

УДК (575.22+576.5):582.573.21

**МІНЛИВІСТЬ МОРФОГЕННОЇ
ТА НЕМОРФОГЕННОЇ КУЛЬТУРИ ТКАНИН
UNGERNIA VICTORIS
ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ RAPD-АНАЛІЗУ**

О.М. БУБЛИК, І.О. АНДРЕЄВ, К.В. СПІРІДОНОВА, В.А. КУНАХ

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Україна, 03143, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150,
e-mail: kunakh@imbg.org.ua

Методом RAPD-ПЛР встановлено, що культура тканин *U. victoris* характеризується низьким рівнем геномної мінливості. Ступінь генетичних змін неморфогенної культури тканин був вищим, ніж морфогенної. Виявлено вплив тривалості культивування та фітогормонального складу живильного середовища на рівень соматональних змін обох типів культур.

Ключові слова: *Ungernia victoris*, соматональна мінливість, морфогенна та неморфогенна культури тканин, RAPD-ПЛР.

Вступ. Унгернія Віктора, *Ungernia victoris* Vved. ex Artjushenko – багаторічна цибулинна рослина з родини *Amaryllidaceae*. Вид є цінним для медицини як джерело ізохінолінових алкалоїдів: галантаміну, лікорину та інших. Галантамін – інгібітор холінестерази – у традиційній медицині застосовують при рухових і сенсорних порушеннях, пов'язаних із невритами, радикалітами й у відновлюваному періоді гострого дитячого поліомієліту. Лікорин використовують для лікування гострих і хронічних бронхітів і бронхоектатичних захворювань. Крім того, тканини *U. victoris* містять біологічно активні полісахариди, які використовують при лікуванні порушень обміну речовин, сольового балансу, а також при променевої хвороби [1].

Унгернія Віктора – ендемік, розповсюджений лише на Гіссарському хребті і його південних відрогах (Таджикистан, Узбекистан) [1]. Природний ареал виду обмежений, і це створює проблему, пов'язану з пошуком альтернативних джерел сировини для одержання біологічно активних речовин і збереженням його генофонду. Ефективним вирішенням може стати використання культури тканин. Зокрема, можливе отримання калюсних культур – продуцентів БАР; регенерація із калюсних культур забезпечує високий коефіцієнт розмноження [2].

Відомо, що вирощування рослинних тканин *in vitro* часто супроводжується різноманітними геномними змінами – соматональною мінли-

© О.М. БУБЛИК, І.О. АНДРЕЄВ, К.В. СПІРІДОНОВА, В.А. КУНАХ, 2008

вістю, яка набуває особливого розмаху у дедиференційованих калюсних тканинах [2, 3]. Для багатьох видів на хромосомному рівні показано, що стабільність геному культивованих клітин залежить від типу калюсу. Морфогенний калюс загалом має нормальну кількість хромосом, в той час як неморфогенний характеризується високою частотою анеуплоїдії і поліплоїдії [4, 5]. Проте вивчення калюсів різної морфогенетичної здатності на рівні ДНК не проводили. Таке дослідження на більш тонкому рівні дозволить одержати дані для подальшого вдосконалення методик культивування *in vitro*, а також наблизитися до розуміння генетичних змін, які супроводжують програми дедиференціювання та морфогенезу в культурі *in vitro*.

Разом із тим, у культурі *in vitro* на рівень та особливості соматоклональної мінливості завжди діє складний комплекс чинників, серед яких – тривалість культивування та вміст фітогормонів у живильному середовищі [2, 4]. Тому в нашій роботі додатково розглядається дія цих чинників.

