
Теорія, методи і практичні аспекти інтродукції рослин

УДК 575.117:575.17:575.822:575.826:575.857:631.524

Б.А. ЛЕВЕНКО

Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины
Украина, 01014 г. Киев, ул. Тимирязевская, 1

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИНТРОДУКЦИИ РАСТЕНИЙ

Рассмотрены генетические аспекты интродукции растений за пределы их естественного ареала. Интродукция новых видов растений и их выживание зависят от особенностей размножения, наследственности, естественного ареала произрастания, коэффициента размножения, полиморфизма. Предложены методы, которые могут быть использованы для расширения генотипического разнообразия интродуцентов. По мнению автора, одним из наиболее перспективных направлений является генетическая трансформация интродуцируемых видов путем введения в их геном генов, контролирующих признаки, определяющие возможность выживания интродуцентов в новых условиях. Приведены примеры получения новых трансгенных форм цветочных растений.

Растения природной флоры представляют собой огромный и часто уникальный генофонд и характеризуются ценными признаками и свойствами, отсутствующими у культурных растений. Особую роль в сохранении этого генофонда играют ботанические сады, дендропарки, селекционные станции, деятельность которых направлена на создание коллекции ценных и исчезающих видов, а также на интродукцию видов, не произрастающих в данных эколого-географических условиях.

Кроме ботанических садов, к охране редких и исчезающих видов должны быть подключены природные национальные парки, одной из задач которых является восстановление видов растений, ранее произрастающих на их территории, и зоопарки, которые, являясь охраняемыми территориями, уже начали использоваться для этих целей в некоторых зарубежных странах.

Интродукция имеет как ботанико-географический, так и генетико-селекционный аспекты и при анализе литературы по интродукции растений приходится часто сталкиваться с проблемой неправильного использования генетической терминологии. К со-

жалению, в большинстве ботанических садов, включая крупные, отсутствуют генетические отделы, чем обусловлено проведение работ по интродукции на эмпирическом уровне. Часто именно отсутствие генетических исследований интродуцентов является причиной отрицательных результатов при их интродукции в новые регионы. А.М. Гродзинский считал необходимым при интродукции растений учитывать генетические аспекты, в частности понятие "популяция" [5].

Большинство продовольственных растений, цветочных и декоративных культур являются интродуцентами, т. е. завезенными из других стран и акклиматизированными в новых для них условиях. Согласно определению проблемной записки Совета ботанических садов интродукция рассматривается как "целесообразная деятельность человека по введению в культуру в данном естественно-историческом районе растений (родов, видов, подвидов, сортов и форм), ранее в нем не произраставших, или перенос их в культуру из местной флоры" [13].

Существует несколько толкований терминов "интродукция", "акклиматизация", "натурализация", связанных с процессами переноса видов растений в новые условия

произрастания и их адаптации к ним [2]. Смысл этих терминов изменялся на протяжении всего их существования [3, 4, 6, 7, 9, 11, 17, 18, 19]. Так, термин "акклиматизация" претерпел значительные семантические изменения и в современной литературе чаще всего используется при описании поведения размноженных в изолированной культуре растений при их переносе в условия *in vivo* в связи с физиологическими изменениями в пределах нормы реакции генотипа (если при этом не произошли соматональные мутации).

В литературе также используются термины "реабилитация", "ревегетация", "рекультивирование", "реинтродукция" для обозначения приемов, направленных на сохранение и возвращение в исходные места произрастания видов растений, исчезнувших в результате хозяйственной деятельности человека (закладка шахт, рудников, отвалов). При этом в лучшем случае предполагается возврат на исходное место произрастания после работ по рекультивации всего комплекса видов, произраставших там до начала техногенной деятельности человека.

Различия между сельскохозяйственными и декоративными растениями с генетической точки зрения заключаются лишь в методах работы с этими двумя группами видов. Сельскохозяйственные и цветочные растения, как правило, завозились в большом объеме (популяции) и в ходе акклиматизации претерпевали значительные генетические изменения вследствие проводившейся селекционной работы, связанной с мутагенезом и гибридизацией, включая отдаленную. По данным МАГАТЭ, около 70% сортов наиболее используемых продовольственных культур получены в результате химического и радиационного мутагенеза.

По определению Р.Л. Берг, "Популяция — целостная система, части которой существенно изоморфны между собой, способны к самовоспроизведению, меняются и воспроизводят измененное состояние" [1]. Сово-

купность популяций различных видов растений, произрастающих в данных эколого-географических условиях, составляет фитоценоз. Устойчивость фитоценозов зависит от устойчивости всего комплекса видов, составляющих его. Структура ценозов может меняться при изменении условий произрастания (промышленные загрязнения, подъем уровня почвенных вод, резкие климатические изменения), что приводит к выпадению отдельных видов, а также к появлению новых видов с высоким адаптационным потенциалом (например, амброзии).

