

Искусственный мутагенез как инструмент для получения полиплоидных форм древесных растений

Ирина Владимировна Могилевская ✉, к.б.н., в.н.с., mogilevskaya-i@vfanc.ru, ORCID 0000-0001-8421-4767;
Софья Васильевна Мельник, инженер-исследователь, ORCID 0000-0001-5802-1339 –
лаборатория биотехнологий –

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук» (ФНЦ агроэкологии РАН), info@vfanc.ru, 400062, г. Волгоград, пр. Университетский, 97, Россия

Обзор посвящен анализу исследований российских и зарубежных ученых в области селекции древесных растений с использованием методов искусственного мутагенеза. Проанализированы работы по получению полиплоидных форм древесно-кустарниковых пород с возможностью их последующей интродукции в зоне аридного климата. Искусственное изменение плоидности с помощью химического мутагенеза приводит к увеличению или уменьшению числа набора хромосом по сравнению с растениями в исходном состоянии. В природных условиях такая модификация первоначальных форм может происходить спонтанно, иногда приводя к улучшению хозяйственно ценных признаков растений. Современные методы, основанные на достижениях биотехнологии растений, могут повысить генетическое разнообразие и ускорить процесс селекции, который будет способствовать получению устойчивых к болезням, вирусам, стрессам форм древесных пород. В статье приведены данные с середины XX века по использованию химических мутагенов для получения растений-полиплоидов с улучшенными характеристиками. Впервые уделено внимание получению полиплоидных форм древесных растений в культуре in vitro. Рассмотрены возможные способы оценки плоидности полученных древесных пород с помощью прямого подсчета хромосом или косвенно по увеличению количества хлоропластов и устьичных клеток на единицу площади листа.

Ключевые слова: селекция, химический мутагенез, полиплоидные формы, древесные растения, амитотики, колхицин, культура in vitro.

Работа выполнена в рамках государственного задания НИР ФНЦ агроэкологии РАН FNFE-2022-0008 «Разработать научные основы сохранения и воспроизводства ценных генотипов древесных и кустарниковых растений в культуре in vitro».

Поступила в редакцию: 18.10.2022

Принята к печати: 30.11.2022

Искусственный мутагенез является одним из основных источников получения материала для селекции растений. Применение различных видов излучений и химических веществ позволило исследователям создать большое количество ценных сельскохозяйственных культур и развить возможности применения мутагенеза для древесных растений.

Получение новых генотипов древесных пород с необходимыми характеристиками, а именно, с устойчивостью к различным неблагоприятным факторам окружающей среды, является актуальной задачей в рамках решения проблемы опустынивания, по данным исследователей [23], усугубившейся на территории Юга России после осенней засухи 2020 года и сложившихся засушливых условий весной 2021 года.

Целью обзора являлся анализ многолетнего опыта российских и зарубежных ученых в области использования методов химического мутагенеза для получения полиплоидных форм древесных растений, обладающих устойчивостью к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Материалы и методы. Проведен поиск и анализ литературных источников информации и интернет-ресурсов по применению методов искусственного мутагенеза в селекции древесных растений с

использованием современных наукометрических баз данных издательства Elsevier, Российского индекса научного цитирования, научного портала Research Gate, поисковой системы Google Scholar и Scimago Journal Ranking. Поиск литературных источников осуществлен за период с 1959 по 2022 годы. Поисковые запросы выполнялись по следующим ключевым словам на русском языке: селекция, древесные культуры, полиплоидия, химический мутагенез, колхицинирование.

Основная часть. Особенности мутагенеза древесных растений.

Индукцированные мутации возникают под действием химических, физических и биологических мутагенных факторов [25]. Мутационные изменения в генетическом аппарате клетки могут происходить на трёх уровнях: генные (точечные) мутации – когда происходит замена одного нуклеотида на другой; хромосомные aberrации – их разделяют на внутрихромосомные (делеции, инверсии, дупликации, транспозиции, фрагментации) и межхромосомные (транслокации); геномные мутации связаны с изменением хромосомного набора клетки [3, 7, 16, 21]. У древесных растений проявляются соматические мутации в точках роста (меристемных клетках) – почковые мутации. Полученные с помощью искусственного мутаге-

неза новые формы и сорта хвойных и лиственных растений являются более ценными, так как они имеют высокую скорость роста, продуктивность, являются более устойчивыми к действию биотических и абиотических факторов среды и превосходят начальные формы по другим параметрам [6].

Большое количество полиплоидов обитают на краю ареалов, в экстремальных условиях, т.е. являются более приспособленными к неблагоприятным условиям среды. Это связывают с тем, что количество копий каждого гена удваивается с каждым разом полногеномной дупликации (WGD) [26, 15].

Анализ литературных источников, описывающих получение полиплоидов у древесных растений, показал, что чаще всего используются химические мутагены. Rapoport I. A. в ходе своих исследований выделил ряд химических соединений: этилуретан и производные карбаминовой кислоты, акролеин, диэтилсульфаты, диазометан, нитрозометилуретан, окись этилена, этиленимин –обладающих сильным мутагенным действием. До этого открытия перечисленные вещества по механизму действия приравнивались к радиационным агентам [1]. Сегодня эту большую группу химических соединений разделяют на нуклеотид-аналоги и неаналоги. Первые вызывают мутации не сразу, а в процессе репликации и обладают небольшим спектром мутаций. Мутагены неаналогового типа являются источниками радикалов при реакциях метилирования, этилирования и т. п. в молекулы ДНК, группу данных соединений в своих исследованиях использовали отечественные ученые Privalova G. F., Shepot'eva V. F. [9, 3].