У роботі методом RAPD-ПЛР досліджено динаміку генетичних змін у морфогенній та неморфогенній культурі тканин *U. victoris*, які вирощували на середовищах із різним вмістом фітогормонів.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження була рослина *U. victoris* і отримані від неї калюсні культури. Рослина зростала у природному ареалі на південних схилах Гіссарського хребта, Таджикистан. Калюс одержано зі стерильних свіжих лусок цибулини за розробленою раніше методикою [6]. Для індукції калюсогенезу й подальшого культивування отриманого калюсу використали жи-

вильні середовища 5C1 та 5C01 з мінеральною основою за Волосовичем та ін. [7], доповнені 1 мг/л тіаміну, по 0,5 мг/л піридоксину й ніотинової кислоти, 2 мг/л гліцину, 80 мг/л мезоінозиту, 500 мг/л гідролізату казеїну. Середовище 5C1 додатково містило 1 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л кінетину, 5C01 – 2 мг/л α -НОК і 1 мг/л кінетину. Тривалість пасажу становила близько 30 діб.

Виділення ДНК із інтактних рослин і калюсів, а також полімеразну ланцюгову реакцію з довільними праймерами (RAPD-ПЛР) проводили за описаними раніше методиками [8]. Було використано 24 десятичленних праймери довільної послідовності, характеристики яких наведено в табл. 1.

Для кількісної оцінки RAPD-поліморфізму дані представляли у вигляді бінарної матриці, у якій наявність або відсутність у RAPD-спектрах однакових за розміром ампліконів позначали відповідно як стан “1” або “0”. На підставі отриманої матриці за методом Нея [9] визначено генетичні відстані та проведено кластерний аналіз незваженим парногруповим методом з арифметичним усередненням (UPGMA) (для обчислень використано програму PopGen) [10]. Для графічної побудови дендрограми застосували програму Treeview [11].

Результати та обговорення

Культуру тканин унгернії Віктора одержували зі шматочків лусок цибулини на двох середовищах, що відрізнялися за вмістом фітогормонів: середовище 5C1 містило 1 мг/л 2,4-Д та 0,1 мг/л кінетину, середовище 5C01 – 2 мг/л α -НОК і 1 мг/л кінетину. На обох середовищах отримано калюси, які за морфологією можна поділити на два типи: морфогенний і неморфогенний. Калюс першого типу

Таблиця 1. Послідовність RAPD-праймерів, використаних для аналізу інтактної рослини і калюсних культур *U. victoris*, та характеристика їхніх ПЛР-продуктів

Праймер	Нуклеотидна послїдовність (5'– 3')	Враховано амплїконів, шт.	Полїморфних амплїконів, шт.	Праймер	Нуклеотидна послїдовність (5'– 3')	Враховано амплїконів, шт.	Полїморфних амплїконів, шт.
A01	CAGGCCCTTC	11	0	A17	GACCGCTTGT	11	2
A02	TGCCGAGCTG	15	0	A19	CAAACGTCGG	16	0
A03	AGTCAGCCAC	4	0	A20	GTTGCGATCC	12	0
A04	AATCGGGCTG	11	0	B01	GTTTCGCTCC	14	0
A05	AGGGGTCTTG	13	1	B02	TGATCCCTGG	9	0
A07	GAAACGGGTG	8	0	B03	CATCCCCCTG	6	1
A08	GTGACGTAGG	12	0	B05	TGCGCCCTTC	13	2
A09	GGGTAACGCC	10	0	B06	TGCTCTGCC	11	1
A10	GTGATCGCAG	13	0	B07	GGTGACGCAG	16	0
A11	CAATCGCCGT	10	0	B08	GTCCACACGG	7	1
A12	TCGGCGATAG	9	0	B10	CTGCTGGGAC	10	0
A14	TCTGTGCTGG	8	0	Сума	шт.	262	8
A16	AGCCAGCGAA	13	0		%	100	3,1

мав світло-жовтий колїр та пухку грубозернисту структуру. Відмічено утворення морфологічно диференційованих структур – маленьких корїнців і лусочок, які за описаних умов вирощування істотно не збільшувалися в розмірах і не давали початку регенерантам. Калюс другого типу (неморфогенний) – щільна, іноді дрібнозерниста тканина, від світло-бежевого до темно-жовтого кольору – не утворював морфоструктур при культивуванні.

