр екомоніторингу та біорізноманіття мегаполісу Національної академії наук України, Київ

Вивчали вплив вмісту 2,4-Д і БАП у середовищі культивування на ембріогенну здатність у соматоклонів винограду і на соматоклональну мінливість. У соматоклонів, отриманих за використання 1 мг/л 2,4-Д, фенотипних змін не було, за використання 3 мг/л 2,4-Д — змінюва-

ВЛИЯНИЕ 2,4-Д И БАП НА ЭМБРИОГЕННУЮ СПОСОБНОСТЬ

лась гормональна залежність ембріодогенезу; вони різнилися як за морфологічними, так і за фенологічними ознаками. Зроблено висновки, що за допомогою 2,4-Д і цитокінінів можна керувати соматоклональною мінливістю; остання пов'язана зі зміною регуляторної системи у соматоклонів, які розглядаються як модельна система для вивчення закономірностей реорганізації геному.

INFLUENCE OF 2,4-D AND BAP ON EMBRYOGENIC CAPACITY AT SOMACLONES OF GRAPE

A.O. Marchenko

Megapolis Ecomonitoring and Biodiversity Research Centre, National Academy of Sciences of Ukraine
37 Lebedeva St., Kyiv, 03143, Ukraine

The effects of 2,4-D and BAP on embryogenic capacity at grape somaclones (passing more than 40 cycles of vegetative reproduction and two cycles of embryoidogenesis) and on somaclonal variation were studied. Grape plants obtained through somatic embryogenesis using 3 mg/l 2,4-D showed a different embryogenic capacity with refer to the cytokinin levels applied. Analysis of somaclones in general showed that plants obtained by inducing embryogenic callus at 1 mg/l of 2,4-D had no phenotypic alterations. At the same time, plants obtained with 3 mg/l of 2,4-D included forms that differed in morphological and phenological traits. It was concluded that: it is possible to manage somaclonal variation by 2,4-D and cytokinins; somaclonal variation is related to the change of the regulator system at somaclones, which are concerned as a model system for the study of reorganization of genome.

Key words: *Vitis* L., auxin, cytokinin, embryogenic capacity, somaclonal variation.