

**Биотехнология  
в селекции растений**  
Часть 8.  
Селекция на декоративные  
качества

# Методы получения оздоровленных растений:

**Тестирование** большого числа исходного материала

**Размножение** с последующим тестированием

**Термотерапия** или хемиотерапия, тестирование, размножение, новое тестирование



## Цветочные, плодово-ягодные культуры

**Снятие апикального доминирования** (земляника, ежевика, малина, яблоня, слива, вишня, груши, сирень, жимолость, кизильник, роза, хризантема и др.)

### Развитие адвентивных почек/побегов

(из чешуй или сегментов базальной части донца луковиц, сегментов листовой пластинки и междоузлий, гиацинты, лилии, гладиолусы, тюльпаны, нарциссы и др.)

**Клональное размножение** сложных гибридов (например, Орхидные)



## **Клональное микроразмножение редких и исчезающих видов**

Бегонии, хризантемы, гиацинты, фиалки, эписции, лилии, гладиолусы, фритиллярии

В течение **1,5-2 месяцев** на одном экспланте можно получить **от 8** (гиацинты) **до 70** (бегонии) **адвентивных почек**

**Коммерческое микроразмножение** становится быстрорастущим промышленным производством

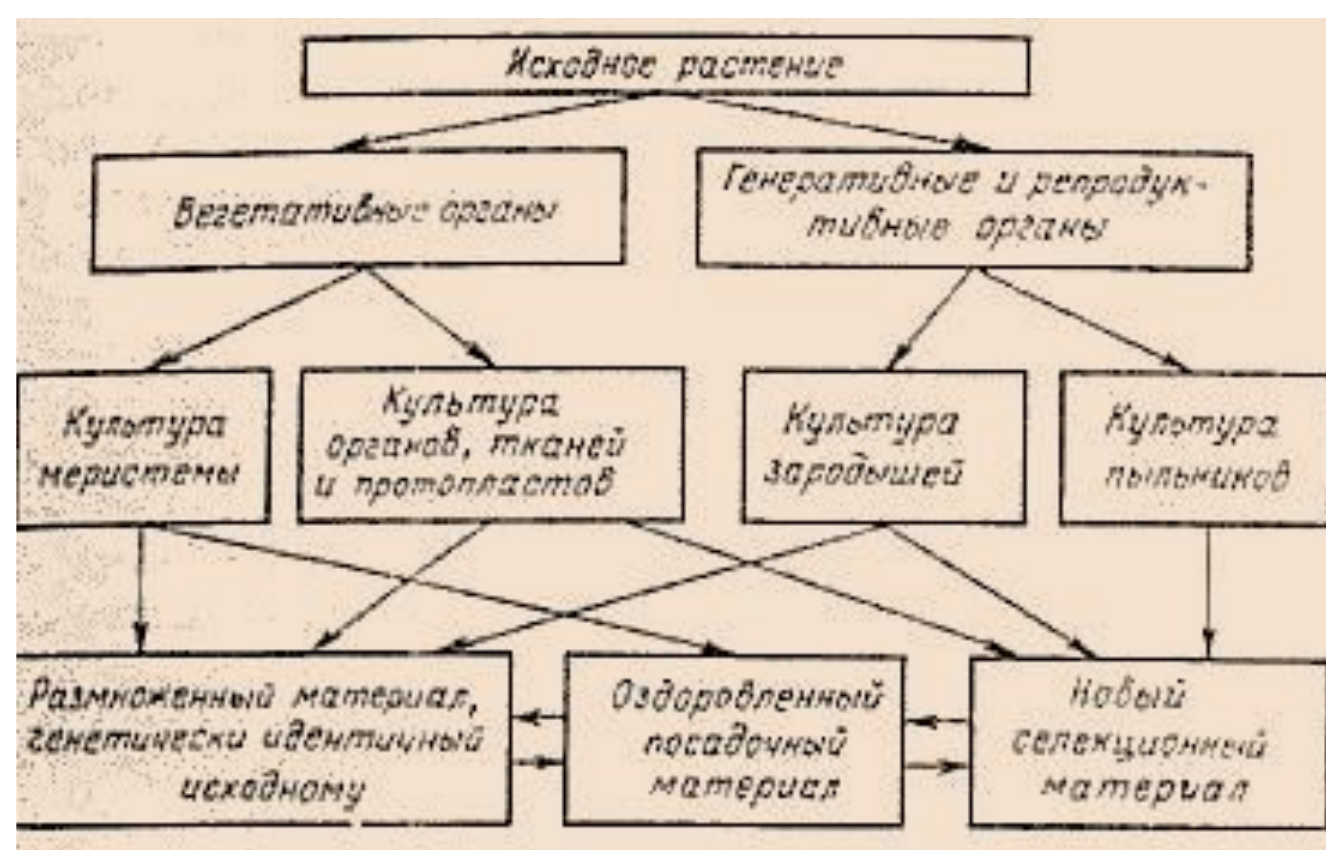
## **Культивирование зародышей *in vitro***

Облегчение селекционно-генетической работы  
Черешня, персик, груша, миндаль, хурма

# Хвойные породы

Необходимость сохранения генофонда,  
декоративные свойства,  
трудность размножения черенками

Можжевельник,  
криптомерия,  
пихта,  
лиственница,  
псевдотсуга,  
кипарис, туя,  
араукария,  
секвойя, ель,  
сосна