Калюсні тканини, які вирощували на обох середовищах, відбирали для молекулярно-генетичних досліджень через 1 рік (6–8-й пасаж); 2 роки (16–19-й пасаж) та 3 роки (28–30-й пасаж) після введення в культуру *in vitro*. Морфогенний калюс із середовища 5C1 та неморфогенний – з 5C01 загинули після двох років культивування внаслідок втрати життєздатності. Геномні зміни оцінювали шляхом порівняння RAPD-спектрів культивованих тканин

та інтактної рослини, від якої вони отримані.

Для ПЛР-аналїзу використано 24 десятинуклеотидних RAPD-праймери, які забезпечували синтез чїтких відтворюваних фрагментів розміром у діапазоні 280–2160 п.н. Кількість амплїконів залежно від праймера становила 4–16 (в середньому 10,9 на праймер). Загальна кількість врахованих ПЛР-продуктів склала 262, із них 8 (3,1%) виявили відмінності між рослиною-донором експлантів та калюсними культурами.

Варїабельні амплїкони спостерїгали у спектрах продуктів шести праймерів (табл. 1). У частини поліморфних фрагментів характер мінливості був подібним для усіх досліджених калюсних тканин. Так, при збільшенні тривалості культивування на обох середовищах відбувалося поступове підвищення інтенсивності чотирьох варїабельних фрагментів, які в RAPD-спектрах рослини спостерїгали у залишкових кілько-

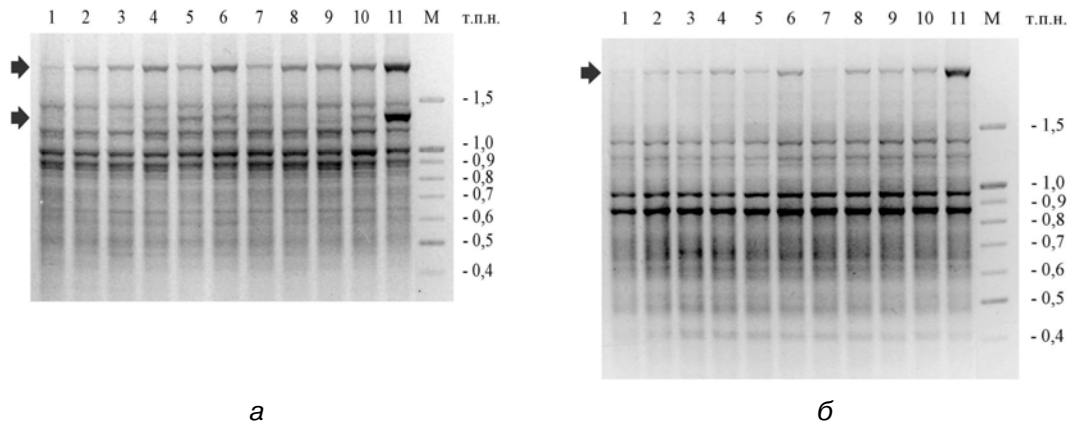


Рис. 1. Електрофоретичні спектри продуктів ампліфікації ДНК материнської рослини та калюсних культур унгернії Віктора: а) праймер В05 виявив помітне підвищення інтенсивності окремих фрагментів у динаміці культивування; б) із праймером А-17 виявлено варіабельність фрагментів за інтенсивністю. 1 – інтактна рослина, 2-11 – отримані від неї калюсні культури (5С1 та 5С01 – назва живильного середовища, М та Н – тип калюсу, морфогенний та неморфогенний відповідно, після дефісу вказано номер пасажу): 2 – 5С1-М-6, 3 – 5С1-Н-6, 4 – 5С1-М-19, 5 – 5С1-Н-19, 6 – 5С1-Н-30, 7 – 5С01-М-6, 8 – 5С01-Н-8, 9 – 5С01-М-18, 10 – 5С01-Н-16, 11 – 5С01-М-28, М – маркер молекулярної маси 100bp + 1,5 Kb Ladder. Варіабельні амплікони позначено стрілками

стях, а саме фрагментів А05-1440, В05-1330, В05-1850 та В06-1990 (вказано назву праймера, з яким було отримано фрагмент, та, після дефісу, приблизний розмір фрагмента в п.н.). Їхня інтенсивність сягала максимального значення в морфогенній калюсній культурі 28 пасажу на середовищі 5С01 (рис. 1а).