В специфичности воздействия химических веществ необходимо учитывать природу самого мутагена. Так, например, алкилирующие мутагены в умеренных дозах вступают в реакцию метилирования азотистых оснований, что может привести к изменению соотношения гетерохроматина и эухроматина в сторону увеличения первого и быть причиной появления высоко адаптивных свойств у древесных растений [24].

Искусственный мутагенез применяется в двух направлениях. При агротехническом направлении используются небольшие дозы мутагена для фенотипической модификации, что позволяет уменьшить время стратификации семян, повысить их всхожесть, улучшить ростовые процессы. Второе направление, генетико-селекционное, подразумевает использование более высоких доз мутагена для получения мутантных форм с потенциально ценными признаками [21].

Как правило, уже на начальных этапах развития полиплоидные формы древесных имеют морфологические отличия от исходных диплоидных растений. Такими признаками являются темно-зеленая окраска листьев, утолщенные черешки, увеличенное количество хлоропластов в замыкающих клетках устьиц и размеры устьичных клеток, а число их на единицу площади листа, наоборот, умень-

шено. Данные признаки являются косвенными, их нельзя считать достоверными, поэтому в литературе встречаются рекомендации оценивать число хромосом в соматических клетках и на основании этого считать окончательным подтверждение полиплоидного статуса растений [11]. В то же время исследователи Института леса НАН Беларуси (Гомель, Беларусь) и Института биоорганической химии (Пушино, Россия) считают, что возможен предварительный отбор полиплоидных клоновых линий по ряду морфологических признаков, поскольку последующий прямой подсчет числа хромосом подтверждает различие между исходными генотипами и полиплоидными или химерными формами по габитусу и скорости роста вегетативных органов [2], замечено и возрастание мезоморфности растений [20].

Еще один важный признак полиплоидных форм – замедленный рост у полученных с помощью искусственного мутагенеза растений. Такой признак чаще встречается среди хвойных пород, но может отмечаться и у лиственных. По результатам исследований [34] взрослые деревья *Betula pendula* Roth и *Betula pubescens* Ehrh с подтвержденной полиплоидной формой оказались ниже и имели увеличенную длину волокон и сосудов по сравнению с деревьями диплоидных форм. О целесообразности использования форм с измененным набором хромосом в селекции лесных древесных пород нет единого мнения. Например, у тетраплоидов некоторых видов *Pinus*, *Larix* и *Picea*, за исключением *Cryptomeria japonica*, наблюдается снижение интенсивности роста. Для таких растений основным хозяйственным назначением является использование в качестве декоративных парковых растений.

С тех пор, как было обнаружено триплоидное дерево с высокими показателями роста и устойчивостью, целью селекции стало получение и разведение триплоидных форм. Использование искусственной полиплоидии у лесных древесных пород в нашей стране было начато в 1934 году Pjatnickij S. S., получившим полиплоидные побеги у некоторых представителей родов *Catalpa*, *Fraxinus*, *Populus* и др. Искусственное получение полиплоидных форм рода *Populus* путем колхицинирования семян впервые провели в Москве на Весело-Боковеньковской селекционно-дендрологической опытной станции, где методы искусственной полиплоидизации были апробированы на древесных растениях некоторых видов: *Populus*, *Salix*, и гибридов *Populus*, *Betula*, *Corylus*, *Ulmus*, *Fraxinus* и др. [14].

На первом этапе мутагенеза используют амитотики для получения тетраплоидных растений в качестве родительских особей, а в дальнейшем из них – триплоидные деревья. Самое большое количество положительных результатов дала обработка колхицином. Это соединение представляет собой митотический яд, действие которого заключается в связывании с тубулином, что приводит к ингибированию полимеризации микротрубочек.

Такая связь нарушает сегрегацию хромосом во время мейоза и приводит к полиплоидии у растений. Многие растения, обработанные колхицином, показали измененные морфологические характеристики, такие как: задержка роста, более толстые морфологически измененные листья [28].

Для оперативного контроля и скрининга тетраплоидов Ewald D. с соавторами использовали метод подсчета количества хлоропластов в защитных клетках эпидермиса устьиц. Как показало их исследование, различия в среднем количестве хлоропластов между растениями-диплоидами и тетраплоидами оказались весьма значительными. У всех протестированных растений, содержащих тетраплоидный набор хромосом, наблюдали увеличенное количество хлоропластов на защитную клетку по сравнению с диплоидным растением. Для определения статуса пloidности образцы растений были дополнительно проанализированы с использованием проточной цитометрии, определяющей количество ДНК. Авторы впервые показали, что использование подсчета числа хлоропластов может быть эффективным и надежным способом для предварительного скрининга большого количества растений на предмет их пloidности [28, 33].

Колхицинирование древесных культур *in vitro*.

В XXI веке с помощью методов культивирования тканей стало возможным обрабатывать большое количество кончиков клональных побегов колхицином, регенерировать новые побеги и отбирать растения с удвоенным набором хромосом *in vitro* [36, 31]. Такой вид селекции в рамках мероприятий, направленных на отбор и создание нового растительного материала для производства биомассы, обрел новое значение и для древесных растений [28].