**Южные виды хвойных пород** обладают большими способностями к размножению, чем ткани и органы растений северных популяций (сосна – ель)

**Для индукции образования адвентивных почек:**

1. Культивирование эксплантов на среде, содержащей цитокинин в небольшой концентрации в течение 1,5-2 месяцев
2. Выдерживание зародышей в концентрированном растворе цитокининов в течение 1-5 ч
3. Культивирование зародышей на среде с повышенной концентрацией цитокинина (более 88,0 мкМ) в течение 5-8 суток с последующей пересадкой на безгормональную среду

Чем отчетливее **мутовчатость**, тем выше способность к размножению

**А какие культуры Вы уже можете предложить для теплиц?**

Мы ориентируемся на запросы наших клиентов. Сейчас заказывают для закладки теплиц **герберу, хризантему, альстремерию, дельфиниум** на срезку, горшечные **бромелиевые, пеларгонии.**

**А для открытого грунта?**

В предложениях наших поставщиков – более 100 видов, а сортовое разнообразие модных культур порой исчисляется сотнями.

**Это хосты, японские ирисы, лилейники, гейхеры и гейхереллы, бруннеры, баданы, папоротники, примулы, дельфиниумы и т.д. и т.п.**



## Насколько микроклоны дороже обычных укорененных черенков?

По тепличным и садовым культурам цена в зависимости от сорта составляет 50–100 руб/шт. Если брать, например, гейхеру, то у нас она идет по 47–82 руб/шт., а, по нашим данным, импортные укорененные черенки хозяйства приобретают за 48–50 руб.

Так что с учетом отдачи материала меристемного происхождения (урожайность, качество, отсутствие болезней) и снижения транспортных расходов получается даже выгоднее.





## Никитский ботанический сад

Впервые в стране научными сотрудниками группы были разработаны методы диагностики вирусных болезней и оздоровления растений **гвоздики ремонтантной, хризантемы, антуриума Андрэ, бегонии Элатиор, тюльпанов, лилии, гиацинта, нарциссов, гиппеаструма, гладиолусов**

Эти разработки были отмечены серебряными и бронзовыми медалями ВДНХ СССР и активно внедрялись в производство на базе Меристемного комплекса (г. Симферополь) и Оранжерейного комплекса (п. Горки-10, Московская обл.).



В рамках международной программы сотрудничества СЭВ были начаты совместные исследования с немецкими и болгарскими учеными по проблемам **диагностики вирусных болезней промышленных цветочных культур и мерам борьбы**

В Степном отделении НБС (п. Генеральское, Симферопольский р-он) проводилось изучение видового состава вирусов **косточковых плодовых культур** и разрабатывались методы получения безвирусного посадочного материала.

Разрабатывались методы ранней диагностики фенотипической изменчивости растений-регенерантов различных сортов **розы садовой**, способы получения фузариозоустойчивых сортов **гвоздики** и устойчивых к мучнистой росе сортов **персика** в условиях *in vitro* и *in vivo*

Также особое внимание уделялось биотехнологическим исследованиям субтропических плодовых культур (**киви, зизифуса, ананаса, хурмы, азимины**) с помощью биотехнологических методов.

Изучены основные пути регенерации растений различных видов, сортов киви и зизифуса.

При этом показано влияние фитогормонов на процессы индукции развития эксплантов.

Впервые разработан способ соматического эмбриогенеза **зизифуса** из семядолей зиготических зародышей трех сортов и получены полноценные



С 1994 года выполнены исследования по заданию «Разработка технологий создания разнообразного генетического материала **персика, абрикоса, алычи** на основе соматоклональных вариаций, эмбриокультуры, индуцированной изменчивости *in vitro* на **безвирусной основе**».

Были определены биотические и абиотические факторы культивирования зиготических зародышей (зрелых и незрелых) **персика, абрикоса, алычи** и с помощью сочетания методов традиционной селекции и биотехнологии получены новые формы растений. В этот же период усовершенствована модель системы освобождения растений **персика, абрикоса и алычи** от вирусов и на ее основе разработаны биотехнологии получения и клонального микроразмножения безвирусного посадочного материала.

В период 2001-2005 гг. биотехнологические исследования проводились по двум основным направлениям:

**«Изучить условия** длительного депонирования растительного материала и создать *in vitro* коллекции ценных видов и сортов растений, разработать новые методы селекции *in vitro* и получить новые безвирусные формы цветочных, плодовых и эфиромасличных культур» и

**«Разработать новые методы селекции *in vitro* розы садовой, иссопа обыкновенного, абрикоса, алычи, персика и миндаля».**

Применение новых методов селекции *in vitro* позволило значительно ускорить селекционный процесс и создать генетическое разнообразие **розы садовой, иссопа обыкновенного, абрикоса, алычи, персика и миндаля.**

Разработан способ применения **колхицина в условиях *in vitro*** для получения фертильных форм розы садовой из межвидовых гибридов Весенняя Заря и Каховка, полиплоидных – иссопа обыкновенного (из растений с синей, розовой и белой окраской венчика цветка) и персика (сортов Турист, Орфей).

Выявлены основные факторы, регулирующие морфогенез **розы садовой, иссопа обыкновенного и персика *in vitro***. Разработан способ **обработки колхицином** вегетативных почек и микропобегов: определены экспозиции (7-14 суток) и концентрации препарата (10-100 мкМ).

