

Министерство образования и науки Российской Федерации
Северный (Арктический) федеральный университет

ГЕНЕТИКА

Учебное пособие

Архангельск
2010

Рецензенты:

В.В. Беляев, проф., Поморского гос. ун-та им. М.В. Ломоносова
д-р с.-х. наук;

М.В. Сурсо, ст. науч. сотр. Института экологических проблем Севера
УрОРАН, канд. биол. наук
(участник исследований Чернобыльских лесов)

УДК 634.0.165.3

БАРАБИН А.И.

Генетика: учеб. пособие – Архангельск: Северный (Арктический) федеральный университет, 2010. – 116 с.

ISBN 978-5-261-00489-9

Приведены основные сведения по биологии тканевых культур, генной инженерии, клональному микроразмножению, биотехнологическим процессам получения здорового посадочного материала. Составлено впервые на основе более чем 30-летнего преподавания дисциплины. Значительное внимание уделено радиобиологическим исследованиям хвойных древесных пород в районе Чернобыльской катастрофы.

Предназначено для студентов, обучающихся по специальностям: 250201.65 «Лесное хозяйство», 250203.65 «Садово-парковое и ландшафтное строительство» очной и заочной форм обучения. Может быть полезным для научных работников, преподавателей университетов.

Ил. 17. Табл. 2. Библиогр. 29 назв.

Печатается в авторской редакции.

© Северный (Арктический)
федеральный университет,

2010

ВВЕДЕНИЕ

Генетика является наукой о наследственности и изменчивости организмов. Она призвана раскрыть законы воспроизведения живого по поколениям, появления у организмов новых свойств, законы индивидуального развития особи.

Выяснение сущности воспроизведения для конкретного разнообразия форм жизни требует изучения явлений наследственности у представителей, находящихся на разных ступенях эволюционного развития. Объектами генетики служат вирусы, бактерии, растения, животные и человек. В частной генетике не только типов, классов, семейств, родов, но и каждого из видов исследователь встречает много конкретных особенностей.

На фоне видовой и другой специфики в явлениях наследственности для всех живых существ обнаруживаются всеобщие законы. Их существование показывает единство органического мира. Его основой служит клетка – элементарная система, необходимая для проявления жизни на всех уровнях ее организации. Для каждой клетки инвариантно явление наследственности, т. е. способность к воспроизведению.

Важнейшие задачи встали перед генетикой человека. Глубокий интерес медицины к проблемам генетики вызван изучением обширной категории наследственных болезней. Среди них обнаружены болезни, причиной которых служат мутации генов и изменения в структуре или числе хромосом. Некоторые генные болезни получили название молекулярных, так как была обнаружена сущность молекулярных изменений, служащих первопричиной этих заболеваний.

Небывалые по своей сложности и по ответственности задачи встают перед генетикой в свете фактов о влиянии научно-технической революции на среду, окружающую живые существа на Земле. Изменения биосферы не только нарушают условия жизни организмов, но могут оказать губительное влияние на наследственность. Возникла проблема радиационных и химических мутагенов среды. Решение вопро-

сов космической биологии, сущности внеземной жизни, если она будет открыта, немыслимо без использования законов общей генетики.

Достигнув возможности молекулярного изучения наследственности и будучи связана с жизненными вопросами, современная генетика развивается исключительно быстро. Невиданными темпами растет фактический материал, создаются теоретические обобщения. Это вызывает поток публикаций, все растущее число журналов, книг и симпозиумов. Каждые пять лет проходят международные конгрессы по генетике и конгрессы по генетике человека.

Эпоха синтетической генетики началась в 1953 г., когда была раскрыта структура и генетическая значимость молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Обычно это время считают периодом молекулярной генетики. На самом деле молекулярные принципы не заменили и не вытеснили общую и частную генетику организмов, они вошли в них органической частью. К этому времени развитие теории гена и теории мутаций, биохимической и эволюционной генетики, генетики человека и других разделов общей и частной генетики достигло новых рубежей. Их объединение с молекулярной генетикой обеспечило синтетический подход к проблеме наследственности. С этим связано и новое положение генетики в практике сельского хозяйства и медицины, для которых генетика стала непосредственной производительной силой. Биологические свойства человека становятся центральным объектом генетических исследований. Развитие генетической инженерии сулит небывалую власть человека над органическим миром.

В наши дни генетика предстает наукой биохимической и физиологической, опирающейся на законы исторического развития организмов, она вооружена комплексными методами на базе химии, физики, математики и кибернетики. Генетика изучает законы воспроизведения живого и его сущность, служит практике сельского хозяйства и медицины, защите наследственности человека от повреждений, по-новому ставит вопрос использования биологических ресурсов Земли, исследует проблему «Человек и биосфера». Все это делает генетику ключевой наукой современной биологии.

Учебники по генетике, рассчитанные в основном на студентов биологических ВУЗов, очень объемны по оглавлению и содержанию.

Данное учебное пособие не включает разделы и главы:

– учение о клетке;

- мейоз и оплодотворение;
- митоз и трансплантацию органов;
- обоснование теории гена;
- аллелизм и генетика количественных признаков и многое другое.

На лабораторных работах студенты изучают законы Грегора Менделя по моногибридному и дигибридному скрещиванию, неполному доминированию, по наследованию признаков, сцеплённых с полом, множественные аллели и т. д. (Барабин, 2001).

На лекциях прорабатываются почти все программные вопросы, уделяя внимание следующим направлениям:

- молекулярные механизмы генетических рекомбинаций и конверсии генов;
- биохимическая генетика;
- теория мутаций, естественный и индуцированный мутагенез;
- радиационный мутагенез;
- генетика и эволюция;
- генетическая инженерия;
- методологические проблемы генетики;
- генетика человека и т. д.

Пособие посвящено, в основном одной из актуальнейшей проблем современности – достижениям биотехнологии – науки, возникшей на стыке нескольких биологических дисциплин: генетики, вирусологии, микробиологии, растениеводства, – и, по возможности, достаточно просто описывающей уникальные пути получения и использования результатов исследований в конкретной области.

Высшей точкой и стержнем новейшей биотехнологии являются генетическая трансформация, перенос чужеродных генов в клетки растений, животных и микроорганизмов, получение трансгенных организмов с усиленными или совершенно новыми свойствами и признаками.

В пособии уделено особое внимание самой крупной техногенной катастрофе, вызванной взрывом IV реактора на Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС).

Построение учебного пособия в самом начале кажется необычным. Уже в первой главе дается представление о структуре дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и рибонуклеиновой кислоты (РНК). Совершенно не освещаются изложенные в учебниках, хотя и явно недос-

таточных по объему и тиражированию источников. Исключены многие очень необходимые разделы, как например:

- цитологические основы бесполого и полового размножения;
- генетический анализ полигибридного скрещивания при взаимодействии генов;
- мутационная изменчивость и индуцированный мутационный процесс;
- цитоплазматическая наследственность;
- генетические процессы в популяции и основы селекции;
- наследственность и среда. Учение об исходном материале для эволюции и многие другие.

Далее в работе дано представление о генной инженерии, что позволило опираться на последние достижения в разработке проблем мутационного процесса. Подробно излагается генетическое значение жизненных циклов ряда объектов так как хотелось, чтобы пособие было полезно не только студентам, специализирующимся по генетике, но и биологам широкого профиля.

Особую благодарность за компьютерную подготовку материала и оформление иллюстраций к рисункам приношу учебному мастеру кафедры лесных культур и ландшафтного строительства АГТУ (сейчас САФУ) Людмиле Андреевне Байдиной.

Автор.

1. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ АУТОРЕПРОДУКЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА (ДНК)

Какое отношение имеет информация к трем буквам, передающимся по наследству, то есть к ДНК?

