

УДК 635.9-152

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ В СЕЛЕКЦИИ ЦВЕТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ (обзор)

Д.Н. МИРОШНИЧЕНКО, Е.В. МАМОНОВ

(Кафедра селекции и семеноводства плодовых и овощных культур)

Представлен обзор научной информации об использовании генной инженерии в селекции цветочных растений. Сообщаются основные направления использования генной инженерии для улучшения сортов цветочных культур. Приводятся сведения о способах изменения декоративных качеств цветочных растений (окраска цветка, габитус растения, форма цветка, запах, продолжительность жизни срезки). Большое внимание уделяется созданию трансгенных растений, устойчивых к вредителям и болезням.

Благодаря многовековой селекции и отбору ассортимент видов и сортов цветочных культур в настоящее время настолько велик, что может удовлетворить самые разнообразные вкусы. Создаваемые новые сорта должны, помимо декоративности, обладать устойчивостью к болезням и вредителям, к низкой температуре и недостаточному освещению, отличаться высокой урожайностью, в том числе и в зимне-весеннее время. Получение сортов, полностью отвечающих современным требованиям, во многих случаях ограничено генетическими особенностями отдельных культур. Использование «классических» селекционных программ не

всегда позволяет достигать желаемых результатов. Поэтому в последние годы во многих странах в этих целях начали использовать методы генной инженерии. Растение, полученное с помощью методов генетической инженерии (трансформации), сохраняя собственную генетическую информацию, приобретает дополнительные признаки. Таким образом, генетическая инженерия позволяет дополнять собственный генотип растения разнообразными генами, полученными от других видов и родов, т.е. преодолевать межродовые и межвидовые препятствия. Благодаря этому появляется возможность использовать гены всего царства расте-

ний и значительно обогатить различные виды новыми характеристиками.

Первые трансгенные растения были созданы около 20 лет назад. С тех пор методы генной инженерии были применены более чем к 50 видам растений, среди которых есть и цветочные культуры.

Перспективы использования генной инженерии для улучшения сортов цветочных культур

Несмотря на обилие и разнообразие сортов, работа по совершенствованию ассортимента ведется непрерывно, поскольку требования рынка и вкусы потребителей постоянно меняются. Сочетание классической селекции и генной инженерии открывает большие перспективы для улучшения ассортимента цветочных культур. В общих чертах в такой работе можно выделить 2 основных направления.

Первое — создание привлекательных растений. Имеется в виду изменение цветовой гаммы, создание новых форм, изменение или усиление запаха цветов, увеличение продолжительности жизни срезки в целях увеличения объема их продажи. Здесь генная инженерия может быть использована для изменения окраски цветков, увеличения продолжительности жизни срезки, в некоторых случаях для изменения габитуса.

Второе направление — улучшение различных агрономических качеств, а именно: повышение устойчивости к болезням и вредите-

лям, повышение урожайности, увеличение устойчивости к низкому освещению и перепадам температур, увеличение выхода продукции зимой. Селекция на эти признаки в последние годы выходит на первый план. Вклад генетической инженерии в решение данных проблем может состоять в получении растений, устойчивых к некоторым вредителям, а в перспективе и к болезням, причем достичь этого обычной селекцией невозможно [23].

Декоративные качества

Декоративность во многом определяет популярность той или иной цветочной культуры, того или иного сорта. По всему миру в различных фирмах генные инженеры пытаются (и часто успешно) получить растения с измененной окраской цветков, увеличить продолжительность жизни срезки («vase life»), создать новые габитусы растений и изменить формы цветка.

Окраска цветов. Основное направление работы — это получение оранжевых петуний, а также роз, гвоздик и других цветочных растений с синей или голубой окраской цветков.

Окраска цветков обусловлена тремя основными вторичными соединениями — антоцианами, бетулинами и каротиноидами. Наиболее часто определяющую роль играют флавоноиды (группа антоцианов), путь биосинтеза которых хорошо изучен, и гены, кодирующие ферменты этого пути, известны. У многих расте-

ний существует лишь определенный набор этих генов. Например, у петунии не образуются пеларгонидины, дающие оранжевый цвет, у роз не образуются дельфинидины, дающие синюю окраску. При анализе 670 сортов и 8 видов роз [20], в том числе и так называемых «голубых», в лепестках был обнаружен только цианидин-3,5-глюкозид, что говорит о невозможности получения настоящих голубых роз обычными методами селекции. Та же картина наблюдается у гвоздик и тюльпанов.