В результате химического мутагенеза *in vitro* получены новые формы **розы садовой, иссопа обыкновенного, персика** и дана их оценка по морфобиологическим признакам.

В период 2006-2010 гг. исследования выполнялись по фундаментальным проектам

**«Разработать систему экспресс-диагностики вируса шарки (Plum pox virus) персика, абрикоса, алычи, сливы и выделить устойчивые к шарки генотипы, использовать в селекции *in vitro* и размножении безвирусного посадочного материала»,**

**«Создать в условиях *in vitro* коллекции ценного растительного генофонда на основе изучения биотических и абиотических факторов безпересадочного культивирования регенерантов плодовых, субтропических и декоративных культур») и**

**«Создать высокопродуктивные соматклоны киви, зизифуса, хурмы, фейхоа с применением методов селекции *in vitro*»**

Для оптимизации поиска толерантных и устойчивых к вирусу шарки сортов разработан **хроматографический метод** качественного и количественного исследования стероидных гликозидов (СГ) применительно к растениям рода *Prunus* – персику, абрикосу, алыче и сливе.

Сравнивая содержание стероидных гликозидов в почках и листьях, у толерантных к вирусу шарки сортов абрикоса Харкот, Старк Эрли Оранж СГ не обнаружены, а в **пораженных растениях восприимчивых сортов** Маркулешти, Детский, Мечта **обнаружено по 1-2 СГ**, что подтверждается результатами тестирования этих сортов с применением системы «Пиротест».



Установлено, что **содержание СГ** в древесине, почках и листьях **восприимчивых** сортов и **инфицированных** растениях **выше**, чем в устойчивых сортах и здоровых растениях.

Комплексный подход, используемый при отборе устойчивых и толерантных к вирусу шарки сортов абрикоса, алычи и сливы позволил выявить толерантные на естественном инфекционном фоне сорта:

абрикоса – Крымский Амур, Старк Эрли Оранж, Хендерсон;

алычи – Вишневая Ранняя, Оленька, Субхи Ранняя;

сливы – Нивена, Монфор.

Отобран растительный материал, который послужит сырьем для выделения обнаруженных стероидных гликозидов с целью углубленного исследования их влияния на устойчивость растений к вирусу шарки.

Создан **генобанк растений *in vitro***, представленный

27 сортами розы садовой (Дольче Вита, Нью-Доун, Конрад Хенкель, Пусста, Леди Ридинг, Казино, Аджимушкой, Коралловый Сюрприз, Херсонес, Крымские Огоньки, Золотая Осень, Пестрая Фантазия, Пламя Востока, Благовест, Дина, Профессор Виктор Иванов, Седая Дама, Девичьи Грезы, Джим, Белянка, Аю-Даг, Лезгинка, Красный Мак, Октябрина, Крымский Маяк, Эмми, Золотой Юбилей),

5 сортами мини розы (Рулети, Бэби Бантинг, Огонек, Искорка, Мальчик-с-Пальчик),

6 сортами клематиса (Серенада Крыма, Crimson Star, Козета, Юность, Невеста, Лесная Опера),

3 видами орхидей (*Cymbidium minima*, *Cymbidium hybridum* сорт Мелита, *Dossinia* sp.),

1 видом юкки (юкка алоэлистная),

2 формами фейхоа,

4 сортами киви (Аббот, Бруно, Монти, Сааништон),

5 сортами сливы (Блю Фри, Кизил Султан, Поп Харитон, Султан Эрик, Verity),

1 сортом абрикоса (Крымский Амур),

1 сортом алычи (Оленька).

**Перспективными и конкурентоспособными в области биотехнологии на сегодняшний день являются направления:**

- 1. изучение биологии** культивируемых клеток, тканей, особенностей роста и дифференцировки *in vitro* субтропических и косточковых плодовых культур, декоративных и лекарственных растений;
- 2. соматический эмбриогенез** субтропических плодовых и декоративных растений в культуре *in vitro*;
- 3. восстановление численности** редких и исчезающих видов растений дикорастущей флоры с помощью разрабатываемых систем регенерации растений в условиях *in vitro*;

**4. ускорение интродукционного процесса** путем размножения в условиях *in vitro* новых видов, сортов, представленных в единичных экземплярах и трудноразмножаемых традиционными методами; селекция *in vitro* и разработка реципиентных систем растений *in vitro*;

**5. создание селекционных форм** и получение генетического разнообразия с использованием биотехнологических методов (эмбриокультуры, гаплоидии, индуцированного мутагенеза и генетической инженерии);

**б. создание системы безвирусного растениеводства на основе:**

**а) разработки новых высокоэффективных технологий оздоровления и современных экспресс-методов массовой диагностики вирусов;**

**б) получение устойчивых к вирусным инфекциям форм субтропических и косточковых плодовых культур, цветочно-декоративных и лекарственных растений методами биотехнологии и генной инженерии**



Работы над созданием необычно окрашенных цветов ведутся на медицинском факультете университета Вандерbiltа, в США, в лаборатории биохимика Ф. Питера Генгериха.