Более ста лет назад молодой швейцарский ученый Ф. Мишер сообщил, что он нашел в ядрах клеток гноя ранее неизвестные вещества, содержащие фосфор. Он назвал их нуклеинами (от латинского слова «нуклеус» – ядро). Мишер и не подозревал, что положил тем самым начало современной биологии. Впоследствии было выяснено, что нуклеиновые кислоты, как их теперь называют, входят в состав и остальных частей клетки, а не только ядра; но несмотря на это, название их менять не стали.

Оказалось, что нуклеиновые кислоты входят в состав буквально каждого живого организма, каждой его клетки. Их нашли и у животных, и у растений, и у микробов и даже у мельчайших существ – вирусов, видимых только в электронный микроскоп. Некоторые вирусы вообще не имели в своем составе ничего, кроме белка и нуклеиновой кислоты. Значит, догадались ученые, нуклеиновые кислоты должны иметь какое-то очень важное значение для протекания жизненных процессов. Но какое? Этого никто не мог сказать. Так назначение нуклеиновых кислот и оставалось загадкой. И в учебниках после описания химического состава этих соединений и некоторых их свойств обычно говорилось несколько неопределенно, что они играют важную биологическую роль.

Только перед самой войной, в 1941 г., советский ученый Б.В. Кедровский и шведский ученый Т. Касперсон высказали догадку, что нуклеиновые кислоты принимают участие в синтезе белка. Огромное количество опытов подтвердило предположение, высказанное Кедровским и Касперсоном. Нуклеиновые кислоты, действительно, принимают прямое участие в биохимическом синтезе белка. С их помощью в любом организме, ткани, клетке непрерывно образуется огромное ко-

личество самых разнообразных белков. И при этом – что очень важно – все время получаются точно такие же белки, какие существуют в данном организме. Точно в клетке работает какая-то машина, которая по одной и той же модели штампует одинаковые белки.

Природа имеет какой-то таинственный механизм, позволяющий передавать по наследству в тысячах и десятках тысяч поколений одни и те же свойства белков. Не очень давно был поставлен такой интересный опыт. Взяли египетскую мумию, пролежавшую в саркофаге около 5000 лет, выделили из нее белки и изучили их. Оказалось, что белки, существовавшие 5000 лет назад, ничем не отличаются от нынешних. Зерна ячменя и пшеницы, взятые из древних могил и имеющие возраст в несколько тысяч лет, при посеве всходили так же, как и современные ячмень и пшеница. Значит, белки этих древних зерен такие же, как современные.

Но не нужно удаляться вглубь веков. Ведь белки синтезируются очень быстро: достаточно нескольких минут для образования белка из аминокислот. И за время жизни организма, даже самого недолговечного, живущего несколько часов, белки, существующие в нем, успевают десятки, сотни и тысячи раз распасться и замениться новыми, «свежеприготовленными». И каждый раз организм образует белки, являющиеся точной копией существовавших, способные полностью их заменить.

Конечно, не надо думать, что никогда никаких перемен в организме и в производимых им белках не происходит. При естественной эволюции, а также при некоторых искусственных воздействиях начинают синтезироваться какие-то новые белки, меняется и облик животного и тип обмена веществ. Но в естественных условиях эти изменения, за редким исключением, происходят очень медленно. В случае искусственной изменчивости дело идет быстрее, но она явно вызывается внешней причиной.

Основываясь на этих фактах, ученые начали рассуждать примерно следующим образом. Если все время синтезируются одни и те же, хотя и очень разнообразные, белки, значит, существующий механизм или механизмы синтеза должны быть все время одни и те же. И так как в природе ничто не вечно, то этот механизм должен обладать замечательным свойством: он должен обладать способностью воспроизводить сам себя!

Химический анализ ДНК показал, что в её состав входят сахар, состоящий из пяти углеродных атомов, а не шести, в отличие от обычного, который мы едим. Эти пятиуглеродные сахара созданы природой как будто специально для нуклеиновых кислот, так как больше они почти нигде не встречаются. Кроме сахаров, в ДНК есть фосфорная кислота и, наконец, вещества, содержащие азот и обладающие основными свойствами – так называемые азотистые основания. Всего в ДНК четыре различных сорта азотистых оснований.

Но ДНК – высокомолекулярное соединение, и ее молекула состоит из огромного числа более мелких молекул сахара, фосфорной кислоты и азотистых оснований. Как же все они расположены в молекуле ДНК?

Оказалось, что в ДНК азотистое основание, сахар и фосфорная кислота всегда соединяются между собой так, что сахар находится посередине, а азотистое основание и фосфорная кислота – по краям. Такое соединение, вернее, промежуточная молекула, называется нуклеотидом. Так как ДНК содержит четыре азотистых основания, то, значит, должны существовать и четыре сорта нуклеотидов, отличающиеся друг от друга азотистым основанием (сахар и фосфорная кислота во всех нуклеотидах совершенно одинаковы). Эти четыре нуклеотида называются так: гуанозиновый, аденозиновый, тимидиновый и цитидиновый.

Состав и строение нуклеотидов были выяснены довольно давно. Но как расположены нуклеотиды в молекуле ДНК, никто не знал. Много ученых билось над разрешением этого вопроса. Были применены самые совершенные методы исследования, высказано много остроумных предположений... и все безрезультатно. Структура ДНК оставалась загадкой. Ни одна из предложенных моделей не могла объяснить все свойства этого соединения.

Помощь пришла неожиданно оттуда, откуда ее никто не ждал. И вопрос этот разрешили не биохимики, а совершенно «посторонние» люди. Вопросом строения ДНК занялись английский физик Ф. Крик, который до этого, во время войны, разрабатывал способы обнаружения немецких подводных лодок, и молодой американский ученый Дж.Д. Ватсон. Они собрали все имеющиеся сведения о строении ДНК, тщательно изучили их и в 1953 году предложили свою гипотезу о структуре ДНК. Она оказалась очень удачной и в настоящий момент является

общепризнанной. За это исследование Крик и Ватсон были в 1963 году удостоены Нобелевской премии (рис. 1).

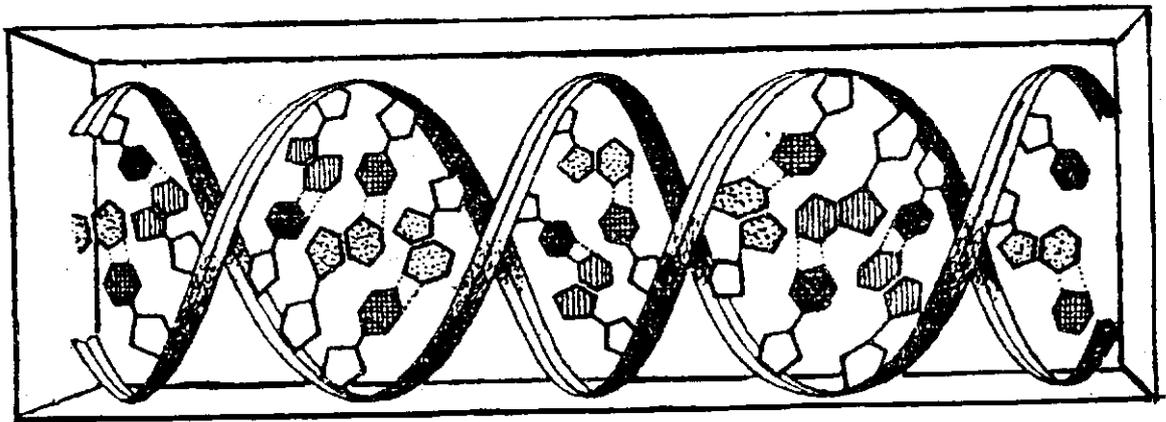


Рис. 1. Строение ДНК (модель):



Согласно гипотезе Крика и Ватсона, нуклеотиды в молекуле ДНК соединяются попарно друг с другом. Азотистое основание одного нуклеотида соединяется с азотистым основанием другого, а сахар и фосфорная кислота остаются снаружи. Эти пары накладываются друг на друга, и в результате образуется двойная спираль, похожая на винтовую лестницу. Это происходит потому, что каждая пара нуклеотидов несколько повернута относительно к другой. Молекулы фосфорной кислоты, находящиеся снаружи каждой пары, также связаны друг с другом. Вся молекула ДНК благодаря большому количеству связей между нуклеотидами представляет собой относительно жесткую структуру.