Butova G. P. с соавторами [4] получили тетраплоиды лесных видов в культуре *in vitro* путем обработки колхицином семян *B. pendula*, а тетраплоиды различных видов и форм *Populus* были получены с помощью каллусной культуры пыльничкового и соматического происхождения. Cai X. и Kang X.Y. [27] путем обработки колхицином получили регенерацию листовых эксплантов *P. Pseudosimonii*. Han C. с соавторами [29] использовали метод полиплоидизации на сегментах побегов *Eucalyptus grandis*, Tang Z. Q. с соавторами [35] использовали для колхицинирования эмбрионогенный каллус *Paulownia tomentosa* или гипокотили [30]. Mashkina O. S. и Isakov Ju. N. [12] сообщали о лучших результатах получения тетраплоидов *Populus* (*in vivo*, *in vitro*) с использованием метода культуры ткани в своих исследованиях. Li X. с соавторами получили тетраплоидные растения колхицинированием гипокотилей *Robinia pseudoacacia* L *in vitro*, при этом исследователи доказали преимущества перед диплоидными сортами в росте и стрессоустойчивости [32].

В НИИ садоводства Сибири имени М. А. Лисавенко собрали уникальный генофонд стериль-

ных диплоидных и триплоидных отборных форм *Microcerasus pumila*. Такой банк дает возможность создания нового поколения устойчивых сортов косточковых растений, пригодных для выращивания в суровых климатических условиях Сибири, Урала и северо-западной европейской зоны РФ, имеющих хорошее качество плодов и устойчивость к заболеваниям [18].

Mochalova O. V. с соавторами [13] получили полиплоидные по морфологическим признакам клонные линии эксплантов, чему способствовала обработка верхушек зрелых микропобегов амитотиками трифлуралином и колхицином в концентрациях 0,005-0,01% и 0,01-0,02%. Их жизнеспособность отличалась в зависимости от генотипа и концентрации мутагена. При этом более 20% регенерантов исследуемых растений имели удвоенное число хромосом.

К минусам проведения искусственной полиплоидизации можно отнести возникновение растений-миксоплоидов (химер), содержащих клетки разного уровня пloidности. Их соотношение обуславливает стабильность статуса пloidности таких растений. Mashkina O. S. и Isakov Ju. N. [12] на *P. alba* и его гибридах с *P. tremula* показали, что относительно стабильными являются полиплоиды, содержащие 70-90% триплоидных и тетраплоидных клеток. В случае уменьшенного количества клеток подобного типа до 50-60% со временем наблюдалась деполлиплоидизация растений, что могло полностью их вернуть на диплоидный уровень с возрастом (к 10-11 году). Tashmatova L. V. замечено, что после обработки семян 0,1% раствором колхицина в течение 24 и 48 часов полученные тетраплоиды имели нормальный рост, но отличались большими листьями, а химеры были низкими с нормальными листьями и междоузлиями [19]. Обработка такой же концентрацией колхицина семян *P. tugo*, по результатам исследований Kel'ko A. F. с соавторами, дала увеличение всхожести семян на 24% [8].

Для предотвращения появления миксоплоидных форм исследователи рекомендуют проведение работ по «расхимериванию». В естественных условиях это делают такими способами, как: срезки на пень, черенкование или прививки *in situ*, а в условиях *in vitro* можно использовать метод адвентивной регенерации [22, 11].

Xu C. с соавторами [37] для уменьшения процента миксоплоидных растений использовали обработку колхицином отобранных листовых эксплантов 5 генотипов рода *Populus*. Разрез листа на каждой из пяти стадий обрабатывали 30 мг/л колхицина в течение 3 дней. Результаты показали, что скорость образования тетраплоидов в значительной степени коррелирует со стадией развития каллуса *Populus*, и стадия 2 из 5 в развитии каллуса была оптимальной для получения тетраплоидов без образования химерных растений.

В работах по искусственной полиплоидизации нужно учитывать, что полученные таким образом

растения, как правило, мало пригодны для непосредственного использования в качестве новых сортов. Их называют иногда «сырыми полиплоидами», нуждающимися в длительной и упорной работе по созданию на их основе хозяйственно-ценных форм. В большинстве случаев индуцированные и спонтанно полученные растения служат лишь промежуточным звеном при создании новых сортов и форм растений [17].

В лаборатории биотехнологии ФНЦ агроэкологии РАН ведется работа по добавлению мини-

мальных концентраций колхицина в питательные среды *in vitro* с целью получения устойчивых к аридному климату генотипов с последующей адаптацией в нестерильных условиях и использования полученных полиплоидных форм как альтернативного варианта древесным насаждениям в связи с большим процентом зараженности, например, у *R. pseudoacacia* L. [5]. Модельными объектами для проведения данного исследования являются *Cotinus coggygia* Scop, *Caragana pygmaea* L, *R. pseudoacacia* L. (рис.).