Все началось с того дня, когда студентка Генгериха Элизабет Гиллам занялась исследованиями усваиваемости некоторых лекарств печенью человека. Однажды она принесла своему руководителю колбу с бактериями, окрашенными в голубой цвет при помощи энзима, взятого из печени одного из пациентов. Теперь работники лаборатории занимаются "присадкой" в розы того самого человеческого гена, который производит этот энзим, дающий ярко-голубую окраску.

Пока ученым удалось внедрить голубые вкрапления только в стебли роз.

# Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН

## Научные направления:

**Исследование закономерностей** морфогенетических процессов в изолированной культуре органов и тканей редких, исчезающих и ресурсных видов, ценных гибридов, перспективных сортов травянистых и древесных растений с целью сохранения и восстановления их генофонда.

**Разработка технологий** их микроразмножения и практического применения.

**Создание коллекции** *in vitro*.





Экспериментальная база состоит из лабораторного помещения с ламинарными установками и приборами, термостатированной культуральной комнаты, автоклавной, теплицы для доращивания регенерантов.

Схема культивирования *in vitro* состоит из четырех основных этапов:

- **Выбор растения-донора**, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры.
- **Собственно микроразмножение**, когда достигается получение максимального количества меристематических клонов.
- **Укоренение** размноженных побегов с последующей адаптацией их к почвенным условиям.
- **Выращивание** растений в условиях теплицы и подготовка их к посадке в открытый грунт или реализации.

Использованы следующие методы микроклонального размножения:

**Активация** уже существующих в растении меристем (апекс стебля, пазушные и спящие почки стебля).

**Индукция** возникновения почек или эмбриоидов *de novo*:

- **образование** адвентивных побегов непосредственно тканями экспланта;
- **индукция** соматического эмбриогенеза;
- **дифференциация** адвентивных почек в первичной и пересадочной каллусной ткани.



## Важнейшие научные достижения

В рамках темы лаборатории генетики и морфогенеза лесных древесных растений Отдела биохимии и цитохимии УрО АН СССР «Изучение генофонда лесов Башкирии и разработка селекционных программ их генетического улучшения» начаты исследования процессов морфогенеза в культуре *in vitro* и разработка биотехнологических принципов размножения ценных генотипов лесных древесных растений для воспроизводства их популяций.

Метод размножения древесных растений с использованием метода культуры изолированных тканей и органов, обозначаемый как **клональное микроразмножение**, позволяет реализовать потенциал растительного организма к размножению с большими перспективами

Это прежде всего

**возможность** сохранения генофонда редких и исчезающих видов;

**создание** плантаций из размноженных в культуре *in vitro* проверенных по семенному потомству отдельных генотипов;

**использование** в лесохозяйственном производстве ценных гибридов и форм, которые из-за невозможности вегетативного размножения не могли быть внедрены в производство.

В 1985-1991 гг. изучены морфогенетические потенции эксплантов высокогетерозисных гибридов осины с белым тополем *Populus tremula* x *P. alba*, *P. alba* x *P. Volleana* селекции УкрНИИЛХА.

В 1986 г. разработана технология **клонального микроразмножения** этих гибридов, проведено массовое размножение гибридов.

Разработан лабораторный способ **микроразмножения зрелых экземпляров** лиственницы Сукачева *Larix sukaczewii* Dyl. в возрасте 20-100 лет с использованием зимних апикальных почек с годовичных побегов.

Разработаны способы **трансплантации вегетативных почек** взрослых деревьев на ювенильные сеянцы лиственницы в культуре тканей (микропрививки).

Получены привитые растения, растущие в грунте.

Разработана технология клонального микроразмножения **березы карельской** *Betula pendula* var. *carelica* (Merckl.) Hamet-Ahti и ее высокоствольных гибридов с узорчатой текстурой древесины.

Выявлены **индивидуальные различия** по способности к регенерации внутри вида, а также гибридных семей. Этот факт установлен и для гибридов осины с тополем. Поэтому способы микроразмножения у древесных видов разрабатываются для каждого клона.

Учитывались также **факторы, определяющие морфогенетические потенции** культивируемых органов (состояние родительского организма, возраст исходного растения и физиологический возраст экспланта, сезонность ритма развития).

Изучение эндогенного статуса донорных растений березы карельской в годичном цикле развития дало возможность **экзогенной гормональной регуляции** морфогенетических процессов *in vitro* в зависимости от состояния эксплантов.

В 1991-1994 гг. в культуру *in vitro* введены и размножены новые гибриды, в том числе '**ледяная береза** и высокодекоративная **береза далекарлийская** *Betula pendula* f. *dalecarlica* (L.) Schneid., находящиеся под государственной охраной.

При отработке режима перевода растений-регенерантов из условий *in vitro* в грунт, а этот период является экстремальным в жизни регенерантов, исследовались их **физиологические особенности**.

С использованием метода диск-электрофореза в ПААГ **проведена генетическая идентификация** регенерантов. Изучение онтогенеза регенерантов карельской березы **выявило ускорение** перехода в генеративное состояние. **Выявлена способность** регенерантов к зеленому черенкованию при помощи стеблевых и в особенности листовых черенков без применения физиологически активных веществ. **Выявлена зависимость** черенкования от сезонности, продолжительности освещения, листорасположения.

В 1989-1991 гг. разработана технология клонального микроразмножения **черного тополя** *Populus nigra* L. с узорчатой текстурой



Актуальным направлением клеточных технологий в настоящее время является **сохранение и воспроизводство редких и исчезающих видов растений.**

Перспективно использование метода культуры тканей для получения **сырья лекарственных растений,** имеющие широкое применение в медицинской практике.