Существует несколько подходов к получению цветов с различным набором флавоноидов и, следовательно, с новыми оттенками или полностью измененной окраской. Первый — это ингибирование одной из частей флавоноидного пути биосинтеза, что приводит к накоплению промежуточных соединений. Второй — вставка дополнительных генов, кодирующих новые ферменты.

Первые трансгенные растения с цветками измененной окраски были получены исследовательской группой Max-Planck Ins. (Германия), создавшей новую окраску петунии путем вставки химерного гена *dfr* A1 из кукурузы [29]. В результате экспрессии этого гена у петунии синтезировались производные пеларгонина (дигидрокемпферол) и лепестки приобрели новую красно-кирпичную окраску, отличающуюся от привычной оранжево-розовой и красной. Однако линия с такой необычной окраской цветков оказалась коммерчески неперспектив-

ной, поскольку окраска была нестабильной. Фенотипически эта нестабильность проявилась в появлении пятен на лепестках или полной реверсии цветка к первоначальной розовой окраске. Дальнейшие исследования показали, что это связано с уменьшением или полной остановкой транскрипции *dfr* гена кукурузы в трансгенных петуниях, вызванной метилированием ДНК [30]. Для того чтобы получить коммерчески перспективные сорта петунии с ярко-оранжевыми цветками, исследователи компании S a. G Seeds (Нидерланды) проводили скрещивание первичных трансгенных растений с элитным селекционным материалом [34]. С этой целью 2 трансгенные линии с нестабильной красно-кирпичной окраской скрещивали с линиями, имеющими розовые, красные и оранжево-розовые цветки. После самоопыления гибридов F_1 в поколениях F_2 и F_3 отбирали растения с оранжевой окраской. Благодаря последующим рекомбинационным скрещиваниям на основе линий F_4 были получены экспериментальные гибриды с лучшим фенотипическим проявлением оранжевой окраски в сочетании с хорошими производственными характеристиками (габитус растения, сильнорослость, раннее цветение и количество цветоносов). Полевые испытания 25 экспериментальных гибридов, проведенные в Напелс (Rogers Seed Co, Флорида, США), а также круглогодичные испытания в теплицах (S a. G Seeds, Нидерланды) не вы-

явили у них никаких реверсий оранжевой окраски. На сегодняшний день полученные линии оранжевой петунии служат примером эффективного сочетания методов генетической инженерии и селекции.

Выведение сортов роз, гвоздик, тюльпанов и других цветочных культур с голубой или пурпурной окраской цветков, не встречающейся в природе, намного сложнее, поскольку для этого необходимо наличие по крайней мере 3 факторов: 1) синтеза 3', 5'-гидроксиллированных антоцианов (дельфинидинов); 2) наличия флавонольных ко-пигментов; 3) высоко-го рН клеточного сока.

В настоящее время уже изолированы «голубые» гены из петунии и известны 2 локуса *Hf1* и *Hf2*, отвечающие за активность 3', 5'-гидроксилазы [20]. Наибольшую трудность представляет определение генов, контролирующих кислотность клеточного сока (*ph*-генов), поскольку почти ничего не известно о природе их продуктов. К настоящему времени посредством изучения мутаций петунии идентифицировано 6 генов *ph1-ph6*, контролирующих рН клеточного сока лепестков [32]. Группа, работающая в DNA Plant Technology Corp. (USA), обнаружила, что инактивация гена *ph6* привела к повышению рН экстракта клеток лепестков петунии на ~0,4 единицы [6]. Кроме того, появилось сообщение о том, что мутации генов, контролирующих пути биосинтеза антоцианов (*an1*, *an2* и *an11*), вызывают изменения рН клеточного сока [38]. Эти данные позволяют надеяться на то, что в

ближайшее время будут изолированы все гены, определяющие голубую окраску цветков.

Bradley и др. [5] частично изменили белую окраску цветков линии петунии Mitchell, у которой были обнаружены 2 мутации регуляторного гена (*an2* и *an4*), ведущие к блокировке биосинтеза антоцианов. После вставки гена *Lc*, кодирующего биосинтез антоцианов у кукурузы, образование и накопление антоцианов у петунии резко повысилось, причем не только в цветках, но и в листьях и побегах (у некоторых трансгенных линий окраска стала настолько интенсивно-красной, что они на первый взгляд казались черными). Столь поразительный эффект объясняется сходством генов *Lc* и *an4* (они относятся к типу *tus* генов), поэтому их взаимное дополнение привело к восстановлению синтеза и накоплению антоцианов. Тем не менее, окраска цветков оставалась нестабильной: наиболее интенсивной она была у молодых бутонов, а у полностью раскрывшихся цветков вернулась к белой (видимо, сказалось действие естественного генетического фона во время полного формирования цветка, который «перебивает» действие гена *Lc*).

