

УМНОЖАЯ ВЫГОДЫ

БЕАНТ С. АХЛУВАЛИА

Мировое производство продовольствия основано на выращивании разнообразных фруктов, овощей и злаков, полученных благодаря достижениям науки. Селекционеры создали множество разновидностей растений, которые хорошо растут в различных регионах мира на почвах всех типов и в разных климатических условиях.

Обычно это достигается с помощью половой гибридизации. Данный термин обозначает перенос пыльцы с одного родительского растения на другое с целью получения гибридов. Последующие поколения этих гибридов выращивают для отбора растений, которые сочетают желаемые черты родителей.

Однако существует иной метод, с помощью которого генетическая структура того или иного сорта растения может быть изменена без скрещивания с другим сортом. При использовании этого метода сорт сохраняет все свои исходные свойства, но совершенствуется благодаря одной или двум улучшенным характеристикам. Данный метод основан на генетических изменениях, индуцированных радиацией, и носит название метода "индуцированных мутаций".

За последние 30 лет было получено свыше 1800 мутантных сортов растений, многие из которых были индуцированы радиацией. Культура ткани и клеток растений (также называемая культурой *in vitro*) в комбинации с облучением является мощным средством индукции мутаций, особенно для улучшения вегетативно размножающихся культур. К этим культурам относятся маниок,

чеснок, картофель, сладкий картофель, ямс, сахарный тростник, декоративные растения, такие как хризантемы, гвоздики, розы, тюльпаны, нарциссы, и многие фрукты (например, яблоки, бананы, пизанги, цитрусовые, финики, виноград, папайя, маракуйя и киви). Некоторые из этих растений или не дают семян для посева (например, банан), или из семян вырастают растения, у которых отсутствует требуемая комбинация желаемых качеств. Эти методы также полезны для улучшения лесных деревьев, которые дают плоды и семена после продолжительного периода вегетации.

В данной статье кратко рассматриваются успехи методов разведения растений с целью облегчить передачу технологий большому числу стран.

УСКОРЕНИЕ ПРОЦЕССА

При использовании методов культуры ткани и культуры клеток вместо размножения растений с помощью семян или черенков маленькие кусочки или части растения культивируют в контролируемых и стерильных условиях на определенной питательной среде, в результате чего может быть получено много миниатюрных растений. Культуру ткани *in vitro* часто называют культурой растений "в пробирке", однако культуральные контейнеры не всегда являются стеклянными пробирками. Можно использовать намного более дешевые и самые разные сосуды, такие как банки из-под детского питания, джема и одноразовые пластиковые стаканчики для кофе или йогурта.

Культура растительной ткани — метод, используемый

либо самостоятельно, либо в комбинации с индуцируемыми мутациями и молекулярными методами, — используется для ускорения обычного разведения растений и для быстрого размножения растений в условиях, исключающих болезни.

Методы культуры клетки и ткани растений полезны для индукции мутаций с помощью как радиации, так и химических соединений. Однако радиация является более предпочтительным способом для получения генетических изменений из-за легкости обработки больших популяций и отсутствия проблем, возникающих при обращении с химическими веществами и их элиминацией. Обычно мутации индуцируют у хорошо известных и хорошо приспособленных сортов растений, произрастающих в определенных регионах. Отобранные и здоровые растения этих сортов культивируют *in vitro* и облучают гамма-излучением или рентгеновскими лучами. Облученные растения, ткани или клетки затем многократно размножают, также *in vitro*, и выращивают из них полностью сформированные растения. Потом их выращивают в почве для отбора желаемых типов.

За последние два десятилетия было разработано несколько методов культуры *in vitro*, в том числе:

■ **Микроразмножение.** Культивируют маленькие кусочки, размером от 3 до 5 мм, стеблей с зародышевой почкой или листьев.

Г-н Ахлувалиа — сотрудник Объединенного отдела ФАО/МАГАТЭ по ядерным методам в продовольственной и сельскохозяйственной областях.