Азотистые основания бывают разных размеров, и всегда каждый «большой» нуклеотид соединяется с одним и тем же «маленьким». Два больших нуклеотида «не поместятся» между двумя спиральями, а для двух малых расстояние между спиральями будет слишком велико. Так, аденозиновый нуклеотид всегда соединяется с тимидиновым, а гуанозиновый – с цитидиновым.

В самое последнее время, впрочем, найдено, что в некоторых случаях двойная спираль ДНК представляет не подобие винтовой лестницы, как её изображают на тысячах рисунков, а замкнутое кольцо.

Если гипотеза Дж. Ватсона и Ф. Крика справедлива, то тогда количество «больших» нуклеотидов, входящих в состав ДНК, должно быть равно количеству «маленьких». Химический анализ, проведенный

советскими и американскими учеными, показал, что это действительно так.

Чем же тогда разные ДНК отличаются друг от друга? Одинаковы ли, скажем, ДНК крысы и ДНК микроба? Оказывается, нет. ДНК отличаются друг от друга количеством нуклеотидных пар, входящих в их состав. В одних случаях в составе ДНК преобладает аденозинотимидиновая пара, в других случаях гуанозин-цитидиновая пара. Говорят, что ДНК относится или к типу А-Т, или к типу Г-Ц. Например, ДНК человека принадлежит к типу А-Т, а ДНК микроба кишечной палочки к типу Г-Ц.

Подробнейшие исследования химического состава ДНК самых различных живых существ, проведенные главным образом в лаборатории советского ученого академика А.Н. Белозерского, показали, что каждый вид живых организмов имеет ДНК, отличную по химическому составу от ДНК другого вида. Каждый вид содержит свою, только ему присущую, как говорят, специфическую ДНК. Значит, нет никакой единой, универсальной ДНК, а существует множество дезоксирибонуклеиновых кислот. У них общий план строения, конфигурация молекул тоже одинакова. Но по химическому составу, то есть по содержанию нуклеотидных пар, они отличны друг от друга.

Но одинаковы ли две молекулы ДНК, имеющие одинаковый химический состав? Это не простой вопрос. Оказывается что ответить «да», как это ни удивительно, нельзя. Дело в том, что молекулы ДНК, так же как и белки, могут отличаться друг от друга не только составом, но еще и последовательностью расположения их элементов.

К сожалению, ученым еще не умеют определять, какова последовательность нуклеотидных пар в молекуле ДНК. Когда это им удастся, будет решена одна из важнейших загадок природы, раскрытие которой сулит человечеству, пожалуй, больше, чем открытие атомной энергии.

В состав молекулы ДНК входят тысячи нуклеотидов, поэтому она очень велика. Ее молекулярный вес может достигать до 100 миллионов! Конечно, эти цифры приблизительны. Дело в том, что нуклеиновые кислоты – нестойкие соединения. К тому же они обычно прочно связаны с белками, образуя нуклеопротеид. Поэтому выделить и очистить нуклеиновые кислоты очень трудно. Эта задача окончательно не решена и в настоящее время.

Обычно выделение и очистка нуклеиновых кислот ведется в специальных холодных комнатах при температуре 0–2 градуса. Однако, несмотря на эти меры предосторожности, нельзя избежать частичного разрушения молекул. Поэтому до сих пор неизвестен истинный молекулярный вес нуклеиновой кислоты, находящейся в живом организме, до ее выделения. Природа ревниво хранит свои тайны.

Эксперименты показали, что можно, оказывается, «сплавить», соединить кусочки цепей ДНК, принадлежащих самым разным животным, – например, участки ДНК человека с участками ДНК коровы и даже микробов. Очевидно, решили экспериментаторы, что чем дальше друг от друга по биологической лестнице отстоят живые существа, тем больше будет разница в составе их ДНК и тем меньше куски ДНК, комплементарные друг к другу, а, следовательно, и способные к «сплавлению». Наоборот, чем ближе живые существа друг к другу, тем более похожи их ДНК, тем большие их куски будут соединяться друг с другом.

Но тогда по величине сплавляющихся участков ДНК, принадлежащих разным живым существам, можно судить об их близости или удаленности друг от друга на биологической лестнице?

Трудно сказать в настоящее время, насколько эта теория справедлива и существует ли действительно столь прямая зависимость между величиной сплавляемых кусков ДНК и степенью «родства» живых существ.

Очень легко представить себе, как же синтезируется (или, пожалуй, правильней сказать, размножается) ДНК в организме. Ведь нужно, чтобы каждая вновь образованная молекула ДНК была точной копией уже существующей. Если этого не произойдет, то начнется страшная путаница: клетки глаза станут расти в кишках, или волосы во рту, а может быть, клетки совсем не будут образовываться, если новая ДНК окажется нежизнеспособной, или, наоборот, клетки начнут расти неудержимо, как это бывает при опухолевом росте. На самом деле такой путаницы почти не наблюдается. В чем же дело, почему ДНК при размножении образует точные копии самой себя?

Этот вопрос разрешил американский биохимик А. Корнберг, служивший во время войны врачом в военно-морском флоте США. За свое открытие Корнберг получил Нобелевскую премию. Что же сделал этот ученый? Он нашел фермент, с помощью которого ДНК размножается.

Оказывается, для того, чтобы удвоиться, молекула ДНК должна предварительно распасться на две половинки, состоящие каждая из одной спирали. Затем каждая половинка достраивает себе подобную, или, как мы говорили, комплементарную. Для этого она с помощью фермента открытого Корнбергом; «вылавливает», из окружающей среды нужные нуклеотиды. Так из каждой половинки молекулы ДНК нарастает другая и в конце концов образуются две новые молекулы ДНК. Не правда ли – просто и мудро (рис. 2)!

