

## СЕЛЕКЦИЯ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ЭМБРИОГЕННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ LARIX SIBIRICA

Пак М. Э. , Орешкова Н. В. , Горячкина О. В., Третьякова И. Н.

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН  
[mtetra99@bk.ru](mailto:mtetra99@bk.ru)

Авторами создана коллекция эмбриогенных культур лиственницы, включающая 54 активно пролиферирующие клеточные линии (КЛ), представленные эмбрионально-суспензорными массами. КЛ отличались по длительности культивирования, индексу роста культур и эмбриональной продуктивности, гормональным балансом и генетической стабильностью, определяемой по ядерным микросателлитным локусам и пloidности. Пролиферация отдельных КЛ продолжается более 14 лет. Соматические зародыши таких клеточных линий активно мультиплицируют через кливаж. Оценка генетической стабильности КЛ в процессе соматического эмбриогенеза, проведенная по цитогенетическому анализу показала, что молодые клеточные линии в возрасте от одного года до трех лет могут сохранять и содержать в кариотипе нормальное для данного вида диплоидное число хромосом  $2n = 24$ . Микросателлитный анализ показал слабую изменчивость клеточных линий и соответствие их материнскому дереву-донору. В длительно пролиферирующих КЛ накапливаются мутации, и происходит изменение числа хромосом ( $2n = 25$ ;  $2n = 26$ ). У таких КЛ сохраняется способность формировать соматические зародыши. В коллекции выделяется КЛ6, которая в возрасте 6–11 лет являлась генетически стабильной с диплоидным числом хромосом  $2n = 24$  и имела слабую изменчивость по микросателлитным локусам. Из КЛ6 получены клонированные деревья лиственницы сибирской, которые в течение 9 лет успешно произрастают в условиях лесопитомника в экспериментальном хозяйстве «Погорельский бор» Института леса СО РАН (г. Красноярск). Клоны отличаются интенсивным ростом и сверхнормальным развитием генеративных органов (в семилетнем возрасте) и не повреждаются лиственничной почковой галлицей. Однако контролируемое опыление клонов пыльцой дерева-донора привело к нестабильности генома у полученных КЛ. У КЛ22.27.1 наблюдалась высокая частота мутаций. Эти мутации проявлялись в изменении числа хромосом и аллелей, наблюдаемые по ряду локусов. Не исключено, что в данном случае проявился эффект близкородственного скрещивания. Следовательно, проведение регулярного цитогенетического и микросателлитного контроля и селекция КЛ очень важны при клонировании растений через соматический эмбриогенез. Таким образом, соматический эмбриогенез является важной биотехнологией в размножении хвойных видов, в том числе для разработки производства сортов деревьев с желательными селекционными признаками. Данная технология может быть успешно реализована в крупномасштабном коммерческом производстве. Наиболее важным преимуществом производства хвойных деревьев методом соматического эмбриогенеза является то, что эмбриогенные клеточные линии могут быть криогенно сохранены в ювенильном состоянии неограниченно долго, что было невозможно при других методах размножения деревьев. При этом необходимо выявлять генетическую стабильность или нестабильность клеточных культур. Выявление клеточных линий с измененным хромосомным набором представляет большой интерес для генетики хвойных растений, а также вносит вклад в развитие теоретических аспектов репродуктивной биологии и в целом биологии развития.

Работа выполнена в рамках базового проекта «Биоразнообразие лесов Сибирского экологического центра, генетико-селекционный, физикохимический и ресурсно-технологический аспекты» (FWES-2024-0028).

## BREEDING AND GENOTYPING OF LARIX SIBIRICA EMBRYOGENIC CELL LINES

Park M. E. , Oreshkova N. V. , Goryachkina O. V., Tretyakova I. N.

*V. N. Sukachev Institute of Forest Russian Academy of Sciences, Siberian Branch - Separate division of  
FRC KSC SB RAS (IF SB RAS)  
[mtetra99@bk.ru](mailto:mtetra99@bk.ru)*

The collection of proliferating embryogenic cultures of Siberian larch and its hybrids, created at the V.N. Sukachev Institute of Forestry SB RAS, includes 54 cell lines (CL). We have evaluated the genetic stability of these embryogenic cultures during somatic embryogenesis in vitro using nuclear microsatellite loci and cytogenetic analysis. Young CLs aged from one to three years can maintain cytogenetic stability and contain a normal for this species diploid chromosome number in the karyotype ( $2n = 24$ ). Microsatellite analysis showed weak variability of CLs and their correspondence with the donor tree. Mutation accumulate in long-term proliferating CLs and the chromosome numbers changes ( $2n = 25$ ,  $2n = 26$ ). These CLs retain the ability to form mature somatic embryos. One particularly interesting CL in the collection is CL6, which was cytogenetically stable at the age of 11 with a diploid chromosome number ( $2n = 24$ ). CL6 did not correspond to the genotype of the donor tree in only two alleles out of eleven loci. The clones derived from CL6 are in complete correspondence with the genotype of CL6, according to microsatellite analysis. Consequently, such CLs can be successfully used to produce planting material for plantation forestry. However, as a result of the controlled pollination of cloned trees with pollen from a donor tree, a CL22.27.1 with a high mutation rate was obtained. These mutations led to changes in the alleles observed at several loci and changes in chromosome number. It is possible that, in this case, the effect of a closely related crossing has been manifested. Therefore, regular cytogenetic and molecular genetic control of nuclear microsatellite loci is very important when cloning plants via somatic embryogenesis. Identifying CLs with abnormal chromosome numbers is a great interest for genetics of coniferous plants and contributes to the understanding of developmental biology.

This research was funded by a grant number FWES-2024-0028.