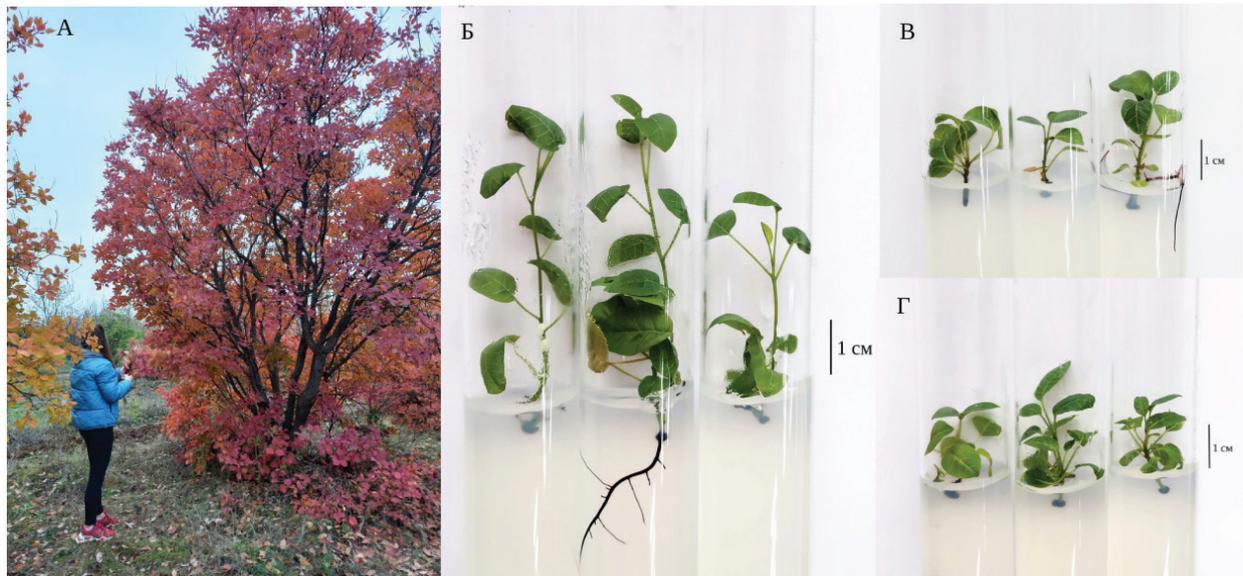


Рисунок. Работа по проведению искусственного мутагенеза *Cotinus coggygia*:
А – сбор материала ценных генотипов; Б – растения-регенеранты на среде Мурасиге-Скуга (MS);
В – на среде MS с добавлением колхицина, 0,01%; и колхицина, 0,02 % – Г

Заключение. Как показал анализ литературных источников, создание полиплоидных форм древесных и кустарниковых растений методом искусственного мутагенеза является сегодня распространенным «инструментом» в селекции, поскольку позволяет получить растения с потенциально полезными признаками. Наиболее часто встречается использование химических мутагенов, способствующих увеличению количества хромосом по сравнению с исходными образцами. Для определения плоидности растений исследователи используют косвенные методы, к которым относится подсчет количества устьичных клеток и хлоропластов, и прямые методы, заключающиеся в подсчете хромосом. Успешный результат зависит от концентрации амитотиков, времени обработки частей растений (семена, экспланты, верхушки микропобегов, проростки, точки роста, цветки, соцветия и т.п.). Эффективность полиплоидизирующего действия колхицина в значительной мере зависит от темпа деления клеток во время воздействия и индивидуальной восприимчивости генотипов древесных пород. По мнению авторов статьи, опыт российских и зарубежных исследователей будет полезен для селекции новых форм древесных растений *in vitro*, которые можно интродуцировать в

зонах аридного климата.

Литература:

1. Абилов С.К. Химические мутагены и генетическая токсикология // Природа. 2012. №. 10. С. 39-46. EDN PFPUNB
2. Азарова А.Б., Лебедев В.Г., Баранов О.Ю., Падутов В.Е., Шестибратов К.А. Подбор условий для получения полиплоидных форм лесных лиственных пород в культуре *in vitro* / Клеточная инженерия и биотехнология растений: тез. докл. Межд. научно-практ. конф., 13-15 фев. 2013, Минск, Беларусь= International Conference «Plant Cell Biology and Biotechnology», Minsk, Belarus, 13-15 feb, 2013/ Ред. совет В.В. Демидчик [и др.] - Минск, изд. БГУ, 2013. 253 с.
3. Астахова А.О., Кадыкова Е.Е., Зугланова М.С., Горожанина Е.В. Значение полиплоидии в растительном и животном мире//Интеграция научных исследований в решении региональных экологических и природоохранных проблем. 2020. С. 18-21.
4. Бутова Г.П., Табацкая Т.М., Машкина О.С., Вьюнова Л.Н., Бурдаева Л.М. Получение полиплоидов у древесных растений методом культуры тканей// Генетические и экологические основы повышения продуктивности лесов: сборник научных трудов / ответственный редактор С. А. Петров; Федеральная служба лесного хозяйства России, Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции. – Воронеж: Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции, 1993. С. 56-64.