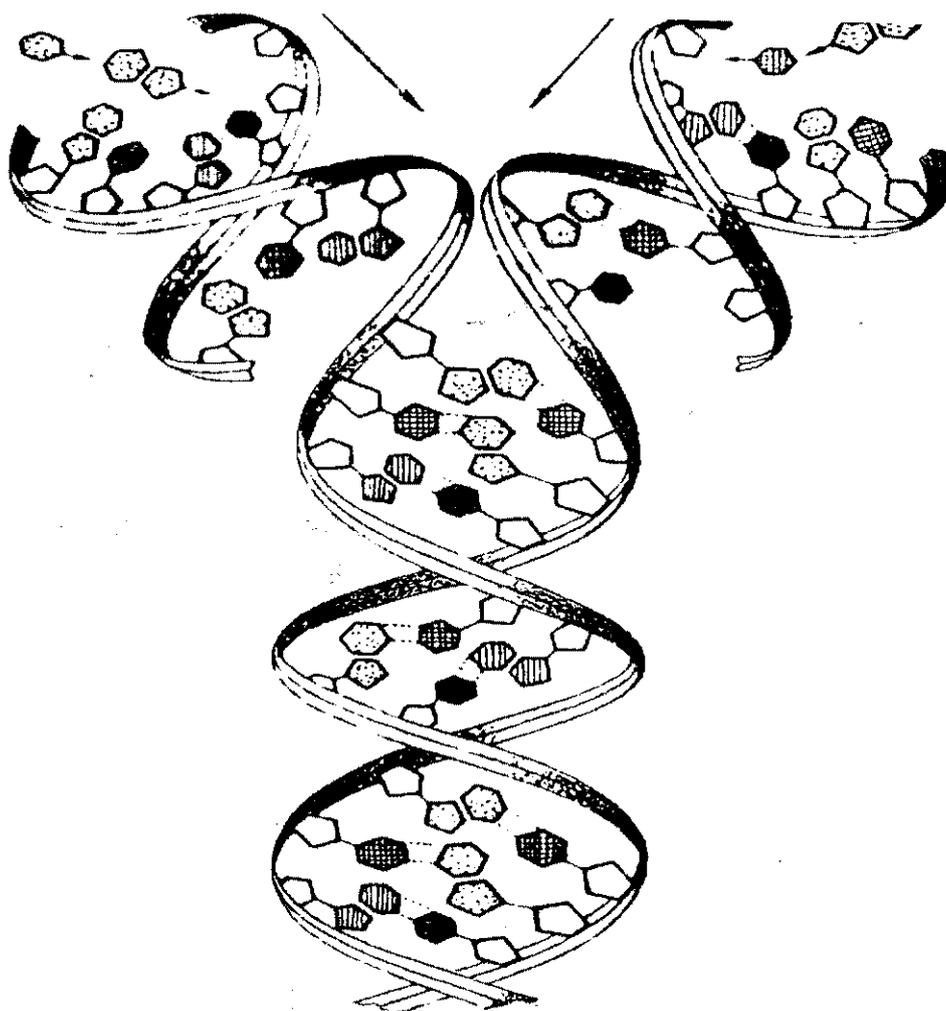


Рис. 2. Размножение ДНК:

 – аденин;
  – гуанин;
  – тимин;
  – цитозин

Такой синтез Корнберг осуществил в пробирке. Он взял ДНК, нагрел ее, чтобы она разошлась на половинки, добавляя фермент и «сырье», то есть нуклеотиды, из которых ДНК состоит, – и... количество ДНК в пробирке стало резко возрастать. Тайнственное и непонятное ранее вещество наследственности оказалось возможным синтезировать в пробирке!

Итак, строение ДНК – ее двухспиральная структура и комплементарность пар – и обуславливает ее чудесные свойства – самовоспроизводство с точным копированием самой себя. Это самовоспроизводство, или, как говорят, редупликация, осуществляется с помощью фермента.

Все исследования: открытие строения ДНК, принципа комплементарности, изучение самовоспроизводства ДНК и его матричного механизма, когда молекула ДНК является как бы шаблоном, по образцу и подобию которого возникает теоретически сколь угодно большое количество других молекул ДНК, – все это составило крупнейшее достижение мировой науки последних лет.

Этот научный прорыв, осуществленный армией ученых самых разных специальностей, совершил революцию в биологии. Новые данные перевернули наши взгляды на целый ряд биологических процессов и превратили биологию в науку, познающую механизмы интимнейших процессов жизни.

Если ДНК представляет собой вещество наследственности, то что же делает в клетке РНК? Видимо, она зачем-то нужна, раз уж всегда встречается вместе с ДНК.

Все данные говорили о том, что хотя ДНК и является наследственным веществом, непосредственного участия в синтезе белка она не принимает. Может быть, здесь играет роль РНК? Но прежде чем ответить на этот вопрос, познакомимся поближе с этой второй нуклеиновой кислотой.

Как показали анализы, в РНК входят почти такие же составные части, как и в ДНК: фосфорная кислота, азотистые основания в сахар. Фосфорная кислота и у ДНК и у РНК совершенно одинакова. Сахар РНК, хотя он так же, как и сахар ДНК, содержит пять атомов углерода, несколько отличается от сахара ДНК. Оказывается, он имеет меньше водорода – правда, всего на один атом. Что касается азотистых оснований, то три из четырех оснований, входящих в РНК, точно такие же, как и у ДНК, а четвертое основание другое.

Таким образом, на четырех возможных нуклеотидов РНК (каждый из которых, как вы помните, состоит из фосфорной кислоты, сахара и азотистого основания) три отличаются от соответствующих нуклеотидов ДНК только тем, что имеют в своем сахаре меньше водорода. А вот четвертый нуклеотид РНК другой, так как в него входит другое

азотистое основание: вместо тимидинового нуклеотида, присущего ДНК, – уридиновый. Вот и все различие между ними.

Только недавно эту задачу удалось решить. И здесь пришел на помощь уголь. Вернее, не сам уголь, а продукты его перегонки.

При перегонке угля получается много всевозможных органических соединений. И вот одно них – фенол, как выяснилось, очень быстро отделяет РНКазу от РНК, а также несколько тормозит действие РНКазы, не влияя на РНК. С помощью фенола и удалось извлечь из ткани организма почти неповрежденную РНК. Правда, и в этом случае РНК оказалась очень нестойкой: даже на холоде она не может храниться больше нескольких дней. Но это было уже неважно (рис 3).

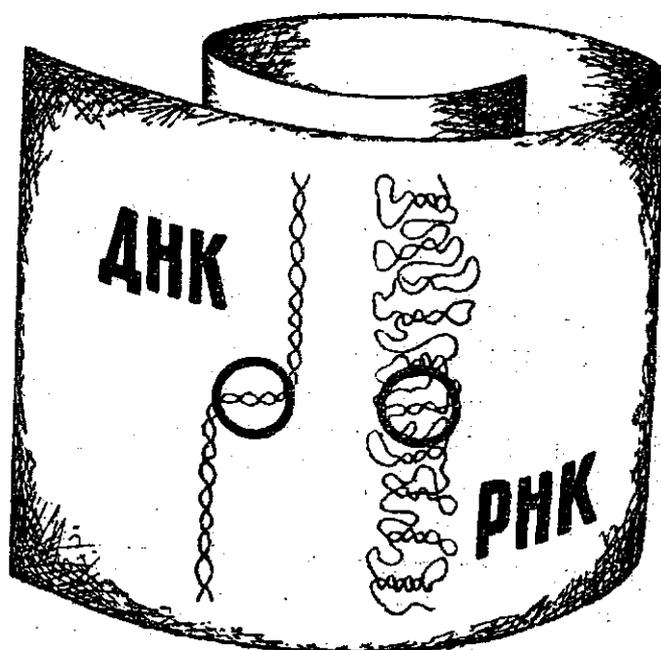


Рис. 3. Соединение двойной цепи с помощью колец и крючков

За последние годы удалось провести необходимые исследования. И вот только в 1959-1960 годах, благодаря работам молодого советского ученого А.С. Спирина и американского исследователя П. Доти, структура рибонуклеиновой кислоты, наконец, оказалась расшифрованной.

В противоположность ДНК, которая имеет, как вы знаете, двухспиральную структуру, РНК состоит из одной цепи. Но эта цепь образует петли или складки, и некоторые ее участки по структуре напоминают ДНК.

Как же это происходит? Вернемся к нашему примеру с кольцами и крючками. Если одна часть цепочки состоит из колец, а другая – из крючков, то, сложив ее так, чтобы крючки подошли к кольцам, мы кое-где получим двойную цепь, соединенную с помощью колец и крючков. Нечто подобное происходит и с РНК. Часть ее цепи содержит «кольца» – адениновый и гуаниновый нуклеотиды, а другая часть – «крючки» – уридиновый и цитидиновый нуклеотиды. Эти участки одной и той же цепи РНК комплементарны, или дополнительные, друг к другу, и при их сложении нуклеотиды свяжутся друг с другом и образуют двухцепочечные участки.

1.1. Назад к клетке

Из чего, в свою очередь, состоит и как устроены основные компоненты клетки, полученные с помощью ультрацентрифугирования? Для того, чтобы подробно рассказать об этом, пришлось бы написать целую специальную книгу о клетке и ее составных частях. Поэтому только отметим, что ядро само устроено очень сложно: оно содержит ядрышко, хромосомы, появляющиеся в ядре при делении клетки, те же рибосомы и гиалоплазму.

