



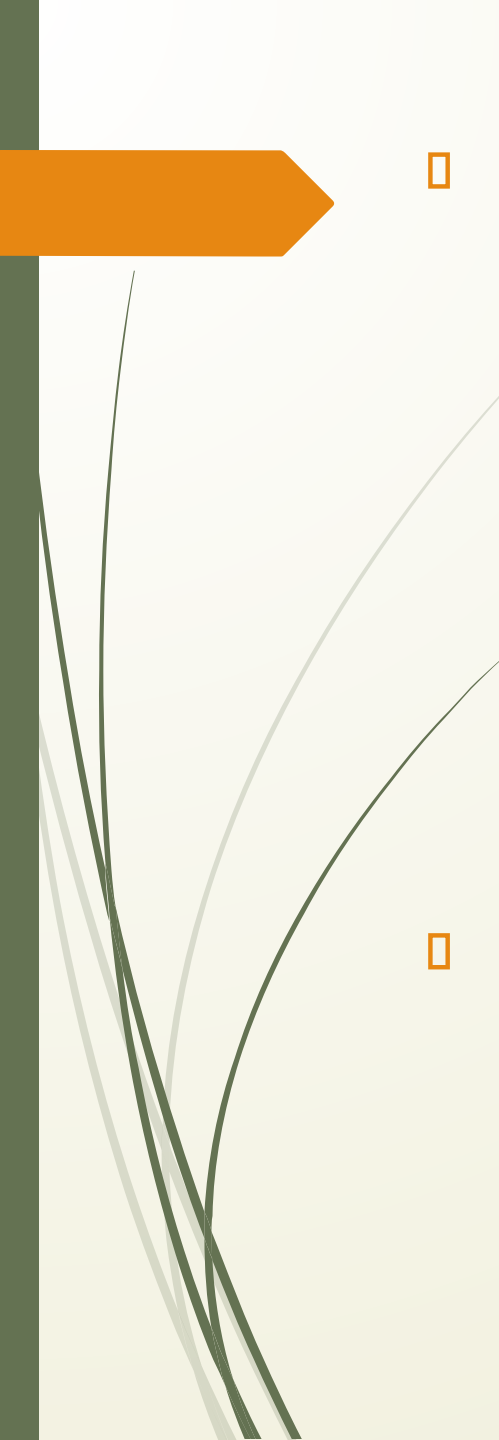


Методы и условия культивирования тканей и клеток растений

- Существующие методы культивирования изолированных клеток и тканей *in vitro* можно разделить на 2 группы: вспомогательные технологии и вторая группа методов. Она ведет к самому, независимому от традиционных методов селекции, получению новых форм и сортов растений.
- **Вспомогательные: Оплодотворение *in vitro*** (преодоление прогаммной несовместимости) проводится в том случае, когда невозможно осуществить оплодотворение м/у выбранными парами в естественных условиях. Это вызвано несколькими причинами:
 - 1) физиологические (несоответствие во времени созревания пыльцы и т.д.);
 - 2) морфологические (короткая пыльцевая трубка или блокирование роста ее на разных этапах развития и т.д.).
- Оплодотворение *in vitro* можно осуществить двумя способами:
 - а) культивирование на искусственной агаризованной пит.среде завязи с нанесенной на нее готовой пыльцой;
 - б) завязь вскрывается и на пит.среду переносятся кусочки плаценты с семяпочками, вблизи которых или непосредственно на ткани плаценты культивируется готовая пыльца.
- Визуально определить, прошло оплодотворение *in vitro* или нет, можно по быстро увеличивается в размерах семяпочкам. Сформировавшийся зародыш не переходит в состояние покоя, а сразу прорастает и дает начало гибридному поколению.