Эти технологии позволяют ускорить **размножение редких и исчезающих видов растений,** нуждающихся в охране и рассчитаны на получение дополнительного источника сырья в виде каллусных тканей и суспензионных культур, а также растений-регенерантов для плантационного выращивания сырья ресурсных лекарственных растений.

При разработке технологий микроразмножения лекарственных видов растений изучались **анатомо-морфологические особенности строения эксплантов**, содержание эндогенных гормонов в тканях, что значительно влияло на оптимизацию технологий и в конечном счете повышало продуктивность регенерации растений.

В 1991-1996 гг. разработана технология клонального микроразмножения **родиолы розовой** *Rhodiola rosea* L. и **родиолы иремельской** *R. iremelica* Boriss. на основе изучения закономерностей морфогенетических процессов в изолированной культуре органов и тканей и использования результатов ИФА содержания эндогенных гормонов в процессе внутривисцерального развития для определения времени изоляции экспланта и введения его в культуру тканей.

Проведена **химическая характеристика** сырья и первичная **фармакологическая оценка** препаратов, приготовленных из сырья дикорастущих растений родиолы розовой и родиолы иремельской и их регенерантов, полученных методом культуры тканей.

Показано, что сырье регенерантов родиолы розовой и родиолы иремельской, а также дикорастущей родиолы иремельской обладает аналогичными с дикорастущими растениями родиолы розовой, но **более слабыми антиоксидантными и фармакологическими свойствами** и может быть использовано в качестве дополнительного источника для приготовления препаратов стимулирующего действия.

В 2003-2005 гг. в рамках Проекта «**Изучение и разработка методов воспроизводства и реинтродукции редких и исчезающих видов ресурсных растений на примере родиолы иремельской**» Гранта программы ИПЭЭ «Биоразнообразии и биоресурсы» был получен посадочный материал растений-регенерантов **родиолы иремельской**, создана плантация на территории Ботанического сада из растений, выращенных в культуре *in vitro*, затем они были переданы лаборатории дикорастущей флоры, сотрудники которой высадили растения-регенеранты в места произрастания для восстановления популяций **родиолы иремельской** в горно-лесной зоне РБ.

В 1996-2000 гг. разработана технология размножения ценного лекарственного растения **синюхи голубой** *Polemonium caeruleum* L., включающая культивирование почек подземных ростовых побегов и пазушных почек генеративных побегов и семян на оптимизированной питательной среде, содержащей низкие концентрации фитогормонов.

С целью оптимизации питательной среды определено **содержание эндогенных гормонов** в перечисленных эксплантах в различные периоды развития перед введением эксплантов в культуру *in vitro*.

Установлено **повышенное содержание** в почках **цитокининов** в сравнении с чрезвычайно низким содержанием ауксинов и АБК.

Высокий коэффициент мультипликации ростовых побегов – до 160 шт. на один эксплант, очевидно обусловлен именно преобладанием в тканях растения фитогормонов **цитокининовой природы**.

Анатомическими методами выявлено наличие нескольких **меристематических зачатков** в пределах одной ростовой почки подземного побега **синюхи голубой**, что открывает перспективу использования изучаемого экспланта в культуре *in vitro* с целью увеличения коэффициента размножения.

В 1997-2000 гг. изучены морфогенетические процессы в изолированной культуре органов и тканей и разработаны лабораторные способы размножения редкого ресурсного вида **валерианы лекарственной** *Valeriana officinalis* L.

**Оптимизированы условия** введения эксплантов в культуру тканей, микроразмножения и укоренения. Укоренение микропобегов происходит на средах с низкими концентрациями ауксинов. Достигнута 100 %-я жизнеспособность растений-регенерантов в вермикулите



В 1998-2000 гг. разработаны способы микроразмножения интродуцированных в Ботаническом саду растений, внесенных в Красную книгу СССР: **леспедецы двуцветной** *Lespedeza bicolor* Turcz. и **рапонтика сафлоровидного** *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin, которые пользуются большим спросом в



медицине. Разработаны приемы культивирования различных фрагментов асептического проростка леспедецы двуцветной и частей проростков и общего цветоложа молодых корзинок. Подобраны оптимальные питательные среды для укоренения индуцированных побегов.





В 1998-1999 гг. разработан лабораторный способ размножения **термопсиса ланцетолистного** *Thermopsis lanceolata* R. Br., заготовки которого запрещены и заросли требуют абсолютной охраны.

Индукция морфогенеза осуществляется по типам пазушного побегообразования и первичного каллусогенеза с последующей регенерацией побегов с высокой эффективностью

размножения (7-20 растений на эксплант).

Выявлена зависимость процесса морфогенеза от гормональных факторов среды, возрастного состояния экспланта, а также межпопуляционных различий в росте культуры *in vitro*.



В 1999-2006 гг. разработана технология клонального микроразмножения **пиона уклоняющегося** *Paeonia anomala* L.

Пион уклоняющийся в Башкортостане чрезвычайно редок, находится под угрозой исчезновения.

Представляет интерес как лекарственное растение, вошедшее в широкую медицинскую практику.