Для блокировки ферментов биосинтеза флавоноидов многие исследователи применяют «антисмысловую стратегию», которая базируется на том, что антисмысловая РНК может взаимодействовать с нормальной смысловой РНК и посредством этого вызывать супрессию генов. Первыми этот метод применили Van der Krol и др. [44]. Им удалось встро-

ить в геном петунии копию гена халкон синтазы CHS (ген, работающий на начальных путях биосинтеза флавоноидов) в обратной последовательности. В результате работы дополнительного гена образовалась мРНК, комплементарная естественной мРНК, и сформировался дуплекс, который оказался нестабильным и не пригодным для трансляции. В результате произошло значительное изменение нормальной красной окраски петунии — у разных линий цветки стали белыми или более светлыми.

С помощью этого метода уже получены трансгенные линии коммерческих сортов хризантемы [8] и герберы [13], у которых вместо красной или розовой появилась белая окраска цветков. Этим методом были получены новые необычные типы рисунка лепестков у лизантуса (*Lysanthus grandiflorum* Grise.). Derole и др. [10] обнаружили среди своих трансгенных лизантусов сорта Wakamurasaki (первоначально темно-пурпурная окраска цветков) линии с цветками, имеющими беспорядочно разбросанные секторы белого цвета по всему лепестку (крапчатые), линии с белыми цветками и голубыми краями лепестков, а также растения с цветками не встречавшихся ранее типов — с лепестками, напоминающими гребешки, и тюльпановидными белыми цветками. Анализ флавоноидов белоцветковых трансгенных растений показал отсутствие антоцианов и пониженный уровень флавонолов (0,76% к первоначальному фенотипу).

Габитус растений. Изменение габитуса растений имеет большое значение для селекции цветочных культур, в частности для получения карликовых форм. С этой целью возможно применение гена Ro1 *С Agrobacterium rizogenes*, кодирующего цитокинин-β-редуктазу. В результате действия этого фермента из неактивных сахаров образуются активные цитокинины, которые ведут к изменению гормонального статуса, что, в свою очередь, приводит к образованию низкорослых растений. К сожалению, такая карликовость часто связана с нарушением формирования генеративной системы: уменьшается размер цветков, изменяется их форма и возникает мужская стерильность. Поэтому данное направление больше подходит для декоративно-лиственных растений. Так, Pellegrineschi и др. [35] путем вставки участков R1-плазмиды получили несколько линий пеларгонии лимонной. У этих линий наблюдались увеличение числа боковых побегов и укорачивание междоузлий, в результате чего количество листьев увеличилось в 3 раза, а растения стали выглядеть привлекательней (этот вид герани имеет приятный аромат, но непривлекателен из-за вытянутых междоузлий и хаотического роста). Кроме того, корни появлялись быстрее и были более разветвленными. Трансформированные растения оказались устойчивыми к пожелтению, цвет листьев у трансформантов был более темным, чем у контрольных растений. Полученный трансформированный генотип оказался стабильным — не было обнару-

жено отклонений даже при очень интенсивном размножении черенкованием. Эта работа позволяет надеяться на получение других декоративно-лиственных карликовых растений, пригодных для промышленного использования.

Увеличение продолжительности жизни срезки. Большинство современных коммерческих сортов цветочных культур чувствительно к этилену, который ускоряет увядание цветков. Для задержки отцветания бутонов во многих хозяйствах используется тиосульфат серебра, ионы которого связывают рецепторы этилена, что приводит к ингибированию его действия. Поскольку тиосульфат содержит тяжелые металлы, проводить подобные обработки продолжительное время нельзя. В связи с этим увеличение продолжительности жизни срезки посредством вставки генов, ингибирующих синтез этилена, имеет большое значение.