EDN SAPCJV

5. Власов А.И., Бебия С.М., Кружилин С.Н., Прикня Д.О. О масштабной интродукции полиплоидных форм *Robinia pseudoacacia* L. в степной зоне как перспективном направлении научных исследований // Экономика и экология территориальных образований. 2022. Т. 6. № 2. С. 57-64. DOI 10.23947/2413-1474-2022-6-2-57-64. EDN UHDMBA

6. Генетические и экологические основы повышения продуктивности лесов, Воронеж: ФС ЛХ России. НИИЛГС, 1993. С. 56-64. EDN: RETREX

7. Гриф В.Г. Мутагенез и филогенез растений // Цитология. 2007. Т. 49. №. 6. С. 433-441. EDN: MPVSRB

8. Келько А.Ф., Слесаренко М.О., Караневский Р. И., Торчик В. И. Влияние химических мутагенов на всхожесть семян, рост и проявление декоративных признаков в семенном потомстве у представителей рода *Pinus* L // Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2021. Т. 65. №. 6. С. 708-714. DOI: 10.29235/1561-8323-2021-65-6-708-714

9. Кротова Л.А., Чибис С.П. Эколого-генетическое влияние химических соединений на адаптацию растений // Современные проблемы науки и образования. 2017. №. 6. С. 250-250. EDN: QJHICH

10. Лебедев В.Г., Азарова А.Б., Шестибратов К.А., Деменко В.И. Проявление соматической изменчивости у микроразмноженных и трансгенных растений // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2012. №1. С. 153-163. EDN OQQRHT

11. Лебедев В.Г., Шестибратов К.А. Опыт создания биотехнологических форм древесных растений // Лесоведение. 2015. №. 3. С. 222-232. EDN UAHMNR

12. Машкина О.С., Исаков Ю.Н. Генетико-селекционное улучшение тополя // Лесоведение. 2002. № 3. С. 68-73. EDN: UIEYPN

13. Мочалова О.В., Гусев Д.О. Индукция полиплоидии у вишни степной и микровишни песчаной через культуру in vitro // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30. № 9. С. 36-39. EDN WWRGOX

14. Потоцкая И.В., Кузьмина С.П. Генетика лесных древесных пород: курс лекций: учебное пособие. Омск: Омский ГАУ, 2018. 116 с.

15. Родионов А.В., Амосова А.В., Гнутиков А.А., Михайлова Ю.В., Пунина Е.О., Шнеер В.С., Лоскутов И.Г., Муравенко О.В. Роль межвидовой гибридизации и полногеномных дупликаций в эволюции растений: взгляд через призму геномики // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии : сб. науч. ст. по материалам XVII междунар. науч.-практ. конф. (Барнаул, 24-27 мая 2018 г.). Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2018. С. 431-434.

16. Сабиров Ж.Б. Пути возникновения структурных мутаций при химической природе мутагенеза // Гигиена труда и медицинская экология. 2015. №. 2(47). С. 26-31.

17. Седов Е.Н., Седышева Г.А., Серова З.М., Дутова Л.И., Ульяновская Е.В. Селекция яблони на полиплоидном уровне: итоги и перспективы // Садоводство и виноградарство. 2006. № 3. С. 18-21. EDN MGUNH

18. Симагин В.С. Перспективы использования отдаленной гибридизации в селекции вишни в связи с новыми представлениями о структуре рода *Cerasus* // С-х биология. 1999. № 5. С. 15-22.

19. Ташмагова Л.В., Мацнева О.В., Горбачева Н.В. Создание индуцированных тетраплоидов яблони // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. 2018. №. 4. С. 23-25. DOI: 10.30850/vrsn/2018/4/23-25

20. Фомин Л.В. Анатомо-физиологические показатели полиплоидных форм смородины // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2009. №. 11. С. 51-53. EDN: KWBCN

21. Царев А.П., Погиба С.П., Тренин В.В. Селекция и репродукция лесных древесных пород: Учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению «Лесное и ландшафтное хозяйство» – Москва: ООО «Издательская группа «Логос», 2003. 520 с. EDN VJEWAD

22. Царев А.П., Лаур, Н.В. Перспективные направления селекции и репродукции лесных древесных растений // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. 2013. №. 2 (332). С. 36-44. EDN PXDLQL

23. Шинкаренко С.С., Бартаев С.А. Оценка площади опустынивания на юге европейской части России в 2021 г. // Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса. 2021. Т. 18. № 4. С. 291-297. DOI: 10.21046/2070-7401-2021-18-4-291-297

24. Эйгес Н.С. Историческая роль Иосифа Абрамовича Рапопорта в генетике. Продолжение исследований с использованием метода химического мутагенеза // Вавилонский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 17. №. 1. С. 162-172. EDN RUGRBD

25. Эйгес Н.С., Волченко Г.А., Волченко С.Г. «Химический мутагенез» и «Фенотипическая активация ферментов»-крупнейшие открытия XX века. Ко дню рождения И.А. Рапопорта // История и педагогика естествознания. 2014. №. 1. С. 55. EDN TNAFSJ

26. Alix K., Gerard P.R., Shwarzacher T. Polyploidy and interspecific hybridization: partners for adaptation, speciation and evolution in plants. *Annals of botany*. 2017. V. 120. №. 2. P. 183-194. DOI: 10.1093/aob/mcx079

27. Cai X., Kang X.Y. In vitro tetraploid induction from leaf explants of *Populus pseudo-simonii* Kitag. *Plant Cell Rep*. 2011. V. 30. P. 1771-1778. DOI: 10.1007/s00299-011-1085-z

28. Ewald D., Ulrich K., Naujoks G. et al. Induction of tetraploid poplar and black locust plants using colchicine: chloroplast number as an early marker for selecting polyploids in vitro. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2009. V.99. P. 353-357. DOI: 10.1007/s11240-009-9601-3