Известны случаи, когда виды, будучи декоративными растениями, использовались для продовольственных целей (подсолнечник, томаты), а также случаи возвращения ряда продовольственных видов в группу декоративных (подсолнечник).

Декоративные растения в большинстве случаев завозились в виде единичных экземпляров или в небольшом количестве и часто размножались вегетативно. С этим связана узость их генетической базы. Многие декоративные растения, особенно размножаемые вегетативно, представляют собой практически тот же генетический материал, который был интродуцирован, часто даже несколько столетий назад. Это относится также и к продовольственным растениям, размножаемым вегетативно. Сорты этих растений возникали чаще всего в результате спортивных мутаций и их генотипическое разнообразие очень сужено.

Примером снижения генотипического разнообразия при интродукции могут являться исследования по изучению популяционного полиморфизма по спектру изоферментов сосны крымской и снижению уровня гетерозиготности для отдельных субпопуляций в интродукционных насаждениях этого вида [8].

Небольшое генотипическое разнообразие интродуцированных декоративных растений, размножаемых вегетативно, является причиной их исчезновения в ряде новых мест обитания, когда размах экспрессии ге-

нов, контролирующих критические признаки, определяющие существование данного вида в новых условиях, не достаточен для его выживания в годы с экстремальными условиями (очень холодные бесснежные зимы, сильные засухи, сочетание неблагоприятного по климатическим условиям вегетационного периода с холодной зимой). Этим же можно объяснить и появление эпифитотий патогенов, ранее не свойственных данному району, появление новых высоковирулентных рас патогенов (например, для банана и папайи).

В качестве примера узости генетической базы интродуцированного материала можно привести культуру банана в Уганде. По данным биотехнологического информационного центра Кении, эпифитотия вилта привела к быстрому распространению этой болезни и уничтожению плантаций в 21 провинции из 56, где выращивается эта культура, являющаяся основным продуктом питания более половины местного населения. Уганда производит 8,5 млн т бананов ежегодно (<http://www.isaa-africenter.org>). Подобная угроза существует и для ряда других стран, выращивающих бананы.

Отсутствие генотипического разнообразия среди культивируемых сортов банана, размножаемых вегетативно, ставит под угрозу само существование этого вида. В связи с этим биотехнологи ряда африканских стран требуют от своих правительств ускорить принятие законов, регулирующих экспериментальную работу с генетически модифицированными организмами и их использование, видя единственную возможность спасения данного вида в создании трансгенных растений, устойчивых к патогенам. В качестве примера они приводят получение трансгенных растений папайи, устойчивых к вирусу кольцевой пятнистости, что позволило спасти насаждения папайи на Гавайях, почти полностью уничтоженные этим вирусом.

Термин эпигенетика ввел в 1947 г. К.Х. Уоддингтон. Он предложил называть эпигене-

тикой "...ветвь биологии, изучающую причинные взаимодействия между генами и их продуктами, образующими фенотип" [16].

Следует учитывать, что "менделеевская генетика анализирует в потомствах наследование структурно-дискретных единиц генома, тогда как эпигенетика анализирует реализацию информационно-дискретных сигналов в системе гены-признак" [12].

Понятие "наследование" (экспрессия признаков в потомстве), в свою очередь, претерпело значительное усложнение вследствие выявления комплекса признаков и факторов, влияющих на него, и в настоящее время выделяют три типа наследственной памяти: структурную, клеточную и сигнальную, реализуемых на разных уровнях организации биологических структур [12].

Главными факторами, способствующими исчезновению видов, кроме антропогенной деятельности, являются: небольшой ареал произрастания, низкий коэффициент размножения, узость генетической базы (узкий полиморфизм), исчезновение насекомых-опылителей для насекомоопыляемых видов.

По мнению некоторых авторов, возможно применение инбридинга для перевода мутантных генов с полулетальным эффектом в гомозиготное состояние и выбраковка таких гомозигот с целью улучшения генетической структуры популяции, отягощенной этими генами [14].