Известно, что более 93 видов растений 23 семейств чувствительны к этилену, особенно растения семейств Гвоздичных (*Charyophyllaceae*), Норичниковых (*Campanulaceae*), Мальвовых (*Malvaceae*) и большинство Орхидных (*Orchidaceae*) [50]. Мало восприимчивы к этилену растения из класса однодольных. Этилен, как вырабатываемый самими растениями, так и эндогенный, инициирует и регулирует процессы, ведущие к запрограммированному отмиранию органов. Известно, что синтез этилена растением усиливается с развитием и созреванием генеративных органов, а также при образовании семян. Было

отмечено, что ко времени завядания лепестков в них накапливаются определенные мРНК, отвечающие за образование основных ферментов биосинтеза этилена [49].

Путь синтеза этилена в растениях к настоящему времени уже полностью идентифицирован, и многие гены этого пути клонированы. Существует несколько подходов к созданию растений с уменьшенным выделением этилена. Один из них — это вставка антисмысловых последовательностей двух основных генов, кодирующих ферменты биосинтеза этилена — АСС-синтазы и АСО-оксидазы. Эти гены (*acc* и *aco*) идентифицированы и клонированы у многих цветочных растений. Первые эксперименты с антисмысловой супрессией АСС-оксидазы в трансгенных растениях уменьшили увядание лепестков и увеличили продолжительность жизни срезаемых цветов петунии и гвоздики сортов *White Sim* и *Scania* [31, 32], у которых образование этилена сокращено на 90%. Метод супрессии АСО-синтезы был успешно применен для получения растений томата с замедленным созреванием плодов, у которых ингибирование процессов образования этилена достигло 99,9% [33].

Еще одно из направлений — преобразование АСС. Существует сообщение о применении этого метода пока только на овощных культурах. Для понижения уровня АСС в геноме растений томата был вставлен ген АСС-диминызы из *Pseudomonas*. Благодаря этому во время созревания плодов

синтез этилена уменьшился на 90—97% [24]. В ближайшие годы следует ожидать появление цветочных культур с увеличенным периодом сохранения срезки, поскольку во многих биотехнологических компаниях и фирмах ведутся работы в этом направлении с использованием всех указанных методов.

Форма цветка. Большое внимание этой проблеме уделяется в биотехнологических фирмах Голландии и США. Несмотря на то, что подобные работы представляют скорее научный, чем практический интерес, они имеют большую перспективу применения именно в цветоводстве. Основные характеристики цветка определяются двумя критериями: элементами (органами) цветка (чашелистиками, лепестками, пестиками и тычинками) и местом появления примордий цветка. Молекулярные и генетические исследования показывают, что сходство строения и расположения органов цветка определяется небольшим набором гомеотических генов [2, 27]. Когда эти гены экспрессируются эктопически (*gain-of-function*) или репрессируются антисмысловой РНК (*loss-of-function*), наблюдаются изменения в строении цветковых органов [3, 18].

Были описаны гены, контролирующие морфологические особенности цветков: количество и форму лепестков петунии [9] и львиного зева [7]. Известно, что процесс формирования цветка двудольных растений контролируется генами 2 классов: первый из них переключает развитие вегетативной меристемы на меристему со-

цветия (цветка), второй, называемый АВС генами, контролирует формирование отдельных органов. Например, экспрессия генов А типа вызывает образование чашелистиков, совместная экспрессия генов А и В приводит к образованию лепестков, результатом экспрессии генов В и С является формирование тычинок, а экспрессия гена С приводит к появлению плодolistиков [47].

Van Tunen и др. [47] провели ко-супрессию гена *floral binding protein* (fbp) петунии. Этот ген экспрессируется в незрелой флоральной меристеме, а также в 2, 3 и 4-м кругах цветковых органов (лепестках, тычинках и плодolistиках). В результате полной супрессии данного гена были получены цветки с нормально развитыми чашелистиками, но с листовидными структурами вместо лепестков, тычинок и плодolistиков. Когда экспрессию гена *floral binding protein* частично подавляли, развивались нормальные цветки, но с зеленой полосой по краям лепестков.

В настоящий момент в различных лабораториях ведутся активные работы по полной идентификации генов, вовлеченных в процесс формирования генеративных органов. Поскольку подобные гены являются консервативными у двудольных растений, можно будет использовать идентифицированные гены модельных объектов для изменения цветков других видов [32].

Многие виды растений имеют одиночные детерминированные цветки. Для срезочных культур этот признак является очень важным, поскольку снижает затраты

на пинцировку. Известны мутации в геномах петунии и львиного зева, ведущие к образованию единичных цветков вместо нескольких [9]. Идентификация и клонирование этих генов позволит использовать их для создания промышленных сортов роз, гвоздик, хризантем и других культур с одиночными цветками.