Варіабельність решти ампліконів спостерігали лише у тканинах із певним типом росту на одному із середовищ. Так, на середовищі 5С1 у неморфогенного калюсу в 19-му та 30-му пасажах виявили значне підвищення інтенсивності фрагмента А17-960 (рис. 1б) та зникнення фрагмента В08-680. На середовищі 5С01 у неморфогенного калюсу в 16-му пасажі спостерігали значне зниження інтенсивності фрагмента А17-650, а у морфогенного калюсу в 28-му пасажі – зникнення фрагмента В03-720. Таким чином, у досліді виявлено тенденцію до зростання кількості поліморфних амплі-

конів із віком культури незалежно від типу росту.

Розрахунки генетичних відстаней за Неєм [9], проведені на основі даних обробки електрофореграм ПЛР-продуктів, показали, що в цілому ступінь генетичних змін у неморфогенного калюсу вищий, ніж у морфогенного (табл. 2). Ці відмінності були виразнішими на середовищі 5С01 – генетична відстань неморфогенної культури від рослини перевищувала таку морфогенної після першого року перебування в культурі у 2 рази, а після другого – у 2,5 рази. На середовищі 5С1 генетичні відстані від рослини після першого року культивування були однаковими для обох типів культур, після другого відмінності неморфогенного калюсу від рослини перевищували аналогічний показник морфогенного в 2 рази.

Тенденція, що простежується для всіх культур незалежно від типу калюсу та середовища, – накопичення генетич-

Таблиця 2. Генетичні відстані за Неєм (Nei, 1978) між інтактною рослиною та калюсними культурами *U. victoris*, розраховані на підставі результатів RAPD-аналізу, %

Об'єкт		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Рослина		1	–										
Калюсні культури	5С1	М–6	2	0,77	–								
		Н–6	3	0,77	0,00	–							
		М–19	4	1,15	0,38	0,38	–						
		Н–19	5	2,32	1,54	1,54	1,15	–					
		Н–30	6	2,32	1,54	1,54	1,15	0,00	–				
	5С01	М–6	7	0,38	0,38	0,38	0,77	1,93	1,93	–			
		Н–8	8	0,77	0,00	0,00	0,38	1,54	1,54	0,38	–		
		М–18	9	0,77	0,00	0,00	0,38	1,54	1,54	0,38	0,00	–	
		Н–16	10	1,93	1,15	1,15	0,77	1,15	1,15	1,54	1,15	1,15	–
		М–28	11	1,93	1,15	1,15	0,77	1,15	1,15	1,54	1,15	1,15	0,77

Примітка: 5С1 та 5С01 – назва живильного середовища; М та Н – тип калюсу, морфогенний та неморфогенний відповідно, після дефісу вказано номер пасажу.

них змін у процесі культивування. Винятком був неморфогенний калюс із середовища 5С1, зростання рівня відмінностей якого від рослини після 19-го пасажу не спостерігали. У решти випадків у кожній наступній точці аналізу, порівняно з попередньою, значення генетичних відстаней між калюсом і рослиною збільшувалися в 1,5–2,5 рази (табл. 2). Поряд із зростанням рівня генетичних відмінностей культивованих тканин від рослини-донора експлантів із часом відбувалася також їхня дивергенція. Обидві ці тенденції ілюструє дендрограма, зображена на рис. 2.

Поряд із впливом типу росту та тривалості культивування на рівень геномної мінливості *in vitro* досліджено також роль відмінностей у складі живильних середовищ. На обох середовищах генетичні зміни спостерігали вже після першого року культивування. Разом із тим, накопичення відмінностей від рослини у калюсних тканин, які вирощували на 5С01, в цілому відбувалося повільніше. Це було особливо помітним у випадку морфогенної культури.