Но все эти составные части построены из нуклеиновых кислот и белка. Ядро «заведует» в клетке делением, то есть размножением клетки. А ДНК, содержащаяся в клетке, несет информацию, которая в той или иной мере обуславливает протекание всех клеточных процессов. У микробных клеток нет ядер, ядерное вещество у них более или менее равномерно распределено в цитоплазме. Но ДНК, из которой состоит это ядерное вещество, выполняет в общем те же функции, что и в «ядерной» клетке.

Митохондрии также оказались частицами достаточно сложными. Это длинные мешочки, внутри которых много перегородок, не достигающих до противоположной стенки и поэтому не изолирующих одно отделение от другого. Внутри каждого отделения находятся частицы, весьма похожие на рибосомы (до сих пор ученые никак не могут решить, рибосомы ли это), или полужидкий сок. Стенки и перегородки митохондрии состоят из четырех слоев молекул: два внешних слоя – из белка, два внутренних – из жира. Сок же и мелкие частицы состоят из белка и нуклеиновых кислот.

В митохондриях концентрируется большое количество клеточных ферментов. Это и понятно: ведь именно они снабжают клетку энергией, необходимой для жизни. Именно в митохондриях протекают сложные цепи химических реакций, катализируемых многими десятками ферментов. В результате здесь синтезируются богатые энергией вещества, расходящиеся затем по всей клетке и передающие, таким образом, в каждый уголок клетки содержащуюся в них энергию. Эти вещества, распадаясь, отдают свою энергию, которая поддерживает необходимые клетке биохимические реакции.

Самые маленькие клеточные образования – рибосомы, или нуклеопротеидные частицы, открытые американским ученым Т.Е. Палладом в 1953 году. По внешнему виду они похожи на яйцо и устроены сравнительно просто. Как показал химический анализ, рибосома состоит всего лишь из двух компонентов – РНК и белка. Но где находится в ней белок, а где РНК, в настоящее время точно неизвестно: уж очень малы эти частицы, чтобы можно было рассмотреть даже в электронный микроскоп их устройство. На основании косвенных данных ученые полагают, что белок хотя и находится на поверхности рибосомы, но не полностью покрывает скрученную РНК, находящуюся в середине. Рибосомы обладают удивительным свойством распадаться на более мелкие частицы и собираться в более крупные.

И вот эти мелкие и относительно просто устроенные частицы оказались едва ли не самыми важными в клетке. Именно здесь – в них или на них – происходит синтез белка!

В оставшейся после осаждения рибосом гиалоплазме тоже содержатся ферменты и РНК. Но молекулы РНК, содержащиеся в рибосомах, раз в пятьдесят больше молекул РНК, находящихся в растворе. Поэтому РНК, содержащуюся в рибосомах, мы будем называть большой РНК, а РНК, находящуюся в гиалоплазме, – малой РНК. Они несколько отличны друг от друга также и по составу и строению.

Переведем теперь описанную только что картину на биохимический язык. Строительные детали – это аминокислоты, а грузовики – это малая РНК. Она-то и занимается тем, что «подвозит» аминокислоты к месту синтеза белка. Но для того, чтобы подвезти аминокислоты, РНК должна «погрузить» их на себя, или, говоря химическим языком, соединиться с ними. Это соединение не происходит самопроизвольно. Для того, чтобы аминокислота смогла соединиться с РНК, она должна

приобрести определенную энергию, которую сообщает ей особое богатое энергией вещество – та самая АТФ (аденозинтрифосфорная кислота). Она находится в большом количестве в клетке и синтезируется митохондриями. Это соединение аминокислоты с АТФ осуществляется при помощи специального фермента. АТФ и фермент здесь играют роль «подъемного крана». Теперь богатая энергией аминокислота уже может соединиться с РНК, то есть может быть «погружена на грузовик».

Так как в состав белка входит 20 сортов аминокислот, то и существует 20 видов малой РНК, несколько отличающихся друг от друга по составу – для каждой аминокислоты своя РНК, – и 20 ферментов. Каждый фермент обслуживает свои «грузовики» – свой сорт РНК, он соединяет только одну, вполне определенную аминокислоту со своим видом РНК. Таким образом, происходит первоначальный отбор нужных «деталей» для строительства здания белка.

Но вот грузовики-молекулы малой РНК нагружены аминокислотами и устремляются к стене-рибосоме. Здесь для каждого грузовика – для каждой РНК приготовлено свое определенное место. Для того, чтобы малая РНК смогла присоединиться к нужному участку большой РНК рибосомы, нужно, чтобы нуклеотиды малой РНК соответствовали нуклеотидам рибосомной РНК. Если этого соответствия нет, то малая РНК не сможет зацепиться за рибосомную РНК.

Значит, определенная последовательность нуклеотидов в цепи большой РНК предопределяет, какая малая РНК, «нагруженная» аминокислотой, на какой участок цепи рибосомной РНК может сесть. А так как малые РНК несут на себе аминокислоты, то порядок, в котором они выстроятся вдоль большой РНК, и будет порядком расположения аминокислот в строящейся молекуле белка. Таким простым и остроумным способом находящаяся в большой РНК информация о том, какой белок должен синтезироваться, передается через малую РНК на синтезирующуюся цепь белка.

Малая РНК, «выгрузив» аминокислоту, встающую в полипептидную цепь, отправляется за новой аминокислотой, вновь отыскивает свое место на рибосомной РНК, вновь отдает аминокислоту, которая тоже входит в образующуюся пептидную цепь, и опять все начинается сначала.

Вот как представил себе Хогленд механизм синтеза белка.

Конечно, мы описали все весьма приблизительно, упрощая и упуская ряд деталей. Далеко не всё здесь ясно ещё и ученым. Например, мы пока не знаем, какова же на самом деле функция той самой большой, рибосомальной РНК, которой Хогленд придавал такое большое значение, считая её носителем информации в ходе синтеза. Ее присутствие в рибосомах не подвергается сомнению, но роль ее в процессе белкового синтеза остается еще полной загадкой.

Теперь не нужно большой фантазии, чтобы предсказать, что в недалеком будущем ученые смогут синтезировать необходимые им белки «по заказу». Для этого нужно только добавить к рибосомам, синтезирующим белок, информационную нуклеиновую кислоту с нужным кодом. Это открывает пути вмешательства в самые интимные механизмы клеток. Вероятно, удастся изменять в желаемую сторону наследственность организмов, что имеет большое значение для сельского хозяйства, то есть излечивать многие заболевания, вызываемые вирусами.

Не следует думать, что все это произойдет завтра. Науке предстоит еще большой путь к овладению тайнами природы, и сделанные в биохимии открытия – только ступеньки (правда, весьма существенные) в процессе познания жизни. Но и эти открытия вселяют надежды на то, что человечество получит возможность управлять живой природой, так же как оно в значительной мере научилось управлять природой мертвой.

В заключение хочется сказать несколько слов о том, как на научный прогресс оказала большое влияние одна ошибка. Помните, мы говорили о сравнительных анализах ДНК и большой рибосомальной РНК, которые привели ученых к выводу о том, что эта РНК не синтезируется на ДНК как на матрице? Вывод был сделан потому, что состав рибосомальной РНК явно не соответствовал составу ДНК. На этом основании и было высказано предположение о существовании информационной РНК, которое блестяще подтвердилось.

Однако, к величайшему конфузу исследователей, вскоре выяснилось, что само заключение о несоответствии между рибосомальной РНК и ДНК ошибочно. Не подумайте плохого – все анализы оказались правильными, и, действительно, суммарный состав ДНК отличается от состава рибосомальной РНК. Но когда был применен более тонкий метод анализа, оказалось, что очень небольшая часть молекул ДНК соот-

ветствует по составу РНК, а, значит, и рибосомальная РНК синтезируется на ДНК и получает от неё информацию. Более того, аналогичные опыты с малой, цитоплазматической РНК дали те же результаты: оказалось, что и она синтезируется на ДНК. Ошибка произошла потому, что анализировалась вся ДНК, которая и в самом деле по суммарному составу отличается от рибосомальной РНК и соответствует информационной РНК. Поэтому состав очень малой части ДНК, сходной с рибосомальной РНК, маскировался и не мог быть уловлен.