29. Han C. Xu J. M., Du Z. H., Li G. Y., Zeng B. S., Wu S. J. and Wang W. Polyploidy induction of clone of *Eucalyptus grandis* with colchicine/ *Afr. J. Biotechnol*. 2011. V. 10. P. 14711-14717. DOI: 10.5897/AJB11.093

30. Jagannathan L., Marcotrigiano M. Phenotypic and ploidy status of *Paulownia tomentosa* trees regenerated from cultured hypocotyls. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 1986. V. 7. P. 227-236. DOI: 10.1007/BF00037739

31. Li Y.H., Kang X. Y., Wang S. D., Zhang Z. H., Chen H. W. Triploid Induction in *Populus alba* x *P. glandulosa* by Chromosome Doubling of Female Gametes. *Silvae Genetica*. 2008. V. 57. №. 1. P. 37. DOI:10.1515/sg-2008-0006

32. Li X., Zhang Z., Ren Y., Sun Y., Li Y. Induction and early identification of tetraploid black locust by hypocotyl in vitro. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2021. V.57(3), P. 372-379. DOI: 10.1007/s11627-020-10133-5

33. M. Endemann, K. Hristoforoglu, T. Stauber, E. Wilhelm. Assessment of age-related polyploidy in *Quercus robur* L. somatic embryos and regenerated plants using DNA flow cytometry. *Biologia Plantarum*. 2001. V. 44. P. 339-345. DOI:10.1023/A:1012426306493

34. Pieninkeroinen K., Valanne T. Old colchicine-induced polyploid materials of *Betula pendula* Roth and *Betula pubescens* Ehrh. *Ann. Sci. For.* 1989. V. 46. Suppl: P.264-266.

DOI: 10.1007/978-94-011-0491-3_9

35. Tang ZQ., Chen DL., Song ZJ. et al. In vitro induction and identification of tetraploid plants of *Paulownia tomentosa*. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2010. V. 102. P. 213-220. DOI: 10.1007/s11240-010-9724-6

36. Van Duren M., Morpurgo R., Dolezel J., Afza R. Induction and verification of autotetraploids in diploid banana (*Musa*

acuminata) by in vitro techniques. *Euphytica.* 1996. V. 88. №. 1. P. 25-34. DOI: 10.1007/BF00029262

37. Xu C., Zhang Y., Huang Z. Impact of the leaf cut callus development stages of *Populus* on the tetraploid production rate by colchicine treatment. *Journal of Plant Growth Regulation.* 2018. V. 37. №. 2. P. 635-644. DOI: 10.1007/s00344-017-9763-x

DOI: 10.34736/FNC.2022.119.4.016.108-114

Artificial Mutagenesis As a Tool for Obtaining Polyploid Forms of Woody Plants

Irina V. Mogilevskaya✉, K.B.N., Leading Researcher, mogilevskaya-i@vfanc.ru, ORCID 0000-0001-8421-4767, Sofya V. Melnik, Junior Researcher, ORCID 0000-0001-8421-4767 – Biotechnology Laboratory Federal State Budget Scientific Institution «Federal Scientific Center of Agroecology, Complex Melioration and Protective Afforestation of the Russian Academy of Sciences» (FSC of Agroecology RAS), e-mail: info@vfanc.ru, 400062, Universitetskiy Prospekt, 97, Volgograd, Russia

Abstract. The review is devoted to the analysis of research by Russian and foreign scientists in the field of woody plant breeding using artificial mutagenesis methods. The work on obtaining polyploid forms of tree and shrub species with the possibility of their subsequent introduction in the arid climate zone is analyzed. Artificial change of ploidy by chemical mutagenesis leads to an increase or decrease in the number of chromosome sets compared to plants in the initial state. In natural conditions, such modification of the original forms can occur spontaneously, sometimes leading to the improvement of economically valuable plant traits. Contemporary methods based on the achievements of plant biotechnology can increase genetic diversity and accelerate the selection process, which will contribute to the production of disease-resistant, virus-resistant, stress-resistant forms of tree species. The article presents data from the mid-twentieth century on the use of chemical mutagens to produce polyploid plants with improved characteristics. For the first time, attention is paid to obtaining polyploid forms of woody plants in in vitro culture. Possible ways of estimating the ploidy of the obtained tree species by direct counting of chromosomes or indirectly by increasing the number of chloroplasts and stomatal cells per unit area of the leaf are considered.

Keywords: breeding, chemical mutagenesis, polyploid forms, woody plants, amitotics, colchicine, culture in vitro

Received: 18.10.2022

Accepted: 30.11.2022

Translation of Russian References:

1. Abilev S.K. *Khimicheskie mutageny i geneticheskaya toksikologiya* [Chemical mutagens and genetic toxicology]. *Priroda* [Nature]. 2012. 10. pp. 39-46. EDN PFPUNB
2. Azarova A.B., Lebedev V.G., Baranov O.Yu., Padutov V.E., Shestibratov K.A. *Podbor uslovij dlya polucheniya poliploidnykh form lesnykh listvennykh porod v kul'ture in vitro* [Choosing conditions for obtaining polyploid forms of forest hardwoods in culture in vitro]. *Kletochnaya inzheneriya i biotekhnologiya rastenij: tez. dokl. Mezhd. nauchno-prakt. konf., 13-15 fev. 2013, Minsk, Belarus'* [Cellular engineering and biotechnology of plants: abstracts of reports of International Conference «Plant Cell Biology and Biotechnology». 13-15 feb. 2013]. Minsk. Belarus Stste University Publ. house, 2013. 253 p.
3. Astakhova A.O., Kadykova E.E., Zuglanova M.S., Gorozhanina E.V. Znachenie poliploidii v rastitel'nom i

zhivotnom mire [The significance of polyploidy in the plant and animal world]. *Integratsiya nauchnykh issledovanij v reshenii regional'nykh ekologicheskikh i prirodookhrannykh problem* [Integration of scientific research in solving the regional environmental and nature protective problems]. 2020. pp. 18-21.