Изменение запаха — это одно из перспективных направлений генетической инженерии в будущем. Как известно, основной класс соединений, определяющих запах цветов, — монотерпены, которые являются главными составляющими парфюмерных масел и имеют коммерческое значение. Они представляют собой производные гераниолпирофосфата и образуются в растениях в результате действия монотерпенового синтаза. Многие монотерпеносинтазы растений уже были описаны. Совсем недавно был идентифицирован ген S-лианол синтазы [37], а также 2 гена, которые модифицируют монотерпены [4]. К настоящему времени сообщений по генетической модификации запаха цветов нет, однако уже существует интересное сообщение об увеличении концентраций ароматических масел у лимонной пеларгонии [35]. Результатом трансформации R1 плазмидой стало увеличение содержания гераниола в 2,0—4,4 раза, линалола — в 1,5—2,8, цинеола — в 3,3—13,0, цитронеллола — в 0,75 раза. Всего было обнаружено 14 изменений: для 9 ароматических масел — увеличение содержания, для 5 — понижение. Новых масел хроматографическим анализом обнаружено не было.

Устойчивость к вредителям и болезням

Помимо изменения декоративных качеств, все большее внимание уделяется созданию растений, устойчивых на генетическом уровне к вредителям и болезням. Такие работы в настоящее время сосредоточены вокруг основных полевых и овощных культур. Тем не менее эти стратегии применяются также для цветочных культур, поскольку и они, как правило, поражаются различными болезнями и вредителями.

Устойчивость к насекомым-вредителям. Для переваривания клеток растений насекомые часто продуцируют трипсин, хемотрипсин, эластазы и хеомоластазы. Ингибиторы этих протеиназ могут играть роль в системе защиты растений. Продуцируя эти ингибиторы, растения могут защищать сами себя от вредителей, разрушая их пищеварительную систему. К настоящему времени уже получены модельные трансгенные растения с генами, придающими такую устойчивость. Например, Hilder и др. [19] для придания устойчивости к совке *Heliothis virescens* успешно встроили последовательность, кодирующую ингибитор трипсина CpTIs, полученный из вигны (*Vigna unguiculata*), в табак [19].

Thomas и др. получили трансгенные растения хлопка с генами ингибитора протеиназ (PI), выделенного из *Manduca sexta* L. Хлопок с этими генами был менее подвержен повреждающему действию белокрылки *Bemisia tabaci* (Genn.). Лабораторные исследования показали, что гены антиэластазы и

антитрипсина дают наибольшую устойчивость.

Комбинирование нескольких ингибиторов протениназ и других ингибиторов пищеварительных ферментов насекомых может придать эффективную устойчивость [17]. С помощью этого метода в будущем может быть получена устойчивость гвоздики к трипсам, а роз и хризантем — к паутишному клещу.

В последние 3 десятилетия в качестве одного из видов биологической защиты от насекомых-вредителей используются специфические белки-инсектициды бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt). На основе этих белков уже давно созданы и используются специальные препараты, высоко специфичные к гусеницам чешуекрылых насекомых, однако срок их действия очень короток. Известно, что белки Bt связываются с соответствующими рецепторами на мембранах клеток кишечника насекомых, что препятствует нормальному транспорту в кишечном эпителии, лишая животное возможности нормально питаться [14, 16].

В середине 1980 годов специалистами нескольких компаний, занимающихся генетической инженерией, в том числе Plant Genetic System (Бельгия), Agrigenetics (США), Agracetus (США) и Monsanto (США), удалось выделить бактериальные гены, называемые *cry* генами, которые кодируют белки-инсектициды δ -эндотоксины. Производимые первыми трансгенными растениями белки Bt убивали лишь наиболее чувствительных лабораторных насекомых [14, 16, 28]. Однако в дальней-

шем, после изменения кодирующей последовательности, добавления сайтов полиаденилирования и оптимизации кодона (замены некоторых бактериальных кодонов на растительные) удалось значительно повысить экспрессию этих генов, увеличив содержание δ -эндотоксинов до 0,05—0,1% [36, 45, 51].