Таким чином, культура тканин *U. victoris* характеризується низьким рівнем геномної мінливості – у досліджених культур змін зазнавали лише поодинокі RAPD-фрагменти. Спостерігали різницю між морфогенною та неморфогенною культурами одного віку, вирощуваних на живильних середовищах однакового складу: ступінь генетичних змін у неморфогенній культурі був вищим, ніж у морфогенній. У неморфогенній культурі виявлено швидче накопичення перебудов геному – у процесі культивування генетичні дистанції між двома типами калюсних культур на обох середовищах зростали (табл. 2).

Отримані дані свідчать про залежність між рівнем соматональної мінливості та рівнем диференціації культивованих тканин. Подібну залежність виявлено і для культур *in vitro* інших рослин. Зокрема, при дослідженні культивованих тканин кормового буряку встановлено наявність у неморфогенному калюсі клітин із вищим рівнем плоідності і зростання частоти хромосомних аберацій поряд із гіперметилуванням залишків цитозину, на відміну від морфогенного

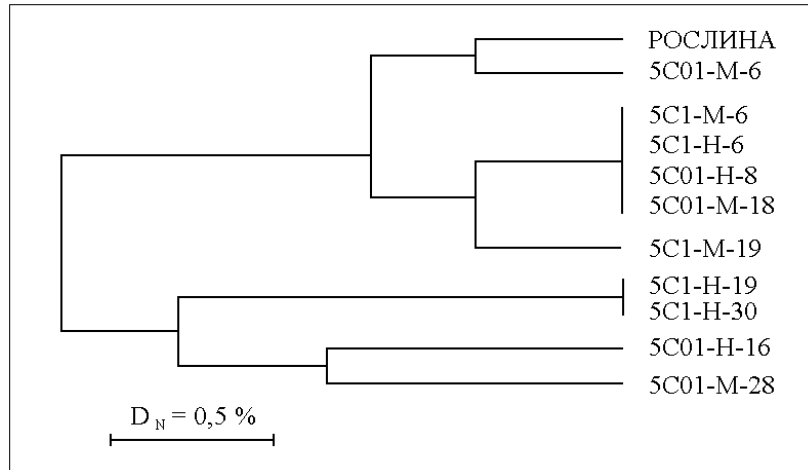


Рис. 2. Дендрограма генетичної подібності калюсних культур унгернії Віктора та рослини-донора експлантів, побудована UPGMA-методом за генетичними відстанями Нея D_N (Nei, 1978). 5C1 та 5C01 – назва живильного середовища, М та Н – тип калюсу, морфогенний та неморфогенний відповідно, після дефісу вказано номер пасажу

[5]. Інші літературні дані надають непрямі докази цієї залежності, наприклад, аналіз морфологічних ознак регенерантів, отриманих із культури тканин різного ступеня диференціації у ячменю [12] і бегонії [13].

Виявлені зміни RAPD-спектрів не були характерними для культури тканин *U. victoris* лише одного з типів росту, знайдені варіабельні амплікони не можуть бути кандидатами на роль молекулярних маркерів рівня диференціювання тканин. Раніше існування відмінностей між двома типами калюсу на молекулярному рівні було продемонстровано у дуба: серед чотирьох калюсних ліній, які походили від однієї рослини, лінія, що втратила здатність до ембріогенезу, відрізнялася за RAPD-маркерами від трьох інших ембріогенних ліній [14]. Аналогічно, за RAPD-маркерами знайдено відмінності між здатною і нездатною до регенерації калюсними лініями овочевого стахісу [15], хоча автори не вважають, що знайдені відмінності RAPD-

спектрів можна вважати безпосередньо пов'язаними із здатністю калюсів до регенерації.

