



**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



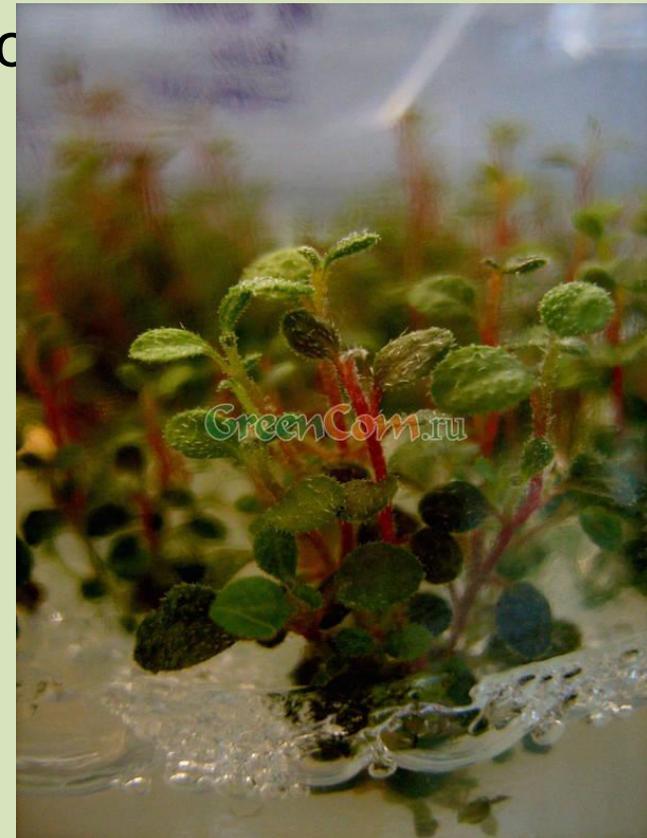
Цветочные, плодово-ягодные культуры

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*

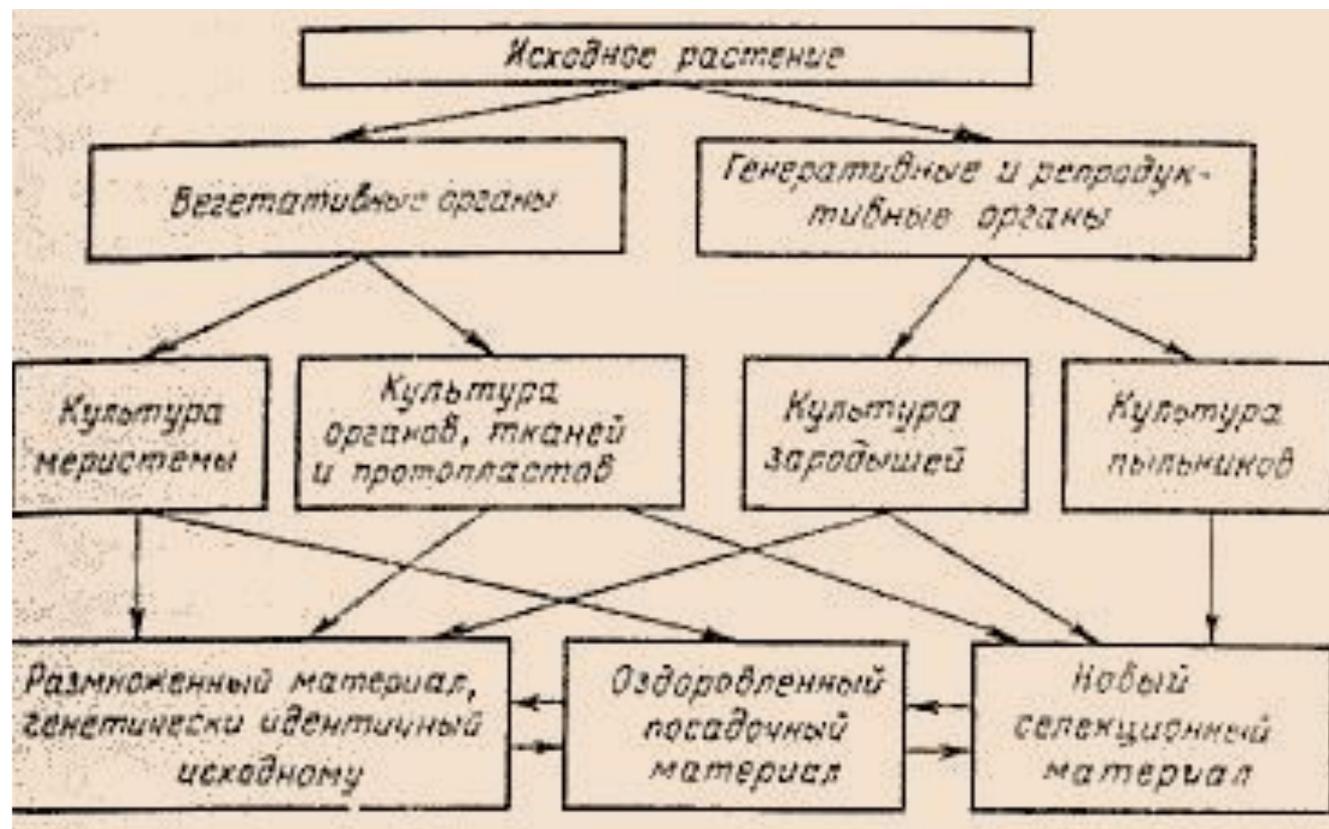
Облегчение селекционно-генетической работы

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 Вандербильта, 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 внутрипочечного 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, используя 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