Известно несколько *cry* генов, токсичных для отдельных классов насекомых: группы *cryI* и *cryII* эффективны против чешуекрылых, группа *cryIII* — против колорадского и других жуков, группы *cryII* и *cryIV* — против двукрылых насекомых [48]. Из одного штамма был получен модифицированный ген *cryIII*, дающий устойчивость против картофельного колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*). Летом 1991 г. в ряде районов США были проведены испытания картофеля сорта Рассет Бербанк, у которого экспрессировался «инсектицидный» ген. Было обнаружено, что эти растения практически невосприимчивы к жукам-вредителям [15]. Многие исследователи считают *cry* гены самыми безопасными инсектицидами. Белки, кодируемые ими, разлагаются точно так же, как и любые другие белки, — в пищеварительном тракте теплокровных животных и в почве.

К настоящему времени насчитывается несколько десятков работ, посвященных идентификации и модификации *cry* генов и трансформации ими многих сельскохозяйственных культур: табака [42], томата [14], хлопка [36], кукурузы [25] и риса [51].

Уже существуют первые сообщения о получении трансгенных

цветочных культур, содержащих ген δ -эндотоксина. Долгов и др. [11] получили 2 линии трансгенных хризантем сорта White Hargison, используя метод агробактериальной трансформации. Предварительные результаты показали более высокую устойчивость трансгенных растений к паутинному клещу (*Tetranychus urticae*), чем контрольные.

Устойчивость к грибным патогенам. Во многих случаях природная устойчивость растений к грибным патогенам связана с гиперчувствительным ответом и коррелирует с производством специальных PR-белков. Гиперчувствительный ответ характеризуется быстрым локальным некрозом в местах инфекции (гибелью клеток) и часто сопровождается ограниченным распространением патогена в неинфицированных частях растения. Тем не менее гиперчувствительный ответ может рассматриваться как защитная реакция хозяина. PR-белки, которые индуцируются патогенной инфекцией, были обнаружены более чем у 20 видов [12]. Некоторые PR-белки проявляют энзиматическую активность, такую как хитиназная и β -1,3-глюканазная. Субстраты для этих ферментов — хитин и β -1,3-глюкан — являются важными структурными компонентами клеточной стенки многих грибов. Было обнаружено, что эти ферменты проявляют способность ингибировать *Fusarium solani* в трансгенных растениях томатов [43]. Есть предпосылки для того, что путем применения генов, кодирующих PR-белки, можно достигнуть фузариозной устойчи-

вости многих травянистых цветочных культур.

Одно из возможных направлений получения устойчивости — использование авирулентных генов грибных патогенов. Нопее и др. [21] получили трансгенные растения табака и томата с тремя конструкциями *avr9* элиситора из *Cladosporium fulvum*. Уровень экспрессии этого гена не зависел от количества ДНК вставок, однако гомозиготные по этому гену растения продуцировали *avr9* белок в большем количестве, чем гетерозиготные (проводились скрещивания трансгенных растений между собой и с контролем). Развитие этого направления, возможно, откроет новые перспективы создания растений, в том числе и цветочных, устойчивых к грибным патогенам.

Устойчивость к вирусам. Вирусы также могут сильно поражать цветочные культуры. Для получения вирусоустойчивых трансгенных растений можно использовать различные стратегии [12]. Одним из наиболее успешных способов является защита посредством введения генов белковой оболочки. Достаточная экспрессия подобных генов привела к заметному уменьшению симптомов распространения вирусной инфекции и к сокращению уровня их аккумуляции. Исследователи полагают, что оболочка может взаимодействовать с безоболочковой вирусной РНК [1, 39]. ДНК, кодирующая белок вирусной оболочки, в различных комбинациях растения — вирусы была успешно интродуцирована в некоторые виды сельскохозяйственных рас-

тений. Например, компаниями MOGEN и Monsanto Inc. были созданы трансгенные растения картофеля, устойчивые в условиях теплиц и на полях к вирусам X (PVX), Y (PVY) и скручиванию листьев (PLRV) [22, 26, 46]. Эти растения оказались невосприимчивыми как при инокуляции вирусом в высоких концентрациях вручную, так и при заражении через тлю-переносицу.

Среди цветочных культур уже получены растения хризантем с геном нуклеокапсида (N) вируса бронзовости томатов (TSWV). Как было показано ранее на модельном объекте (табаке), этот нуклеокапсид придает устойчивость к *Tospoviruses*, которые довольно сильно поражают хризантемы. Посредством *agrobacterium* метода [41] и бомбарданта [52] получено несколько трансгенных сортов хризантем (Iridon, Blush, Dark Bronze Charm, Tara) со стабильной экспрессией этого гена. В настоящее время проводятся исследования на предмет повышения устойчивости этих трансгенных хризантем.