Выявлена высокая морфофизиологическая активность боковых почек **пиона уклоняющегося** в культуре *in vitro*, зависящая от эндогенного содержания фитогормонов, места их расположения на побеге и времени изоляции. Для **эффективного микроразмножения** разработаны следующие приёмы:

- а) **активация** боковых почек для мультипликации побегов;
- б) **индукция** соматических эмбриоидов из тканей зародыша и каллусной ткани;
- в) **индукция** морфогенной каллусной ткани из листовых пластинок и черешков листьев из почки возобновления.

**Экстракты**, полученные из корней и корневищ растений-регенерантов и каллусной ткани пиона уклоняющегося, не уступают по содержанию фенольных соединений экстрактам из дикорастущих и интродуцированных

В 2006-2008 гг. разработана технология **клонального микроразмножения** *in vitro* редкого вида **большеголовника серпуховидного** *Stemmacantha serratuloides* (Georgi) M. Dittrich.

В качестве эксплантов рекомендовано использовать семена.

Отработанные схемы стерилизации и подготовки эксплантов (скарификация) для введения *in vitro*.

Прорастание семян в условиях *in vitro* длительное.

Изучено влияние трофических и гормональных факторов питательной среды на культивирование.

Для **большеголовника серпуховидного** в условиях культуры *in vitro* характерны следующие типы морфогенеза:

а) каллусогенез;

б) геммогенез;

в) ризогенез.

В 2006-2007 гг. научные работы лаборатории были пополнены с комплексными **исследованиями редких и ресурсных видов**, которые велись в следующих основных направлениях:

- **инвентаризация** и уточнение таксономического статуса видов, распространение;
  - **экология и фитоценология** редких и ресурсных видов флоры Южного Урала;
  - **популяционная биология** редких и ресурсных видов;
  - **биология развития** (онтогенез, поливариантность развития, адаптивный морфогенез) растений;
  - **стратегии жизни** редких видов растений;
- разработка методов и способов охраны редких видов *in situ* и *ex situ*.

В 2000-2009 гг. разработаны этапы процесса **клонального микроразмножения** сортов и видов **лилии** *Lilium* L. от получения стерильной культуры до доращивания растений в условиях *in vivo* с использованием в качестве эксплантов как чешуй и зачаточного побега луковиц лилий, так и генеративных органов – фрагментов бутонов.

Детально изучены **морфогенетические потенции** фрагментов бутонов (цветоложа, околоцветников, тычиночных нитей, завязи, столбика) как перспективных эксплантов для получения массового посадочного материала.

Установлено, что в культуре тканей генеративных органов лилий возможна реализация процессов **адвентивного органогенеза**.

При использовании способа размножения **фрагментами бутонов** *in vitro*

**достигается максимальная стерилизация** исходного материала, причем схема стерилизации гораздо проще, чем при введении в культуру *in vitro* чешуй луковиц;

**исключается возможность повреждения** или гибели растения, являющегося донором экспланта, в случае дефицита исходного материала;

**является менее трудоемким** по сравнению с размножением чешуек *in vitro*, проводится меньше манипуляций перед введением в культуру *in vitro*.

**Культура тканей и органов** *in vitro* позволяет размножать лилии с более высоким выходом посадочного материала, чем при традиционном способе размножения.

Доказана возможность эффективного применения метода **культуры вегетативных и генеративных органов тюльпана *in vitro***, позволяющего решить проблему сокращения сроков получения посадочного материала. Выявлены оптимальные экспланты для **микроразмножения путем мультипликации** побегов: пазушные почки луковицы, цветоложе и завязь неокрашенных бутонов.

В настоящее время проводится изучение морфогенетических процессов в изолированной культуре органов и тканей и разработка технологий **размножения таких редких и исчезающих видов растений** как лилия кавказская, ковыль перистый и опушеннолистный, алтей лекарственный, остролодочник Гмелина, копеечник серебристолистный, рябчик русский, рододендрон Чонского и Шлеппенбаха, ирис низкий, мытник скипетровидный, стальник полевой и др.



**Биолюминисцентные ромашки, черные розы и, возможно, орхидеи и тюльпаны с более изысканным запахом.**

Срезанные цветы смогут выдерживать **неблагоприятные температуры** или **дольше не увядать** после срезки; распускаться и расти в соответствии с **заданной архитектурой**, обретая самые разнообразные формы для дальнейшего использования в декоративных целях.

Некоторые изменения могут вноситься благодаря технологиям скрещивания, известным еще в XIX веке. Но, чтобы привить растению несвойственные качества и сделать его не только более эффектным и особенным, но и эффективным с производственной точки зрения, придется прибегнуть к **трансгенным методам**.

Японская компания "Сантори" объявила о том, что вывела **розы с голубым цветом лепестков**. Это первые подобные розы в мире.

Селекционерам компании понадобилось около 20 лет, чтобы получить именно такой оттенок.

Они воспользовались методом генной инженерии, использовав в качестве «добавки» **гены анютиных глазок** - собственного голубого пигмента у роз нет. При создании цветка использовались австралийские биотехнологии.

Называется новый сорт **SUNTORY blue rose APPLAUSE**

Один цветок обойдется приблизительно в 2-3 тысячи иен (22-33 доллара).



# Молекулярно-биологические аспекты модификации метаболизма **хризантем** (*Crysanthemum morifolium* Ramat. ) путем **экспрессии гетерологических генов**

В результате проведенных исследований достигнута **высокоэффективная регенерация** побегов из листовых тканей ряда сортов хризантем растущих в условиях *in vitro*.