Изменчивость, наблюдаемая у интродуцентов, чаще всего имеет модификационную природу, наблюдается в пределах нормы реакции генотипов и регулируется пенетрантностью и экспрессивностью генов. Понятия "экспрессивность" и "пенетрантность" введены в 20-х годах XX ст. Н.В. Тимофеевым-Рессовским [15]. Под пенетрантностью гена понимается способность гена проявляться в потомстве. Мерилом пенетрантности является число особей, гетерозиготных или гомозиготных по определенному доминантному гену, или особей, гомозиготных по определенному рецессивному ге-

ну, у которых этот ген проявился фенотипически. Экспрессивностью называется фенотипическая реализация гена, определяемая степенью выраженности признака в потомстве. Пенетрантность и экспрессивность генов могут зависеть от условий среды, в которых развивался организм, и от эффекта других генов.

Имеющиеся данные о влиянии факторов среды на пенетрантность и экспрессивность генов позволяют подбирать условия среды, в которых в наибольшей мере проявляются желаемые признаки. Так, известно, что для одних видов растений для появления наиболее яркой окраски цветков необходимы низкие температуры, для других — оптимальны высокие температуры. В качестве примера можно привести отсутствие красной окраски венчика у китайской примулы при высокой температуре и ее наличие при низкой.

На реализацию признаков оказывает влияние генотипическая среда — комплекс всех генов генома, которые могут усиливать или ослаблять экспрессию изучаемого гена. Генотипическая среда определяет не только уровень экспрессии гена и его пенетрантность, но также его рецессивность или доминантность. При этом один и тот же ген может проявляться как доминантный аллель (у гемизигот и трансгенных растений вследствие отсутствия второго гена аллеломорфной пары), так и рецессивный (при наличии его доминантного аналога).

Для увеличения генотипического разнообразия интродуцируемых растений могут быть использованы те же методы, которые применяются для создания сортов сельскохозяйственных растений:

1. Микрклональное размножение редких видов и форм, находящихся на грани исчезновения.
2. Гибридизация, включая отдаленную.
3. Экспериментальный мутагенез, с учетом его ограниченной возможности изменения сложных полигенных признаков (повышенная холодо- и засухоустойчивость).

4. Экспериментальная полиплоидия и особенно ее использование при отдаленной гибридизации для получения фертильных амфидиплоидов. Экспериментальная полиплоидия, расширяя спектр изменчивости вида, в то же время имеет свои ограничения, связанные с крупноклеточностью большинства индуцированных полиплоидов, что в результате приводит к снижению засухо- и морозоустойчивости. Поэтому она априори не может гарантировать получение форм, устойчивых к новым районам произрастания. Наличие же естественных полиплоидных рядов среди интродуцируемых видов может способствовать успешной акклиматизации интродуцентов за счет геномной изменчивости, которая может включать изменения (в том числе и в сторону усиления требуемого признака), способствующие лучшей адаптации интродуцируемого вида.

5. Культура изолированных клеток, тканей и органов, в том числе эмбриокультура, позволяющая в ряде случаев преодолевать несовместимость скрещиваемых видов.

6. Генетическая трансформация. В настоящее время генетическая трансформация рассматривается в качестве метода, позволяющего вносить в растения требуемые гены и их сочетания, не изменяя в то же время существенно генотип данного растения, что недостижимо, например, при отдаленной гибридизации, также позволяющей вносить комплексы генов, но при этом значительно изменяющей генотип исходных форм за счет нескольких тысяч генов, передающихся от второго родителя [10].

Разработаны методы, позволяющие одновременно вводить в растения сразу несколько генов. В работе по генетической трансформации винограда мы одновременно вводили гены устойчивости к гербициду фосфинотрицину, бактериальному раку, к антибиотику канамицину и ген дефензина,

контролирующий устойчивость к грибным патогенам. В настоящее время экспрессия, по крайней мере трех первых генов, доказана [22].

Успехи в получении трансгенных растений березы, устойчивой к гербицидам и насекомым [26]; тополя, устойчивого к гербицидам [20]; осины со сниженным содержанием лигнина, что имеет большое экономическое значение для производства бумаги [21]; осины с красной окраской древесины [27]; соле- и засухоустойчивой осины [29]; пеларгонии с измененным ароматом и улучшенными декоративными свойствами [25]; торении (*Torenia hybrida*) с гаммой окрасок цветка: белой, синей, бледно-желтой [28]; хризантем с измененной окраской [24] свидетельствуют о перспективности получения цветочно-декоративных травянистых и древесных растений с новыми свойствами.