Заключение

Собранная информация говорит о большом размахе деятельности генных инженеров по совершенствованию ассортимента современных сельскохозяйственных культур, в том числе и цветочных.

К сожалению, сейчас с помощью генной инженерии можно получить новые признаки только при условии их моногенности или олигогенности. Характеристики, наследующиеся полигенно, например, урожайность, габитус

растений, запах цветков и др., в ближайшее время с помощью генной инженерии не могут быть модифицированы полностью. С другой стороны, важно то, что методы генной инженерии уже сейчас можно использовать для работы с наиболее интересными генами, которые кодируют признаки, уменьшающие производственные затраты, — устойчивость к болезням и вредителям, увеличение продолжительности жизни срезки, изменение окраски.

Успех применения генной инженерии зависит от развития простых и действенных систем трансформации отдельных цветочных культур. В настоящее время трансформация остается довольно трудоемким, дорогим и многоступенчатым методом. Большую роль при этом играет выбор сорта, экспланта и метода трансформации. Немалое значение имеют идентификация и выделение новых интересных генов и создание таких конструкций, которые в перспективе можно будет использовать для создания растений с новыми характеристиками. Кроме того, полученный первичный трансгенный материал нуждается в дальнейшей селекционной доработке для получения полноценных коммерческих сортов. Только таким образом возможно дальнейшее продвижение в совершенствовании и улучшении современного ассортимента цветочных культур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abel P.P., Nelson R.S., De B., Hoffman N. et al. — Sci., 1986, vol. 232, p. 738—743. — 2. Angenent G.C., Franken J., Busscher M. et

- al. — Plant J., 1993, vol. 4, p. 101—112. — 3. *Angenent G.C., Franken J., Busscher M. et al.* — Plant J., 1994, vol. 5, p. 33—44. — 4. *Bolwell G.P., Bozak G.P., Zimmerlin A.* — Phytochemistry, 1994, vol. 37, p. 1491—1506. — 5. *Bradley M., Davies K., Deroles S. et al.* — Acta Hort., 1995, vol. 420, p. 23—25. — 6. *Chuck G., Robbins T., Nijjar C. et al.* — Plant Cell., 1993, vol. 5, p. 371—378. — 7. *Coen E.S., Carpenter R.* — Trends Genet., 1986, vol. 2, p. 292—296. — 8. *Courtney-Gutterson N., Napoli C., Lamieux Ch. et al.* — Biotech., 1994, vol. 12, p. 268—271. — 9. *De Vlaming.* — Plant Mol. Biol. Report, 1984, vol. 2, p. 21—42. — 10. *Deroles S., Bradley M., Davies K. et al.* — Acta Hort., 1995, vol. 420, p. 26—28. — 11. *Dolgov S.V., Mityshkina T.U., Rukavtsova E.B., Buryanov Y.I.* — Acta Hort., 1995, vol. 420, p. 46—47. — 12. *Dons J.J., Mollema C., Stiekema W.J., Visser B.* — From: Genetics and breeding in ornamental species / Harding J., Sing F., Mol J.N.M. (eds) Kluwer Acad. Publishers, 1991, p. 387—417. — 13. *Elomaa P., Honkanen J., Puska R. et al.* — Biotechn., 1993, vol. 11, p. 508—511. — 14. *Fischhoff D.A., Bowdish K.S., Perlak P.G., Marrone S.M.* — Biotechn., 1987, vol. 5, p. 807—812. — 15. *Fraley R.T.* — Abstracts of the Third Intern. Cong. of the Intern. Soc. for Plant Mol. Biol., 1991, N 3. Tucson, AZ, USA. — 16. *Gasser C.S., Fraley R.T.* — Sci., 1989, vol. 244, p. 1293—1299. — 17. *Gatehouse J.A., Hilder V.A., Gatehouse A.M.R.* Plant biotechnology series. — In: Plant genetic engineering, 1991, p. 105—135. — 18. *Halfer U., Ali N., Stockhaus J., Ren L., Chua N.H.* — Embio J., 1994, vol. 13, p. 1443—1449. — 19. *Hilder V.A., Gatehouse A.M.R., Sheerman S.E. et al.* — Nature, 1987, vol. 330, p. 160—163. — 20. *Holton T.A., Tanaka Y.* — Trends Biotechnol., 1994, vol. 12, p. 40—42. — 21. *Honee C., Melchers L.S., Vleeshouwers V.G.A.A. et al.* — Plant. Mol. Biol., 1995, vol. 29, p. 909—920. — 22. *Jongedijk E., Huisman M.J., Willink D.P.L. et al.* — Biotechn., 1992, vol. 7. — 23. *Karol E.P., Robinson, Firoozabady E.* — Sci. Hort., 1993, vol. 55, p. 83—99. — 24. *Klee H.J., Hayfold M.B., Kretzmer K.A. et al.* — Plant Cell., 1991, vol. 3, p. 1187—1193. — 25. *Koziel M.G., Beland G.L., Bowman C. et al.* — Biotechn., 1993, vol. 11, p. 194—200. — 26. *Lawson C., Kaniowski W., Haley L. et al.* — Biotechn., 1990, vol. 8, p. 127—134. — 27. *Ma H.* — Genes Develop., 1994, vol. 8, p. 745—754. — 28. *McPherson S.A., Perlak P.G., Fuchs P.G. et al.* — Biotechn., 1988, vol. 6, p. 61—66. — 29. *Meyer P., Heidmann I., Forkmann G., Saedler H.* — Nature, 1987, vol. 333, p. 667—679. — 30. *Meyer P., Heidmann I., Niedenhof L.* — Plant J., 1993, vol. 4, p. 89—100. — 31. *Michael M.Z., Slavin K.W., Baudinette S.C. et al.* — From: Cellular and molecular aspects of the plant hormone ethylene / Pech J.C., Latache C. (eds), Kluwer Acad. Publishers, 1991, p. 298—303. — 32. *Mol J.N.M., Holton T.A., Koes R.E.* — Tibthech., 1995, vol. 13, p. 350—355. — 33. *Oeller P.W., Lu M.W., Taylor P.L. et al.* — Sci., 1991, vol. 254, p. 437—439. — 34. *Oud J.S.N., Schneiders H., Kool A.J. et al.* — Euphitica, 1995, vol. 85, p. 403—409. — 35. *Pellegrineschi A., Damon J.P., Valtoria N. et al.* — Bi-