У процесі культивування калюсних культур обох типів *U. victoris* спостерігали накопичення генетичних змін. Вже через рік після введення в культуру *in vitro* знайдено відмінності від рослини-донора експлантів. При подальшому культивуванні відбувалося збільшення генетичних відстаней між рослиною та калюсними тканинами, а також дивергенція останніх між собою (табл. 2). В цілому, отримані результати узгоджуються із наявними літературними даними про існування залежності між рівнем соматональної мінливості та тривалістю культивування *in vitro* [2, 4].

Генетичні зміни калюсів одного віку та морфотипу з різних живильних середовищ були вищими на середовищі 5C1, за винятком однорічного неморфогенного калюсу (табл. 2). Тенденція до здійснення більшого мутагенного впливу середовищем 5C1 може бути пов'язана із тим, що до його складу

входить ауксин 2,4-Д. Літературні дані свідчать про те, що 2,4-Д істотніше впливає на зміни генетичного апарату клітини, ніж НОК у таких самих концентраціях, або концентраціях того ж порядку [16].

Серед поліморфних ампліконів були такі, що виявляли зміни в калюсах на обох середовищах (рис. 1а). Такий характер їхньої мінливості наводить на думку про існування в геномі *U. victoris* так званих "гарячих точок" – нестабільних ділянок із підвищеним рівнем мутацій. Існування ділянок геному з підвищеною схильністю до перебудов в культурі *in vitro* продемонстровано раніше в роботах на житі [17] та часнику [18].

Висновки

Методом RAPD-ПЛР встановлено, що культура тканин *U. victoris* характеризується низьким рівнем геномної мінливості: змінюються лише поодинокі RAPD-фрагменти. Ступінь генетичних змін неморфогенної культури тканин був вищим, ніж морфогенної, що вказує на існування оберненої залежності між рівнем соматоклональної мінливості й рівнем диференціації культури тканин. Генетичні зміни в калюсних тканинах виникали протягом першого року культивування і в подальшому накопичувалися з віком культури. Виявлено вплив фітогормонального складу живильного середовища на рівень геномних змін культур тканин *U. victoris* – щодо цих культур 2,4-Д має більшу мутагенну дію, ніж α -НОК у близькій концентрації.

Перелік літератури

1. Хамидходжаев С. А. Лекарственные растения рода унгерния в средней Азии. – Ташкент: "Фан", 1982. – 148 с.
2. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-

біохімічні основи. – К.: Логос, 2005. – 724 с.

3. Rani V., Raina S.N. Genetic fidelity of organized meristem-derived micropropagated plants: a critical reappraisal // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* – 2000. – Vol.36, №5. – P. 319-330.
4. Gupta P.K. Chromosomal basis of somaclonal variation in plants // *Somaclonal Variation and Induced Mutations in Crop Improvement* / Eds Jain S.M., Brar D.S., Alhoowalia B.S. – Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, 1998. – P. 149-168.
5. Дубровная О.В., Тищенко Е.Н. Геномная изменчивость морфогенного и неморфогенного каллуса кормовой свеклы // *Цитология и генетика.* – 2003. – Т.37, № 6. – С. 23 – 30.
6. Кунах В.А., Можилевская Л.П., Потапчук Е.А., Музыка В.И., Колонина И.В. Получение культуры тканей *Ungernia victoris* и ее особенности при выращивании на питательных средах различного состава // *Биотехнология.* – 2007. – № 1. – С. 14-21.
7. Воллосович А.Г., Пучинина Т.М., Николаева Л.А. Оптимизация состава макросолей для культуры тканей *Rauwolfia serpentina* Benth. // *Растительные ресурсы.* – 1979. – Т.15, № 4. – С. 516-526.
8. Бублик О.М., Андреев І.О., Спірідонова К.В., Музыка В.І., Колоніна І.В., Кунах В.А. Генетична гетерогенність рідкісного ендемічного виду *Ungernia victoris* (*Amaryllidaceae*): RAPD-аналіз // *Український ботанічний журнал.* – 2008. – № 2 (прийнято до друку).
9. Nei M. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals // *Genetics.* – 1978. – 89. – P. 583-590.
10. Yeh F.C., Boyle T.J.B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // *Belgian Journal of Botany.* – 1997. – 129. – P. 157.
11. Page R. D. M. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers // *Computer Applications in the Biosciences.* – 1996. – 12. – P. 357-