- 
- 
- **Преодоление постгамной несовместимости.** Постгамная несовместимость при отдаленной гибридизации возникает после оплодотворения. Часто при этом образуются щуплые невсхожие семена. Причиной м.б. расхождение во времени развития зародыша и эндосперма. Из-за слабого развития эндосперма зародыш бывает неспособен к нормальному прорастанию. В таких случаях из зрелой щуплой зерновки изолируют зародыш и выращивают его в питательной среде.
 - **Клональное микроразмножение отдаленных гибридов.** Эмбриокультура дает возможность вырастить гибридные растения из неполноценных зародышей. Однако выход гибридных растений мал, и гибриды часто бывают стерильны. Иногда, например, при селекции гречихи, трудно воспроизвести в потомстве уникальные генотипы из-за перекрестного опыления культуры. В связи с этим перед исследованиями встает задача - размножить и сох-ть получение растения. В этом помогает метод клонального микроразмножения. Размножают гибриды путем активации развития меристемы пазушных почек (черенкованием стерильных побегов), адвентивными почками или регенерацией растений из каллусной ткани, в частности полученной при культивировании зародышей

- 
- 
- **Получение гаплоидов *in vitro* и использование их в селекции.** Роль гаплоидных растений в селекции очень велика. Применение их позволяет быстрее найти нужную комбинацию, сокращает время для создания сорта. Гаплоиды используются для получения стабильных гомозиготных линий. Для мутагенеза также удобнее использовать гаплоиды, поскольку на гаплоидном уровне облегчается отбор рецессивных мутаций.
 - **Криосохранение растений.** Криосохранение соматических клеток растений в жидком азоте (температура - 196° С) - новое направление в биотехнологии, которое широко стало развиваться с начала 70-х годов XX столетия. Цель данной технологии заключается в сохранении в культуре *in vitro* генофонда, а также в обеспечении селекционеров в любое время генотипом, имеющим искомые признаки: необходимая пыльца для проведения гибридизации; уникальные и единичные семена, в том числе не выносящие обезвоживания; трансформированные, мутантные, гибридные клетки разных видов растений, способных к морфогенезу *in vitro*; зиготические и соматические зародыши и т.д. В настоящее время разработаны условия криосохранения для культивируемых клеток более 30 видов, каллусных культур (около 10 видов), изолированных протопластов (8 видов), сохранения меристем (25 видов) и кончиков стебля (13 видов).

- 
- **Клеточная селекция растений: Сомаклональная вариабельность.** Метод культуры изолированных клеток, тканей и органов растений *in vitro*, широко используемый для решения многих фундаментальных вопросов клеточной биологии, физиологии и генетики растений, сегодня находит все большее применение и при создании новых биотехнологий. Начиная с первых работ по культивированию растительных клеток, тканей и органов особый интерес у исследователей вызвал вопрос о том, какие клеточные изменения могут происходить в изолированных клетках, растущих на искусственных питательных средах, и причины, их вызывающие. С разработкой техники получения растений-регенерантов из каллусной ткани появилась возможность получать новые формы растений, отличающиеся как по фенотипическим, так и по генетическим признакам от исходных растений. Такое разнообразие среди клеточных линий и растений-регенерантов получило название «сомаклоны», хотя еще в 70-80-е годы нашего столетия было принято называть растения, регенерировавшие из каллусной ткани, «калликлонами», а из протопластов - «протоклонами».
 - **Селекция растений на клеточном уровне.** Значительный интерес представляет вопрос об использовании клеточной селекции в комплексе с получением соматклонов. Одна из наиболее сильных сторон культуры *in vitro* в создании технологий для с/х – возможность на основе соматклональных вариаций или индуцированных мутаций отбирать в жестких селективных условиях клетки, характеризующиеся искомыми признаками.



□ Для проведения клеточной селекции используют следующие приемы:

- прямая (позитивная) селекция, при которой выживает лишь определенный искомый мутантный тип клеток;
 - непрямая (негативная) селекция, основанная на избирательной гибели делящихся клеток дикого типа и выживания метаболически неактивных клеток, но требующая дополнительной идентификации у них мутационных изменений;
 - тотальная селекция, при которой индивидуально тестируются все клеточные клоны;
 - визуальная селекция и неселективный отбор, когда вариантная линия может быть идентифицирована среди всей популяции клеток визуально или при использовании биохимических методов (тонкослойная или жидкостная хроматография, радиоиммунный анализ, микроспектрофотометрия и др.).
- 