- otechn., 1994, vol. 12, p. 64—68. — **36.** *Perlak F.J., Deaton R.W., Armstrong T.A. et al.* — *Biotechn.*, 1990, vol. 8, p. 939—943. — **37.** *Pichersky E., Lewinsohn E., Croteau R.* — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1995, vol. 316, p. 803—807. — **38.** *Quattrocchio F.* — Thesis, 1994, Vrije Universiteit. — **39.** *Register J.C., Beachy R.N.* — *Virology*, 1988, vol. 166, p. 524—532. — **40.** *Thomas C.J., Adams D.G., Keppenne V.D. et al.* — *Plant Cell Rep.*, 1995, vol. 14, p. 758—762. — **41.** *Urban L.A., Sherman J.M., Moyer J.W., Daub M.E.* — *Plant Sci.*, 1994, vol. 98, p. 69—79. — **42.** *Vaeck M., Reynaerts A., Hofte H. et al.* — *Nature*, 1987, vol. 327, p. 239—247. — **43.** *Van den Elzen P.J.M., Jondedijk E. et al.* — *Phil. Trans. R. Soc., L.*, 1993, vol. 324, p. 271—278. — **44.** *Van der Krol A.R., Lenting P.E., Veenstra J. et al.* — *Nature*, 1988, vol. 333, p. 866—869. — **45.** *Van der Salm, T., Bosch D., Honee G. et al.* — *Plant Mol. Biology*, 1994, vol. 26, p. 51—59. — **46.** *Van der Wilk F., Willink D.P.L., Huisman M.J. et al.* — *Plant Mol. Biol.*, 1991, vol. 17, p. 431—439. — **47.** *Van Tunen A., Franken J., Busscher J. et al.* — *Acta Hort.*, 1995, vol. 420, p. 13—15. — **48.** *Vayda M.E., Belknap W.R.* — *Transgen. Research*, 1992, vol. 1, N 1, p. 149—163. — **49.** *Wang H., Woodson W.R.* — *Plant Physiol.*, 1993, vol. 96, p. 1000—1001. — **50.** *Woltering E.J., Van Doorn W.G.* — *J. Exp. Bot.*, 1988, vol. 39, p. 1605—1616. — **51.** *Yepes L.M., Mittak V., Pang S.Z. et al.* — *Plant Cell Rep.*, 1995, vol. 14, p. 694—698.
- Статья поступила 10 июля 1997 г.*