1.2. Репликация нуклеиновых кислот

Модель структуры ДНК, предложенная в 1953 год Дж. Уотсоном и Ф. Криком, давала объяснение кодированию генетической информации, мутационной изменчивости и воспроизведению генов, которые, согласно этой гипотезе, представляют собой участки молекулы ДНК. Схема репликации показана на рис. 4.

В 1957 году М. Мезельсон и Ф. Сталь подтвердили представление Дж. Уотсона и Ф. Крика о полуконсервативном механизме воспроизведения (репликации) ДНК в клетках бактерий. Ещё до этого Г. Стент предложил рассматривать три варианта репликации ДНК:

- консервативный, при котором новые молекулы не содержат материала родительской ДНК;
- полуконсервативный, при котором новая молекула представлена одной родительской и одной вновь синтезированной цепями;
- дисперсный, когда материал исходной молекулы случайно распределяется по обеим дочерним молекулам.

Эксперимент М. Мезельсона и Ф. Сталя позволил сделать выбор между этими тремя вариантами и доказать, что репликация нуклеиновых кислот идет по полуконсервативному типу.

Было установлено также, что синтез новых нитей ДНК протекает всегда в направлении от 5 атома углерода сахара к 3 атому. Учитывая, что две составляющие молекулу ДНК нити антипараллельны, синтез новых нитей на освободившихся одиночных нитях материнской молекулы идет в противоположные стороны.

Однако эта логически стройная модель репликации ДНК требовала уточнений, так как не все детали процесса были ясны. В первую очередь эта схема плохо согласовывалась с данными, показывающими, что ДНК реплицируется очень быстро. Так, в результате наблюдений было

установлено, что, например, ДНК фага Т4 синтезируется (рис. 4) со скоростью около 900 нуклеотидов в секунду. Еще быстрее реплицируется ДНК кишечной палочки. При благоприятных условиях эта бактерия

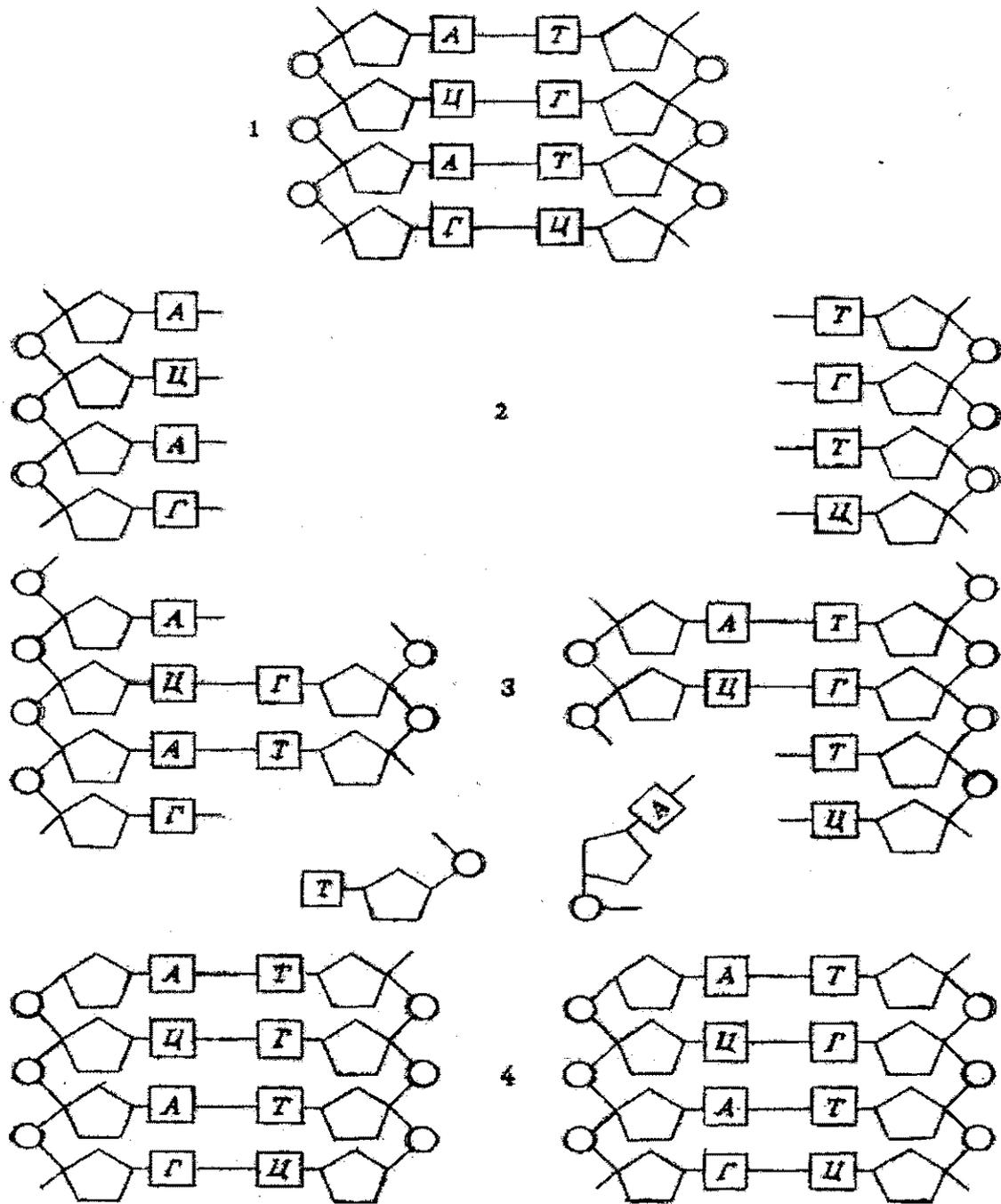


Рис. 4. Удвоение ДНК: 1 – двуцепочная молекула; 2 – возникновение одноцепочечных матриц; 3 – присоединение свободных нуклеотидов; 4 – две дочерние молекулы ДНК. Буквы обозначают основания

делится каждые 20 минут. За это время вся молекула ДНК, образующая хромосому бактерии, должна расплестись и на двух ее нитях, служащих матрицами, должны синтезироваться новые нити.

2. БИОТЕХНОЛОГИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Важной составной частью биотехнологии является генетическая инженерия. Родившись в начале 70-х г., она добилась сегодня больших успехов. Один за другим возникают заводы и отраслевые институты, которые, благодаря использованию технологии рекомбинантных ДНК, производят ценные фармацевтические препараты, вакцины, другие биологически активные вещества. Генная инженерия позволяет уже сегодня диагностировать, а в недалеком будущем – лечить наследственные болезни. Борьба с раком, поиски возможностей лечения СПИДа – все это немыслимо без использования методов генетической инженерии.

Применение достижений генетической инженерии в сельском хозяйстве практически уже начато и сулит особенно крупные успехи. Это производство пищевого и кормового белка, утилизация веществ, вредных для окружающей среды, создание технологий безотходного производства, получение биогаза, выведение высокопродуктивных пород животных, новых сортов растений, устойчивых к болезням, гербицидам, насекомым, стрессовым воздействиям и т. д. Сейчас даже трудно предсказать все возможности, которые будут реализованы в ближайшие несколько десятков лет.

Сегодня биотехнология стремительно выдвигается на передний край научно-технического прогресса. Этому способствуют два обстоятельства:

– с одной стороны, бурное развитие современной молекулярной биологии и генетики, опирающихся на достижения химии и физики, позволило использовать потенциал живых организмов в интересах хозяйственной деятельности человека;

– другой стороны, мы наблюдаем острую практическую потребность в новых технологиях, призванных ликвидировать нехватку продовольствия, энергии, минеральных ресурсов, улучшить состояние здравоохранения и охраны окружающей среды. Биотехнология уже вносит немалую лепту и, вероятно, в будущем внесет решающий вклад в решение этих глобальных проблем человечества.