4. Butova G.P., Tabatskaya T.M., Mashkina O.S., V'yunova L.N., Burdaeva L.M. *Poluchenie poliploidov u drevesnykh rastenij metodom kul'tury tkanej* [Obtaining polyploids from woody plants by tissue culture method]. *Geneticheskie i ekologicheskie osnovy povysheniya produktivnosti lesov* [Genetic and ecological foundations of increasing the forest productivity]: a compilation of scientific works / Executive editor S. A. Petrov. Voronezh: Scientific Research Institute of Forest Genetics and Breeding Publishment, 1993. pp. 56-64. EDN SAPCJV

5. Vlasov A.I., Bebiya S.M., Kruzhilin S.N., Priknya D.O. *O masshtabnoj introduksii poliploidnykh form Robinia pseudoacacia L. v stepnoj zone kak perspektivnom napravlenii nauchnykh issledovanij* [On the large-scale introduction of *Robinia pseudoacacia L.* polyploid forms in the steppe zone as a promising area of scientific research]. *Ekonomika i ekologiya territorial'nykh obrazovanij* [Economics and ecology of territorial entities]. 2022. T. 6. 2. pp. 57-64. DOI 10.23947/2413-1474-2022-6-2-57-64

6. *Geneticheskie i ekologicheskie osnovy povysheniya produktivnosti lesov, Voronezh: FS LKH Rossii* [Genetic and ecological bases of increasing forest productivity, Voronezh: Federal Forestry Service of Russia]. Scientific Research Institute of Forest Genetics and Breeding Publishment, 1993. pp. 56-64. EDN: RETREX

7. Grif V.G. *Mutagenез i filogeneз rastenij* [Mutagenesis and phylogeny of plants]. *TSitologiya* [Cytology]. 2007. T. 49. 6. pp. 433-441. EDN: MPVSRB

8. Kel'ko A.F., Slesarenko M.O., Karanevskij R.I., Torchik V.I. *Vliyanie khimicheskikh mutagenov na vskhozhest' semyan, rost i proyavlenie dekorativnykh priznakov v semennom potomstve u predstavitelej roda Pinus L* [Influence of chemical mutagens on seed germination, growth and appearance of decorative features in seed progeny of representatives of the *Pinus L.* genus]. *Reports of the National Academy of Sciences of Belarus.* 2021. T. 65. 6. pp. 708-714. DOI: 10.29235/1561-8323-2021-65-6-708-714

9. Krotova L. A., Chibis S. P. *Ekologo-geneticheskoe vliyanie khimicheskikh soedinenij na adaptatsiyu rastenij* [Ecological and genetic influence of chemical compounds on plant

adaptation]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Contemporary problems of science and education]. 2017. 6. pp. 250-250. EDN: QJHICH

10. Lebedev V.G., Azarova A.B., Shestibratov K.A., Demenko V.I. *Proyavlenie somaklonal'noj izmenchivosti u mikrorazmnozhennykh i transgennykh rastenij* [Appearance of somaclonal variability in micro-reproduced and transgenic plants]. *Izvestiya Timiryazevskoj sel'skokhozyajstvennoj akademii* [Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy]. 2012. 1. pp. 153-163. EDN OQQRHT

11. Lebedev V.G., Shestibratov K.A. *Opyt sozdaniya biotekhnologicheskikh form drevesnykh rastenij* [The experience of creating biotechnological forms of woody plants]. *Lesovedenie* [Forestry]. 2015. 3. pp. 222-232. EDN UAHMNR

12. Mashkina O.S., Isakov Yu.N. *Genetiko-seleksionnoe uluchshenie topolya* [Genetic and breeding improvement of poplar]. *Lesovedenie* [Forestry]. 2002. 3. pp. 68-73. EDN: UIEYPN

13. Mochalova O.V., Gusev D.O. *Induktsiya poliploidii u vishni stepnoj i mikrovishni peschanoj cherez kul'turu in vitro* [Induction of polyploidy in steppe cherry and sandy cherry through the in vitro culture]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK* [Achievements of science and technology of agro-industrial complex]. 2016. T. 30. 9. pp. 36-39. EDN WWRGOX

14. Pototskaya I.V., Kuz'mina S.P. *Genetika lesnykh drevesnykh porod* [Genetics of forest tree species]: course of lectures: textbook. Omsk. SAU. Publ. house, 2018. 116 p.