В качестве примера получения форм растений, не существующих в природе, можно привести работы по созданию голубой розы. Многие пигменты цветков растений представлены единой структурной молекулой — антоцианом. Добавление гидроксильных групп к этой молекуле приводит к изменению окраски: наличие одной гидроксильной группы дает кирпично-красную окраску, двух — розово-красную, трех — синюю. У роз, гвоздик и многих других цветочных растений отсутствует ген, кодирующий фермент, который катализирует присоединение третьей гидроксильной группы. В 1986 г. была создана компания "Флориген" с целью получения трансгенных сортов цветочных растений. Однако в связи со сложностью генетической трансформации розы эксперименты начали с переноса гена синей окраски в геном гвоздики. Через 4 года, истратив 18 млн долларов, компания создала сорт гвоздики *Moondust* с синей окраской цветков и в 1996 г. начала продажу этой гвоздики. Проблема заключалась в том, что цветки имели скорее фиолетовую, чем синюю окраску.

Японская компания "Сантори" начала эксперименты по введению в розу из петуний гена синей окраски. Однако этот ген плохо экспрессировался в розе и после изучения генов ряда цветочных растений сотрудники компании остановились на гене анютиных глазок. В июне 2003 г. компания объявила, что цель достигнута — получена голубая роза. Однако, как и в случае с компанией "Флориген", окраска была скорее фиолетовая, чем голубая.

В настоящее время сотрудники этих компаний изучают состав генома розы для получения настоящей голубой окраски. Еще несколько компаний, после многочисленных попыток в течение ряда лет получить голубую окраску цветка розы, прекратили свои исследования в этом направлении.

Эти же подходы могут быть использованы для интродукции видов растений в новые эколого-географические районы путем введения в их геном трансгенов, повышающих их устойчивость к стрессовым факторам, что может обеспечить лучшую адаптацию растений к условиям этих районов, не затрагивая в то же время остальные их свойства.

В настоящее время причинами, сдерживающими применение методов генетической трансформации для создания новых форм растений, как продовольственных, так и декоративных, является высокая стоимость использования клонированных генов и методов трансформации, которые защищены патентами, а также высокие затраты, связанные с испытанием трансгенных растений. Эти трудности уже привели к значительному сокращению работ по получению и испытанию трансгенных растений, осуществляемых небольшими фирмами. Выходом из сложившейся ситуации может быть использование генов, находящихся в собственности университетов.

1. Берг Р.Л. Случайна или закономерна эволюция? // Генетика и эволюция: Избр. тр. — Новосибирск: Наука, 1933. — С. 230—281.