- 358.
12. Bregitzer Ph., Zhang Sh., Cho M.-J., Lemaux P.G. Reduced somaclonal variation in barley is associated with culturing highly differentiated, meristematic tissues // *Crop Science*. – 2002. – 42, №4. – P. 1303 – 1308.
13. Bouman H., De Klerk G.-J. Measurement of the extent of somaclonal variation in begonia plants regenerated under various conditions. Comparison of three assays / / *Theor. Appl. Genet.* – 2001. – 102, №1. – P. 111–117.
14. Sanchez M.C., Martinez M.T., Valladares S., Ferro E., Vieitez A.M. Maturation and germination of oak somatic embryos originated from leaf and stem explants: RAPD markers for genetic analysis of regenerants // *J. Plant Physiol.* – 2003. – 160, № 6. – P. 699-707.
15. Кочиева Е.З., Хуссейн И.А., Легкобит М.П., Хадеева Н.В. Использование RAPD-анализа для выявления геномного полиморфизма у представителей рода *Stachys* // *Генетика*. – 2002. – Т.38, №5. – С. 629-634.
16. Mishiba K., Okamoto T., Mii M. Increasing ploidy level in cell suspension cultures of *Doritaenopsis* by exogenous application of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid // *Physiologia Plantarum*. – 2001. – 112, №2. – P. 142–148.
17. Linacero R., Freitas Alves E., Vazques A.M. Hot spots of DNA instability revealed through the study of somaclonal variation in rye // *Theor. Appl. Genet.* – 2000. – 100, №3-4. – P. 506-511.
18. Al-Zahim M.A., Ford-Lloyd B.V., Newbury H.J. Detection of somaclonal variation in garlic (*Allium sativum* L.) using RAPD and cytological analysis // *Plant Cell Reports*. – 1999. – 18, №6. – P. 473-477.

Представлено С.С. Малютюю
Надійшла 24.12.2007

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОРФОГЕННОЙ
И НЕМОРФОГЕННОЙ КУЛЬТУРЫ
ТКАНЕЙ *UNGERNIA VICTORIS*
ПО РЕЗУЛЬТАТАМ RAPD-АНАЛИЗА

Е.Н. Бублик, И.О. Андреев, Е.В. Спиридонова, В.А. Кунах

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Украина, 03143, г. Киев, ул. Акад. Заболотного, 150,
e-mail: kunakh@imbg.org.ua

Методом RAPD-ПЦР установлено, что культура тканей *U. victoris* характеризуется низким уровнем геномной изменчивости. Степень генетических изменений неморфогенной культуры тканей была более высокой, чем морфогенной. Выявлено влияние продолжительности культивирования и фитогормонального состава питательной среды на уровень соматоклональных изменений обоих типов культур.

Ключевые слова: *Ungernia victoris*, соматоклональная изменчивость, морфогенная и неморфогенная культуры тканей, RAPD-ПЦР.

VARIABILITY OF *UNGERNIA VICTORIS*
MORPHOGENIC AND NON-MORPHOGENIC
TISSUE CULTURE AS RESULTS FROM
RAPD-ANALYSIS

O. M. Bublyk, I. O. Andreev,
E. V. Spiridonova, V. A. Kunakh

Institute of molecular biology and genetics of Natl. Acad. of Sci. of Ukraine
Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika
Zabolotnogo str., 150,
e-mail: kunakh@imbg.org.ua

Ungernia victoris tissue culture was found through the RAPD-analysis to be distinguished by low level of genome variability. Non-morphogenic tissue culture showed higher level of genetic variation than morphogenic one. Contribution of tissue culture duration and nutrient medium phytohormone composition to the level of somaclonal alterations in both types of culture was estimated. *Key words:* *Ungernia victoris*, somaclonal variability, morphogenic and non-morphogenic tissue cultures, RAPD-PCR.