15. Rodionov A.V., Amosova A.V., Gnutikov A.A., Mikhajlova Yu.V., Punina E.O., Shneer V.S., Loskutov I.G., Muravenko O.V. *Rol' mezhvidovoj gibridizatsii i polnogenomnykh duplikatsij v evolyutsii: vzglyad cherez prizmu genomiki* [The role of interspecific hybridization and genome-wide duplications in plant evolution: a view through the prism of genomics]. *Problemy botaniki Yuzhnoj Sibiri i Mongolii* [Problems of Botany in Southern Siberia and Mongolia]: compilation of scientific articles based on the materials of the XVII International Scientific and Practical Conference. Barnaul. ASU Publ. house. 2018. pp. 431-434.

16. Sabirov Zh.B. *Puti voznikoveniya strukturnykh mutatsij pri khimicheskoy prirode mutageneza* [Ways of structural mutations occurrence in the chemical nature of mutagenesis]. *Gigiena truda i meditsinskaya ekologiya* [Occupational hygiene and medical ecology]. 2015. 2(47). pp. 26-31.

17. Sedov E.N., Sedysheva G.A., Serova Z.M., Dutova L.I., Ul'yanovskaya E.V. *Selektsiya yabloni na poliploidnom urovne: itogi i perspektivy* [Apple tree breeding at the polyploid level: results and prospects]. *Sadovodstvo i vinogradarstvo* [Horticulture and viticulture]. 2006. 3. pp. 18-21. EDN MGUHT

18. Simagin V.S. *Perspektivy ispol'zovaniya otdalenoj gibridizatsii v selektsii vishni v svyazi s novymi predstav-*

leniyami o strukture roda Cerasus [Prospects of using remote hybridization in cherry breeding in connection with new visions about the structure of the Cerasus genus]. *S-kh. Biologiya* [Agricultural Biology]. 1999. 5. pp. 15-22.

19. Tashmatova L.V., Matsneva O.V., Gorbacheva N.V. *Sozdanie indutsirovannykh tetraploidov yabloni* [Creation of induced tetraploids of apple trees]. *Vestnik Rossijskoj sel'skokhozyajstvennoj nauki* [Bulletin of the Russian Agricultural Science]. 2018. 4. pp. 23-25. DOI: 10.30850/vrsn/2018/4/23-25

20. Fomin L.V. *Anatomo-fiziologicheskie pokazateli poliploidnykh form smorodiny* [Anatomical and physiological parameters of currant polyploid forms]. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of the Altai SAU]. 2009. 11. pp. 51-53. EDN: KWBCN

21. Tsarev A.P., Pogiba S.P., Trenin V.V. *Selektsiya i reproduktsiya lesnykh drevesnykh porod* [Selection and reproduction of forest tree species]: Textbook for students of higher educational institutions studying in the direction of "Forestry and landscape management". Moscow. LLC "Logos Publishing Group", 2003. 520 p. EDN VJEWAD

22. Tsarev A.P., Laur N.V. *Perspektivnye napravleniya selektsii i reproduktsii lesnykh drevesnykh rastenij* [Promising directions of forest woody plants breeding and reproduction]. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenij. Lesnoj zhurnal* [Proceedings of higher educational institutions. Forest journal]. 2013. 2 (332). pp. 36-44. EDN PXDLQL

23. Shinkarenko S.S., Bartalev S.A. *Otsenka ploshchadi opustynivaniya na yuge evropejskoj chasti Rossii v 2021 g* [Assessment of the desertification area in the south of the European part of Russia in 2021]. *Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa* [Contemporary problem of remote sensing of the Earth from space]. 2021. T. 18. № 4. C. 291-297. DOI: 10.21046/2070-7401-2021-18-4-291-297

24. Ejges N.S. *Istoricheskaya rol' Iosifa Abramovicha Rapoporta v genetike. Prodolzhenie issledovanij s ispol'zovaniem metoda khimicheskogo mutageneza* [The historical role of Joseph Abramovich Rapoport in genetics. Continuation of research using the method of chemical mutagenesis]. *Vavilovskij zhurnal genetiki i selektsii* [Vavilov Journal of Genetics and Breeding]. 2014. T. 17. No1. pp. 162-172. EDN RUGRBD

25. Ejges N.S., Volchenko G.A., Volchenko S.G. «*Khimicheskij mutagenez*» i «*Fenotipicheskaya aktivatsiya fermentov*» - *krupnejšie otkrytiya XX veka. Ko dnyu rozhdeniya I.A. Rapoport* ["Chemical mutagenesis" and "Phenotypic activation of ferments" are the largest discoveries of the twentieth century. On the birthday of I.A. Rapoport]. *Istoriya i pedagogika estestvoznaniya* [History and pedagogy of natural science]. 2014. 1. pp. 55. EDN TNAFSJ

Цитирование. Могилевская И.В., Мельник С.В. Искусственный мутагенез как инструмент для получения полиплоидных форм древесных растений // Научно-агрономический журнал. 2022. №4(119). С. 108-114. DOI: 10.34736/FNC.2022.119.4.016.108-114

Авторский вклад. Авторы настоящего исследования принимали непосредственное участие в планировании, выполнении и анализе данного исследования, ознакомились и одобрили представленный окончательный вариант.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Citation. Mogilevskaya I.V., Melnik S.V. Artificial Mutagenesis As a Tool for Obtaining Polyploid Forms of Woody Plants. *Scientific Agronomy Journal*. 2022. 4(119). pp. 108-114. DOI: 10.34736/FNC.2022.119.4.016.108-114

Author's contribution. Authors of this research paper have directly participated in the planning, execution, or analysis of this study. Authors of this paper have read and approved the final version submitted.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.