Показана **сортоспецифичность морфогенной способности** сортов, а также преимущество использования в качестве доноров укорененных растений.

Модификацией гормонального состава среды достигнуто как **повышение регенерационной способности** трудно регенерируемых сортов, так и **направленный морфогенез** - как прямой, так и опосредованный наряду с высокоэффективным

Полученные результаты явились основой для генетической трансформации ряда сортов хризантем как **маркерными**, так и генами, обуславливающими **хозяйственно-ценные признаки**.

Успешное использование **необезоруженного супервирулентного штамма** в качестве компонента бинарной векторной системы подтвердило целесообразность данного подхода для эффективной трансформации маловосприимчивых к агробактериальной инфекции культур с устойчивостью, основанной на **гиперчувствительном ответе** и способной преодолеваться только **узкоспецифичными агробактериальными штаммами**, обезоруживание которых в каждом конкретном случае не представляется целесообразным.

Полученные трансгенные хризантемы явились первым примером переноса **гена эндотоксина** в эту культуру.

Также впервые достоверно показана его экспрессия и эффективность против класса вредителей - **акарид**.

**Специфическая токсичность** продукта укороченного гена эндотоксина могла быть обусловлена как модификацией **гипервариабельного участка**, что придало ему способность активно связываться с рецепторами кишечного тракта нового типа организмов, так и присутствием **активной формы токсина** в клеточном соке растений, обеспечив тем самым его проникновение в организм сосущего паразита, крайне затруднительное при поверхностном нанесении препарата.

Трансформацией **хризантем** сорта White Snowdon конструкцией, содержащей ген *rolC* под 35S-промотором достигнуто **изменение габитуса** растений – укорочение междоузлий, усиление ветвистости, более чем 4-кратное увеличение числа бутонов при снижении размера растения и получена идеальная форма для горшечного растения.

Кроме того, наблюдалась **потеря фертильности** пыльцы, связанная в первую очередь с изменением морфологии пыльцевых зерен, подтвержденная исследованиями с помощью сканирующего электронного микроскопа.



Также обнаружено **присутствие гомологичных *rolC*-гену последовательностей** в геномах ряда нетрансгенных сортов, что может служить как свидетельством естественного предшествующего его переноса в растения, так и "растительного" происхождения *rol*-генов "захваченных" агробактериями у растений в процессе эволюции.

У *rolC*-трансформантов обнаружены значительные различия по содержанию **суммарной фракции свободных и слабосвязанных спирторастворимых цитокининов**, особенно в листьях верхнего яруса по сравнению с нетрансгенными растениями. Существенные различия наблюдаемые также в содержании как **ауксинов**, так и **абсцизовой кислоты**, позволяют сделать предположение о ведущей роли изменений

Достигнуто успешное **подавление экспрессии халконсинтазы** в трансгенных растениях хризантем, содержащих **антисмысловую последовательность аналогичного гена** львиного зева.

Таким образом подтверждена возможность использовать гомологичных последовательностей фенотипически достаточно 120 отдаленных семейств в антисмысловой ориентации для достижения эффективного подавления экспрессии растительных генов.

Возможно успешное широкое использование последовательностей генов выделенных из генов достаточно отдаленных семейств с **неполной гомологией нуклеотидных последовательностей**.



# Станция искусственного климата БИОТРОН

## Изменение архитектуры растений

Путем переноса гена *rolC* из *A. rhizogenes* в хризантему получены клоны с компактной формой соцветий и измененными цветами.

## Изменение окраски цветов

Путем переноса обратной последовательности гена халкон-синтазы львиного зева получены трансгенные растения хризантемы с измененной окраской цветов.

В настоящий момент трансгенные растения хризантемы, груши, яблони и земляники с различными генами проходят полевые испытания.



**Государственное научное учреждение  
Всероссийский научно-исследовательский  
институт  
цветоводства и субтропических культур  
Российской академии сельскохозяйственных наук  
(ГНУ ВНИИЦиСК Россельхозакадемии)  
Лаборатория биотехнологии, физиологии и  
биохимии растений**

**Основными направлениями  
исследований являются**

**изучение систем регуляции и управления  
адаптационными процессами растений чая,  
цитрусовых, плодовых, орехоплодных и декоративных  
культур, а также**

**влияние внешних факторов на эти процессы для**

В частности:

- для культуры **чая** - выявление сортов, отличающихся зимостойкостью, продуктивностью, высокими биохимическими (танина не ниже 26%) и органолептическими показателями;

- для культуры **персика** - выявление диагностических показателей для разработки методических рекомендаций по оценке эколого-физиологического состояния растений в условиях влажных субтропиков России;

- для культуры **фундука** изучается полная биохимическая характеристика сортов; определяется эколого-физиологическая характеристика культуры и характер влияния на биохимические и эколого-физиологические показатели следующих групп факторов: генотипических, абиотических; устанавливаются устойчивые к факторам выращивания сорта фундука, сочетающие высокое содержание наиболее значимых биологически активных веществ;

- для **красивоцветущих кустарников** (гидрангея крупнолистная, вейгела x Вагнера, розы, хризантемы и т.д.) проводится изучение эколого-физиологических показателей многофункционального действия, обеспечивающих комплексную адаптивность культур к биотическим и абиотическим стрессорам.