Эти кусочки пролиферируют, образуя большое количество почек и побегов, из которых при переносе на другую питательную среду вырастают целые растения. Данная процедура является наиболее широко используемым методом получения миллионов клонов (точных копий) растений, таких как банан, земляника, картофель и многие декоративные растения.

■ **Спасение эмбрионов.** Крошечные эмбрионы растений, которые в норме, при обычном ходе их развития в семени, не выжили бы, извлекаются и выращиваются в культуре до получения целого растения. Этот метод широко используют при разведении многих орхидей, у которых семена содержат недостаточно питательных веществ, чтобы поддерживать развитие эмбриона в целое растение.

■ **Регенерация растения.** Многие растения также могут быть получены путем культивирования клеток (строительных блоков тканей). Вначале из них выращивают комки (каллус) или растягивают как суспензионную культуру клеток. Если изменить питательную среду, из этих клеток можно получить растения.

В некоторых случаях также возможно регенерировать растения из протопластов (обнаженные растительные клетки, у которых удалили клеточные стенки). Протопласты, полученные из различных видов растений (например, картофеля и томата), можно объединить для создания соматических гибридов, которые невозможно получить с помощью половой гибридизации. Такие гибриды затем облучают, для того чтобы убрать нежелательную генетическую информацию родителей.

Инактивация клеточного ядра или протопластов высокими дозами радиации для получения гибридов (соматических гибридов, у которых цитоплазма одной клетки объединена с ядром



Сверху слева по часовой стрелке: семена современной высокоурожайной кукурузы (слева на фото; рядом — дикий тип). С помощью радиационных методов можно получить желаемые окраски и формы цветов. Растительные клетки могут быть размножены как каллус, или комки клеток. Методы in vitro, или "в пробирке", значительно ускоряют процесс выращивания растений. (Фото: Ahloowalia/IAEA)

другой клетки), также использовалась для получения новых и неизвестных комбинаций генов, например для переноса гена холодоустойчивости от редиса к рапсу.

■ **Пыльничковые и микроспоровые культуры.** Несомненно, это стало наиболее важным методом культуры *in vitro*, используемым в сочетании с индуцируемыми радиацией мутациями для улучшения размножающихся семенами культур. В отличие от большинства клеток (соматических), которые обладают двумя наборами генетической информации, частицы пыльцы, образующиеся в пыльниках тычинок, имеют только один комплект генетической копии (один набор хромосом) и являются гаплоидными.

Облучение гаплоидных клеток и тканей культурой пыльника или семяпочки позволяет получить растения, у которых мутантные гены проявляются немедленно. Это происходит

потому, что второй комплект генетической копии, в котором могут быть спрятаны такие мутации, в гаплоидных клетках отсутствует. Затем можно провести селекцию гаплоидных растений, для того чтобы получить дигаплоиды с тем же хромосомным набором, что и в обычных диплоидных растениях.

Получение гаплоидных мутантов и последующее получение дигаплоидов с мутантными генами — это простой и быстрый способ создать улучшенные сорта культур, размножающихся семенами, таких как ячмень, рис, семенной рапс, кукуруза и пшеница. Наличие в развивающихся странах дешевых и эффективных способов получения гаплоидов из местных культур злаков и бобовых является, таким образом, весьма важным для применения основанных на мутациях методов селекции растений.

■ Соматические эмбрионы.

Существует еще один метод, с помощью которого можно *in vitro* получить эмбрионы без полового скрещивания растений. Такие эмбрионы, называемые соматическими, могут быть получены из каллуса и суспензионных клеточных культур и иногда непосредственно на поверхности листьев. Соматические эмбрионы можно получить простыми методами у многих растений, например у моркови, цветной капусты, цитрусовых, финиковой пальмы, картофеля, сладкого картофеля. Во многих случаях соматические эмбрионы берут начало из единичных клеток или только из нескольких клеток. Облучение таких клеток ведет к получению растений с устойчивыми и прочными мутациями. Это избавляет от необходимости повторного культивирования тканей для отделения мутантных клеток от немутантных.

РАЗНООБРАЗНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Улучшение большинства деревьев, среди которых много важных плодовых деревьев, таких как финиковая пальма, яблоня, слива, вишня, апельсин, цитрусовые, путем традиционного разведения и размножения — длительный процесс, и желаемые результаты достигаются лишь постепенно. Индуцированный мутагенез в сочетании с микроразмножением может быть использован для получения низкорослых быстрорастущих сортов. Это даже более важно для быстро сменяемых лесов, предназначенных для выращивания биомассы, которая используется как дрова и для получения бумажной пульпы.

Методы культивирования ткани растений и клеток делают возможным осуществление мутагенеза больших популяций клеток и миниатюрных растений в малом пространстве. Таким образом можно вырастить миллионы клеток в чашке Петри или во флаконе, облучить

и размножить их на определенной среде, для того чтобы регенерировать растения.

Важным компонентом любой программы селекции растений является отбор желаемых генотипов. Наличие эффективных и быстрых методов селекции необходимо для отбора в больших популяциях растений. Появляется все больше свидетельств того, что в отношении некоторых характеристик выращенные *in vitro* клетки, соматические эмбрионы и миниатюрные растения могут быть подвергнуты селекции по устойчивости к болезням, толерантности к солености, жаре, холоду и заморозкам. Характеристики растений, отселектированных *in vitro*, могут быть затем проверены в полевых условиях. Таким образом, мутагенез *in vitro* и размножение *in vitro* могут быть включены в традиционную селекцию, для того чтобы ускорить разведение вегетативно размножающихся растений. Культура *in vitro* также важна для сохранения отдельных, хорошо адаптированных клонов, которые совершенствуются через индукцию мутаций. Это также является полезным методом, после которого можно проводить облучение и микроразмножение, для эмбрионов гибридов, дающих чрезвычайно мало семян. В целом применение методов *in vitro* расширяет генетическую изменчивость и вызывает изменения генетического материала у гибридов отдаленных родителей путем рекомбинации участков родительских хромосом.

В культуре тканей часто бывает высокий спонтанный уровень мутаций; растения, которые ведут свое происхождение из культуры клеток или ткани, иногда не похожи на растение-донор. Такие вариации, индуцированные выращиванием в культуре тканей и называемые соматическими вариациями, можно также объединить с индукцией мутаций как дополни-

тельный источник увеличения пула генов.

Отобранные мутанты можно размножить в большом количестве и быстро путем микроразмножения, причем полученные растения будут здоровыми, свободными от заболеваний. Техника микроразмножения настолько шагнула вперед, что сейчас существует более 200 коммерческих компаний в Северной Америке и более 100 в Европе, производящих миллионы растений с помощью культуры ткани. Растения, культивируемые *in vitro*, после облучения также могут быть перевезены в страны, в которых нет своей радиационной техники.

Технология культуры ткани растений развивается очень быстро. Ее используют для размножения высококачественного растительного материала в коммерческих масштабах во многих странах Европы и Северной Америки, но только в нескольких странах Азии и Африки.

Во многих развивающихся странах эта технология либо не существует, либо находится еще в начальной стадии развития. Поскольку наиболее дорогой "компонент" в микроразмножении растений — это рабочая сила, развивающиеся страны могут использовать вышеописанные методы для получения дохода и в то же время создавать дополнительные рабочие места, развивая недорогую, но базирующуюся на высокой технологии индустрию размножения растений и культур. В некоторых африканских странах единственные существующие лаборатории, в которых методы культуры ткани растений сочетаются с методами мутагенеза, были созданы с помощью МАГАТЭ. Эти лаборатории могут быть расширены и использованы для подготовки кадров и создания в этих странах потенциала в области микроразмножения и производства растений, не подверженных заболеваниям. □