2. Булах П.Е. Основные понятия и термины интродукции растений // Интродукція рослин. — 2001. — № 1-2. — С. 132—138.
3. Вавилов Н.И. Ботанико-географические основы селекции. — М.; Л.: ОГИЗ-Сельхозгиз. — 1935. — 326 с.
4. Гришко М.М. Завдання і напрями роботи Ботанічного саду Академії наук Української РСР // Тр. Ботан. саду АН УРСР. — 1949. — Т. 1. — С. 3—21.
5. Гродзинский А.М. Интродукция растений в период научно-технической революции // Теория и методы интродукции растений и зеленого строительства. — К.: Наук. думка, 1980. — С. 3—6.
6. Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. — Л.: Колос, 1971. — 751 с.
7. Кащенко М.Ф. На допомогу Київському акліматизаційному саду. — К.: Друк. Укр. Акад. Наук, 1925. — 36 с.
8. Коршиков Н.И., Терлига Н.С., Бычков С.А. Популяционно-генетические проблемы дендротехногенной интродукции. — Донецк: ООО "Лебедь", 2002. — 326 с.
9. Лапин П.И. О терминах, применяемых в исследованиях по интродукции и акклиматизации растений // Бюл. ГБС. — 1971. — Вып. 83. — С. 10—18.
10. Левенко Б.А. Трансгенные растения. Современное состояние, проблемы, перспективы. — К.: Дошкольник, 2000. — 304 с.
11. Малеев В.П. Теоретические основы акклиматизации. — Л.: Сельхозгиз, 1933. — 160 с.
12. Малецкий С.И. Эпигенетические и синергические формы наследования репродуктивных признаков у покрытосеменных растений // Журн. общей биол. — 2004. — 65. — № 2. — С. 116—135.
13. Понятия, термины, методы и оценка результатов работы интродукции растений. — 3-е изд. — М.: Совет ботан. садов СССР, 1971. — 11 с.
14. Тарасенко Н.Д. Генетические аспекты охраны генофонда и интродукции и акклиматизации растений. — Новосибирск: Визави, 1995. — 20 с.
15. Тимофеев-Рессовский Н.В. О фенотипическом проявлении генотипа. I. Геновариации *radix incompletes* у *Drosophila funebris* // Журн. общей биол. Сер. А. — 1925. — 1. — Вып. 3-4. — С. 93—142.
16. Уоддингтон К.Х. Основные биологические концепции // На пути к теоретической биологии. — М.: Мир, 1970. — С. 11—38.
17. Цицин Н.В. Отдаленная гибридизация растений. — М.: Сельхозгиз, 1954. — 431 с.
18. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1946. — 396 с.
19. Штуббе Г.О. О связях между естественным и искусственно получаемым многообразием форм и о некоторых экспериментальных исследованиях по эволюции культурных растений // Генетика. — 1966. — 26. — № 11. — С. 9—36.
20. Devillard C. Transformation in vitro du tremble (*Populus tremula* × *Populus alba*) par *Agrobacterium rhizogenes* et regeneration de plantes tolérantes au basta // C. R. Acad. Sci. Ser. III. — 1992. — 314. — N 6. — P. 291—298.
21. Gozukimizi N., Bajrovic K., Ipeci Z. et al. Development of tissue culture and transformation systems in *Populus tremula* to modify lignin biosynthesis // Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture (Jerusalem, June 14—19, 1998). — Jerusalem, 1998. — P. 146.
22. Levenko B.A., Rubtsova M.A. Herbicide resistant plants of grapevine // Acta Horticult. — 2000. — 528. — P. 337—339.
23. Mellema M.A., Dubois L.A.M., de Vries D.P. Somatic embryogenesis and transformation of cut rose cultivars // Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture (Jerusalem, June 14—19, 1998). — Jerusalem, 1998. — P. 93.
24. Mitiouchkina T.Yu., Ivanova E.P., Taran S.A., Dolgov S.V. Molecular breeding of *Chrysanthemum* // Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue, Cell Culture (Jerusalem, June 14—19, 1998). — Jerusalem, 1998. — P. 94.
25. Pellegrineschi A., Damon J.-P., Valtorta N. et al. Improvement of ornamental characters and fragrance production in lemon-scented geranium through genetic transformation by *Agrobacterium rhizogenes* // Biotechnol. — 1994. — 12. — N 1. — P. 64—67.
26. Shin D.I., Podila G.K., Karnosky D.F. Transgenic larch expressing genes for herbicide and insect resistance // Canad. J. Forest Res. — 1994. — 24. — N 10. — P. 2059—2067.
27. Tsai C.-J., Mielke M.M., Popko J.L. et al. Novel wood coloration and altered lignin composition in transgenic aspen through manipulation of caffeic acid/5-hydroxyferulic acid o-methyl-transferase gene expression // Plant Physiol. — 1997. — 114. — N 3, Suppl. — P. 300.
28. Tsuda S., Suzuki K., Xue H.-m. et al. Molecular breeding of flower color of *Torenia hybrida* // Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture (Jerusalem, June 14—19, 1998). — Jerusalem, 1998. — P. 8.
29. Wang W., Levin N., Tzfira T. et al. Plant tolerance to water and salt stress: the expression pattern of a water stress responsive protein (BspA) in transgenic aspen plants // Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture (Jerusalem, June 14—19, 1998). — Jerusalem, 1998. — P. 55.

Рекомендовал к печати П.Е. Булах

Б.О. Левенко

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка
НАН України, Україна, м. Київ

ГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ ІНТРОДУКЦІЇ РОСЛИН

Розглянуто генетичні аспекти інтродукції рослин за межі їх природного ареалу. Інтродукція нових видів рослин та їх виживання залежать від особливостей розмноження, спадковості, природного ареалу, коефіцієнта розмноження та поліморфізму. Запропоновані методи, які можуть бути використані для розширення генотипового різноманіття інтродуцентів. На думку автора, одним з найперспективніших напрямів є генетична трансформація видів, які інтродують, шляхом введення в їх геном генів, що контролюють ознаки, які визначають можливість виживання інтродуцентів у нових умовах. Наведено приклади отримання нових трансгенних форм квіткових рослин.

В.А. Levenko

M.M. Grishko National Botanical Gardens,
National Academy of Sciences of Ukraine,
Ukraine, Kyiv

GENETIC BASIS OF PLANT INTRODUCTION

Genetic aspects of plant introduction into new areas have been discussed. Introduction of new plant species and their survival depend on the type of propagation, inheritance, cultivation area, multiplication coefficient and polymorphism. Methods for increasing the genotypic diversity of introduced plants are proposed. Transfer of genes, encoding the characters, ensuring the survival of plants, which are introduced in new areas, into their genomes is the most promissory direction. Examples of new transgenic forms of flower plants are given.