

## Механізми регуляції мінливості та добору в клітинних популяціях *in vitro*

Стабільна ритміка розмноження (кількості поділів) клітин, розмежування у часі розмноження клітин із різними геномами не лише протягом циклу вирощування (пасажу), але і доби свідчать про наявність як фізіологічного, так і генетичного гомеостазу в сформованих популяціях культивованих клітин вищих рослин. У результаті утворюється генетично гетерогенна, динамічна і разом із тим фізіологічно та генетично стабільна біологічна система. Очевидно, в клітинних популяціях існують певні механізми, які підтримують динамічну різноманітність (гетерогенність) клітинних популяцій. В їх основі лежить природний добір, спрямований на створення оптимального (для конкретних умов вирощування) співвідношення клітин із різних генотипів, що і зумовлює порівняно високу адаптивність і відносну стабільність сформованих клітинних популяцій *in vitro*.

Так, аналіз калюсної культури гаплопапусу протягом 5-го року вирощування *in vitro* показав, що він є міксоплоїдним із варіюванням за числом хромосом від 2 до 48 при  $2n = 4$ . Модальний клас формувався лініями ди-, три- та тетраплоїдних клітин, а також лініями анеуплоїдних клітин. За тривалого культивування спостерігається відносна збалансованість міксоплоїдної популяції. Враховуючи видиму стабільність співвідношення клітин різних рівнів плоїдності на фоні постійного, порівняно високого рівня мінливості, що призводить до появи клітин зі зміненими числами хромосом (понад 8 % анафазних аберацій), можна говорити про встановлення в цій популяції динамічної рівноваги клітин із різним набором хромосом. Ця збалансованість зумовлена дією переважно стабілізуючого добору.

Наявність генетичного гомеостазу в генетично гетерогенних клітинних популяціях найчіткіше виявляється під час клонування. Теоретично клонування має приводити до отримання однорідних за спадковими властивостями клітинних ліній. Однак нащадки ізольованих клітин спадково

гетерогенні, причому здебільшого настільки, що практично не відрізняються від вихідних популяцій.

Найчіткіше це продемонстровано в дослідах із культивованими клітинами кукурудзи. Вивчення клонів, отриманих від індивідуальних клітин і протопластів вихідної міксоплоїдної клітинної популяції, тривалий час вирощуваної в умовах *in vitro*, показало, що спочатку за рівнем плоїдності клони різні. Очевидно, вони були започатковані клітинами з різним числом хромосом — диплоїдними, тетраплоїдними, анеуплоїдними тощо. Проте через рік всі клони сформували генетично гетерогенні клітинні лінії, які за розподілом клітин із різним числом хромосом не відрізнялися від вихідного міксоплоїдного штаму.

### **Фенотипова гетерогенність та успадковуваність**

Спадкова гетерогенність популяцій культивованих клітин і високий рівень їх геномної мінливості можуть зумовлювати нестабільність продуктивності і гетерогенність культури за багатьма фенотиповими ознаками, в тому числі і за рівнем накопичення вторинних метаболітів. Остання є типовою кількісною ознакою.

Вивчення успадкування кількісних ознак пов'язане з їх вимірюванням, результати яких виражають у вигляді характеристик отриманих розподілів, таких як середня арифметична ознака ( $\bar{x}$ ), середнє квадратичне відхилення ( $\sigma$ ), варіанса або дисперсія ( $\sigma^2$ ), похибка середньої арифметичної ознаки ( $S_{\bar{x}}$ ) та коефіцієнт мінливості.

Мінливість кількісних ознак, яка зумовлює фенотипову гетерогенність популяції, може бути спричинена також наслідком дії чинників навколишнього середовища. Цю мінливість позначають терміном «паратипічна мінливість». Враховуючи, що паратипічна мінливість значною мірою зумовлена

модифікаціями, потрібно знати, наскільки фенотипова гетерогенність, вияв паратипічної мінливості залежать від генотипу.

Одним із найважливіших параметрів, що характеризують популяцію за кількісними ознаками, є коефіцієнт успадкованості ( $h^2$ — від англійського heritability — успадковуваність), який відображає частку спадкової мінливості в загальній фенотиповій мінливості популяції. Однак успадковуваність як суто статистичне поняття — це характеристика не тільки ознаки, а й популяції і умов середовища, в яких знаходяться особини цієї популяції. Зокрема, чим генетично однорідніша досліджувана група організмів, тим нижчі коефіцієнти успадкованості, і навпаки. Відповідно показник  $h^2$  зменшується за довготривалого добору за ознакою. Водночас за більшої варіації зовнішніх умов значення  $h^2$  будуть нижчими, а за однорідних (стабільних) умов — вищими. Оптимізація умов існування організмів підвищує коефіцієнт успадкованості, бо сприяє повнішому вияву генетичних потенцій. Тобто встановлені показники цього параметра стосуються конкретних популяцій, особини яких знаходяться в конкретних умовах існування. Значення коефіцієнта успадкованості може коливатись в межах 0,0—1,0, а в окремих випадках мати від'ємну величину (зі знаком мінус).

Коефіцієнт  $h^2$  дає змогу прогнозувати найефективніші методи роботи, результати добору як у разі оптимізації умов вирощування, так і застосування різних систем добору. Чим вище значення коефіцієнта  $h^2$  у досліджуваній групі організмів, тим ефективнішим має бути добір за цією ознакою.

У клітинних популяціях успадковуваність визначають трьома способами:

- за реакцією популяції на дію добору (так звана реалізована успадковуваність);
- на основі кореляції між ознаками батьківських культур (штамів) і отриманих від них клонів-нащадків;
- методом зіставлення дисперсії ознаки в популяції і дисперсії тієї самої ознаки серед нащадків окремих клітин.

Останній спосіб ґрунтується на тому, що в популяції загальна дисперсія (ва-

ріанса) ознаки ( $\sigma_i$ ) складається з дисперсії, зумовленої дією факторів середовища

( $\sigma_2$ ), та дисперсії, зумовленої спадковими (генотиповими чи епігенетичними) відмінностями між клітинами ( $\sigma^*$ ). У потомстві однієї клітини (якщо не враховувати можливість виникнення мутацій) генотипові відмінності відсутні, і мінливість зумовлюється факторами середовища (за своєю природою є паратипічною). Тому різниця між дисперсією ознаки в популяції і середньою дисперсією в клонах відповідає генотиповій спадковій варіансі. Відношення цієї різниці до дисперсії ознаки в популяції показує відносний внесок спадковості в загальну мінливість ознаки, тобто характеризує успадковуваність ознаки. Однак фенотипова варіабельність залежить і від взаємодії спадковість—середовище, проте цю варіансу в клітинних популяціях визначити не вдається. Частково вплив взаємодії спадковість—середовище нівелюється тим, що для визначення середньої внутрішньо-клональної дисперсії беруть не 3—5 клонів, а 10—20.