Как наука биотехнология молода. Поток информации, касающейся биотехнологических проблем, противоречив или доступен лишь узким специалистам.

В середине 1960 г.г. многие пророчили возникновение «новой биологии», развитие прикладных областей которой существенно изменили бы процедуры получения целого ряда химических и фармацевтических средств. Эта «революция» стала реальностью благодаря многочисленным открытиям последующего десятилетия в биохимии, генетике, в биологии клетки и молекулярной биологии. Столь смелые надежды основывались в первую очередь на установлении структуры и функции определенных ферментов, их использовании в иммобилизованной форме – прежде всего микробиологами и энзимологами – в разнообразных производственных процессах, а также на том, что специалисты в области молекулярной генетики открыли способ модификации ДНК и перенесения её из одних организмов в другие. В самом деле, благодаря стремительному прогрессу вирусологии (в исследованиях бактериофагов), бактериологии (в углубленном изучении физиологии, генетики и молекулярной биологии кишечной палочки), а также в изучении плазмид, молекулярной генетики (в установлении генетического кода) и энзимологии (в открытии ферментов рестрикции) были накоплены знания и разработаны методы генной инженерии.

Биология, как и физика, вышла в ряд немногих приоритетов в мировой науке и экономике. Всеобщее признание такой роли она получила в 1953 г после выдающегося открытия Уотсона и Крика о пространственной структуре двойной спирали ДНК. Рождение нового направления в биотехнологии – генетической инженерии, которое условно можно отнести к 1972 г. (синтезирование в лаборатории Бэрга первой рекомбинантной молекулы ДНК), – окончательно закрепило за биотехнологией важное место в биологии. Работы выдающихся биологов (Баев, Белозерский, Эйвери, Гамов, Корана, Жакоб, Моно, Беквист, Овчинников, Спи-

рин, Петров и др.) пополнили последовательный ряд важнейших открытий по идентификации, выделению молекул ДНК из растительных, микробиологических и животных клеток, расшифровке генетического кода и механизмов экспрессии генов у прокариот.

В 50-е г.г. прошлого века возникает еще одно важное направление современной биологии – клеточная инженерия и клеточная биотехнология. Её создателями являются Ф. Уайт (США) и Р. Готре (Франция).

Генетическая и клеточная инженерия определили ядро современной биотехнологии, методы которой получили в 80-е г.г. широкое признание во многих областях науки и производства во всем мире.

В традиционном, классическом понимании биотехнология – это наука о методах и технологиях производства различных веществ и продуктов с использованием природных биологических объектов и процессов (хлебопечение, квашение, виноделие и др.).

Высшей точкой и стержнем новейшей биотехнологии являются генетическая трансформация, перенос чужеродных генов в клетки растений, животных и микроорганизмов, получение трансгенных организмов с усиленными или новыми свойствами и признаками. По своим целям и возможностям в перспективе это направление является стратегическим. Уже сегодня во многих лабораториях мира, в том числе в России, с помощью методов генетической инженерии созданы принципиально новые трансгенные растения и животные.

Клеточная биотехнология, основанная на способности клеток и тканей к регенерации и продуцированию важнейших продуктов вторичного синтеза, обеспечила ускоренное получение ценных форм и линий растений: размножение ценных генотипов, оздоровление растений от вирусов, получение ценных биологических препаратов пищевого, кормового и медицинского направления. В этой области также возникло много трудностей, главными из которых являются: повышение частоты регенерации и нормального онтогенеза, расширение спектра и силы соматональных вариаций, усиление экспрессии генов, контролирующих важнейшие признаки и вторичный метаболизм веществ.

Наибольших результатов в области сельскохозяйственной биотехнологии достигли научные учреждения ветеринарного и микробиологического профиля, разработавшие методы и технологии

получения новых ветеринарных препаратов профилактического и терапевтического действия, а также штаммы микроорганизмов на генно-инженерной основе.

Развитие исследований и практическое их использование в России отстают от мирового уровня, особенно в области генетической инженерии. Усиление контактов с международными биотехнологическими центрами и научными учреждениями развитых и развивающихся стран – США, Великобритании, Франции, Германии, Японии, Италии, Индии, Китая и других, а также усиление государственной поддержки этих исследований в стране позволит в ближайшем будущем устранить этот разрыв и выйти на мировой уровень. По клеточной биотехнологии отечественный уровень исследований уже сегодня не уступает мировому, а по ряду важных направлений и превосходит его.

Стремительное развитие событий – характерная черта прошлого столетия. В полной мере это относится и к темпам научного прогресса. На глазах одного поколения наука породила две совершенно новые технологии, радикально изменившие мир, в котором мы живем. Это – ядерная технология и электроника. Тем не менее поразительна скорость, с которой входит в нашу жизнь третья технология XXI века – биотехнология – основа третьей революции в биологии, которая происходит уже сейчас и достигнет своего апогея в третьем тысячелетии.

3. КЛОНИРОВАНИЕ ФРАГМЕНТОВ ДНК – ОСНОВА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Что же представляет собой генетическая инженерия? Академик А.А. Баев определяет генетическую инженерию как «Конструирование *in vitro* функционально активных генетических структур (рекомбинантных ДНК), или иначе – создание искусственных генетических программ». Несколько иное определение дает профессор Э.С. Пирузян. «Генетическую инженерию составляет система экспериментальных приемов, позволяющих конструировать лабораторным путем искусственные генетические структуры в виде так называемых рекомбинантных (гибридных) молекул ДНК». По сути, эти определения не отличаются друг от друга. Речь идет о направленном, по заранее заданной программе конструировании молекулярных генетических систем вне организма с последующим введением их в живой организм. При этом рекомбинантные ДНК становятся составной частью генетического аппарата реципиентного организма и сообщают ему новые уникальные генетические, а следовательно, и биохимические, а затем и физиологические свойства. Цель прикладной генетической инженерии заключается в конструировании таких рекомбинантных молекул ДНК, которые при внедрении в генетический аппарат придавали бы организму свойства, полезные для человека.

Для решения такой задачи необходимо создать методики, позволяющие вырезать из молекул ДНК желаемые фрагменты, модифицировать их должным образом, реконструировать в одно целое и, наконец, размножить в большом числе копий (клонировать). Особенно впечатляет то, что, используя такие рекомбинантные ДНК, можно синтезировать молекулы РНК, а затем молекулы белка нужного размера и конфигурации, т. е. добиться выражения – экспрессии гена, перемещенного из одного генетического окружения в другое.

Все эти процедуры стали возможны благодаря становлению технологии рекомбинантных ДНК, где главный экспериментальный прием заключается в клонировании генов. Именно клонирование, более чем какой-либо другой фактор, изменило весь облик биологии. Возникновение генетической инженерии связано прежде всего с развитием молекулярной биологии. Исследования, проведенные в этой области за последние 35 лет, позволили перейти от описания структуры и функции клеток на уровне клеток, которые перенесут новые свойства потомкам. У растений и животных целесообразно изменять такие свойства, как скорость роста, устойчивость к заболеваниям, способность адаптироваться к новым внешним условиям.

Разработаны способы введения генов в эмбриональные клетки млекопитающих, мух и некоторых растений. От работы с довольно крупными яйцами амфибий перешли к изучению яйцеклеток и эмбрионов мыши, которая представляет наиболее изученное в генетическом отношении млекопитающее. Микроинъекцию клонированных генов производят в один или оба пронуклеуса только что оплодотворенной яйцеклетки мыши. Чаще выбирают мужской пронуклеус, так как его размеры больше. После инъекции яйцеклетку немедленно имплантируют в яйцевод приемной матери или дают возможность развиваться в культуре до стадии бластоцисты, после чего имплантируют в матку.