## Основные достижения за последние годы:

- **изучено влияние** основных биогенных микроэлементов на физиолого-биохимические процессы и жизнедеятельность чая и мандарина;

- **разработан способ** диагностики потребности растений в микроэлементном питании (Патент № 2225691);

- **методические рекомендации** по внекорневой подкормке микроэлементами растений чая и



- разработан **способ оценки** скороспелости растений фейхоа на основании установленной зависимости между скороспелостью и степенью ослабления оптического потока листьями растений (Патент № 2221177);
- **методические рекомендации** по экспресс-диагностике состояния растений **актинидии сладкой** (*Actinidia deliciosa* Chevalier);
- выявлены **диагностические показатели** устойчивости различных сортов и форм цитрусовых к абиотическим факторам внешней среды.
- **методические рекомендации** по устойчивости *Hydrangea macrophylla* Ser.

# Основные направления исследований в области биотехнологии

- **Селекция *in vitro*** - получение новых селекционных форм и генетического разнообразия с использованием методов генетической инженерии, эмбриокультуры.
- **Разработка и совершенствование методов клонального микроразмножения** для производства оздоровленного посадочного материала цветочных культур (гербера, хризантема), редких исчезающих видов природной флоры, красивоцветущих кустарников, чая, субтропических, южно-плодовых культур.
- **Создание растущих коллекций** ценных генотипов в условиях *in vitro* (чая, субтропических, южно-плодовых, цветочно-декоративных культур, красивоцветущих кустарников).

# Основные достижения за период не более 10 лет

*Разработаны:*

- Способ получения микролуковиц **тюльпанов** из изолированных зародышей в условиях *in vitro* (патент № 2123256).

- Способ получения полноценных растений-регенерантов **тюльпанов** культивированием семяпочек *in vitro* (патент №2273987), методики по клональному микроразмножению двух диких видов природной флоры – **панкрация морского** – (*Pancratium maritimum* L.) и **шафрана прекрасного** *Crocus speciosus* Bieb.).





При поддержке проектов на грант  
РФФИ и Департамента  
образования и науки  
Краснодарского края (2000-2009г.г.)

1. Разработаны теоретические  
основы моделирования  
селекционных процессов с целью  
создания современных сортов  
**ТЮЛЬПАНОВ** по заданным  
признакам с использованием  
культуры *in vitro*

2. Совместно с ВНИИСБ  
завершены исследования по  
созданию искусственного  
генетического локуса для  
получения устойчивых к грибным  
заболеваниям трансгенных  
растений *Gerbera jamesonii*.



# РАЗРАБОТКА И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ДЕКОРАТИВНО- ЦВЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

## Выводы

1. Клональное микроразмножение растений — сложный многофакторный морфофизиологический процесс, состоящий из двух принципиально разных этапов, проходящих в разных условиях - *in vitro* и *in vivo*, базирующихся на процессах онтогенеза, морфогенеза и регенерации растений в условиях *in vitro* и на структурно-функциональной адаптации пробирочных растений в условиях *in vivo*.



2. Установлено, что реализация **морфогенетического потенциала** декоративно-цветочных растений зависит от генотипа, соответствующей оптимизации состава питательной среды (минеральный состав, соотношение гормонов, концентрация углеводного источника), типа первичного экспланта, его полярности и времени изоляции, а также условий культивирования.

3. Впервые для луковичных (гиацинт, лилия, рябчик), побеговых (хризантема, бальзамин) и листовых (сенполия, петуния, бегония) групп растений разработана универсальная **технология клонального микроразмножения**, предусматривающая прямую регенерацию растений из первичного экспланта, которая обеспечивает сохранение морфофизиологических и хозяйственно-

4. Выявлено, что **морфофизиологические процессы** декоративно-цветочных растений в условиях *in vitro* зависят от соотношения гормонов (ауксинов и цитокининов) и концентрации сахарозы в питательной среде, которые находятся в обратно - пропорциональной зависимости, и может быть выражена функцией  $y=1/x$ , где  $y$  — концентрация сахарозы,  $x$  – экспериментально определяемая зависимость ауксинов и цитокининов.

5. Показано, что для сортов с темно-окрашенными цветками и незеленолистных форм растений необходимо присутствие в питательной среде **аскорбиновой кислоты** (30-50 мг/л), которая повышает жизнеспособность первичных эксплантов и растений-регенерантов.

6. Экспериментально доказано, что **наличие сахарозы** в питательной среде на этапе микроразмножения в промежуточной концентрации между применяемой для получения прямой регенерации и ризогенеза (15 г/л - для травянистых, 30-40 г/л — для луковичных) позволяет адаптировать микрокультуру, минуя последний этап технологии – укоренение.

7. Установлено, что применение **нетрадиционных компонентов питательной среды** (минеральная основа - КМК и регуляторы роста - циркон) являются альтернативной заменой питательной среды МС + БАП, которые позволяют сохранить высокий морфогенетический потенциал микрокультуры и получить качественный посадочный материал

8. Разработанная технология **клонального микроразмножения** декоративно-цветочных растений позволяет удовлетворить спрос потребителя и получать легко адаптируемый экологически чистый посадочный материал на 1,5-2 месяца раньше и в 2-3 раза дешевле, чем при традиционной технологии