Таким образом, были инъецированы гены интерферона и инсулина человека, ген глобина кролика, ген тимидинкиназы вируса простого герпеса и к ДНК вируса лейкемии мышей. Число молекул, вводимое за одну инъекцию, колеблется от 100 до 300000. Выживает обычно 10...30% яйцеклеток, а доля мышей, родившихся из трансформированных яйцеклеток, варьирует от нескольких до 40%. Таким образом, реальная эффективность, составляет около 10%.

Сегодня метод введения генов в эмбриональные клетки имеет ограничения. Не всегда удается встроить чужеродную ДНК в заданный участок хромосомы. Разработанные методические приемы пока не позволяют заменить имеющийся в геноме ген, вытесняя его. Не всегда удается подчинить новый ген системе регуляции организма. Преодолев эти трудности, можно будет серьезно говорить о генотера-

пии человека, цель которой – лечение 2000 генетических заболеваний, вызванных отсутствием или дефектами генов.

3.1. К л о н и р о в а н и е ж и в о т н ы х

Под клоном обычно подразумевается популяция клеток или организмов – потомков одной клетки, или организмов, полученных половым путем. Таким образом, все особи в клоне идентичный набор генов. Молекулярные биологи обычно имеют дело с клонами бактерий или других микроорганизмов, клетками культуры тканей, а последнее время – и с клонами молекул ДНК.

Однако садоводы и селекционеры, размножающие растения вегетативным путем, получают клоны высших организмов. У многих дикорастущих видов растений вегетативное размножение играет бо'льшую роль, чем половое. Высшие животные в природе размножаются только половым путем. Для клонирования животных необходимо заменять ядро оплодотворенной яйцеклетки ядром, взятым от другой особи. Собственно ядро удаляется или инактивируется хирургически. Оказалось, что тотипотентность (возможность развиваться во взрослую особь) сохраняют ядра из клеток очень ранних эмбрионов. По мере развития и дифференцировки донорных клеток их ядра утрачивают способность заменять ядро оплодотворенной яйцеклетки.

В 1952 г. удалось впервые пересадить ядра из яйцеклеток лягушек. Практический интерес представляет размножение бесполом способом млекопитающих. Для этого необходимо взять от беременных самок ядра тотипотентных клеток эмбрионов. Сначала получают бластоцисты и из них с помощью микропипетки удаляют ядра и вводят в оплодотворенные клетки других мышей. Затем удаляют геном (т. е. мужской и женский пронуклеусы) яйцеклетки-реципиента. Полученные в результате трансплантации эмбрионы культивируют до стадии бластоцисты и имплантируют в клетки приемных матерей. Выполнение такой программы на млекопитающих сталкивается с множеством технических проблем, поскольку работать с их яйцеклетками сложно. В 1981 г. была описана серия таких экспериментов на мышах, но ее результаты пока не получили незави-

симого подтверждения. Только когда эффективность и воспроизводимость данного метода удастся повысить, его можно будет использовать в селекции животных и экспериментах по изучению механизмов индивидуального развития млекопитающих.

3.2. Клонирование растений

Какие же гены нужно клонировать и вводить в растения, чтобы их улучшить? Наиболее целесообразно приобретение следующих признаков: устойчивость к холоду, засухе, повышенной засоленности почвы, т.е. к стрессовым воздействиям внешней среды, также полезна устойчивость к вредителям, гербицидам, пестицидам, резистентность к болезням, скороспелость и другие. Определение и выделение генов, ответственных за эти признаки, – задача чрезвычайно трудная. Дело осложняется еще и тем, что геном растений изучен хуже, чем геном млекопитающих.

Другая проблема связана с введением и адекватной экспрессией генов. Здесь основная задача – создать векторные молекулы и разработать метод прямого переноса генов. Необходимо также решить проблему отбора трансформированных клеток и обеспечение стабильного наследования приобретенного признака. Решение этих задач существенно облегчается в связи с обнаружением природного генного вектора, возникшего в результате эволюции почвенных бактерий.

Наконец, третья проблема касается регенерации трансформированных клеток или протопластов в целое фертильное растение. Дело в том, что регенерацию получили для двудольных растений. Только для некоторых хозяйственно полезных растений удалось наладить методический цикл от протопласта до растения. Это картофель, люцерна, томаты, морковь, табак, капуста и др. Что же касается злаков, то регенерацию их клеток пока надежно осуществить не удалось.

Попытки культивировать изолированные от растений ткани делались давно. Они связаны с именами Фехтинга, Рехингера, Габерландта. В 1922 г. независимо друг от друга Роббинс и Котте продемонстрировали возможность выращивания меристемы кончика

корня кукурузы и гороха на искусственной питательной среде. Но подлинное развитие метода культуры тканей растений началось с 1932 г. и связано с именами французского исследователя Р. Готре и американского – Ф. Уайта. Они не только успешно культивировали изолированные корни, но и показали, что последние могут расти в культуре неограниченно долго, если их кончики через определенные промежутки времени пересаживать на свежую питательную среду.

В дальнейшем Р. Готре разработал методику культивирования запасющих тканей корнеплода моркови камбиального и паренхимного происхождения и получил каллусную ткань.

Уайт посвятил свои исследования культуре растительных опухолей. Эти работы были продолжены его учеником Брауном. Исследователи искали сходство между растительными и животными опухолями, чтобы использовать первые для изучения общебиологических основ опухолеобразования. Они также пытались выяснить механизмы, лежащие в основе перехода каллусных клеток к автономному росту.

После появления работ Р. Готре и Ф. Уайта метод культуры изолированных тканей растений начал быстро развиваться во многих странах. Вводили в культуру все новые и новые виды растений.

В 1955 г. Скуг и Миллер, изучая рост каллуса сердцевинной паренхимы табака, открыли новый класс фитогормонов – цитокининов. Путем щелочного гидролиза ДНК животного происхождения они получили кинетин, который оказался способным вместе с ауксином (ИУК) стимулировать деление клеток кусочка ткани сердцевинной паренхимы и камбия табака. На среде с ИУК без кинетина клетки не делились. В дальнейшем различные концентрации и соотношения цитокининов и ауксинов стали использовать для каллусогенеза и индукции морфогенеза в каллусной ткани.

В 1957 г. был впервые индуцирован морфогенез в культуре каллусной ткани моркови и получены растения-регенеранты. Успех был достигнут благодаря работам Бутенко и Стэварда.

В 1959 г. Никелл и Тулик разработали метод выделения и выращивания больших масс клеточных суспензий, а вслед за этим

был разработан метод культивирования отдельной клетки с помощью ткани-няньки (Джонсон, 1960; Павлов; Бутенко, 1969).

1959 г. ознаменовался еще одной важной вехой: французский ученый Ж. Морель предложил метод культуры изолированных меристем, который он использовал для микроразмножения орхидей. Еще ранее этим же методом он получил безвирусные растения картофеля.

В СССР работы по микроразмножению меристемным методом на гербере были выполнены в Институте физиологии растений АН СССР под руководством Р.Г. Бутенко (1964).

В 1960 г. английским профессором Коккингем были впервые получены ферментативным путем изолированные протопласты и разработаны условия для их культивирования.

Через 10 лет, в 1970 г., в той же лаборатории Пауэр с сотрудниками осуществили искусственное слияние протопластов и таким образом открыли путь к созданию соматических гибридов.

В 1964 г. индийские ученые Гуха и Магешвари индуцировали андрогенез в культуре пыльников и использовали этот метод для получения гаплоидных растений.

В 1971 г. впервые изучены и описаны соматические варианты табака (Загорска и др., 1971).

В 1982 г. был разработан метод переноса генов в растительную клетку с помощью векторов, созданных на основе Ti-плазмиды.

В настоящее время продолжается разработка клеточных технологий. При этом наибольшее внимание уделяется клеточной селекции, соматической гибридизации, получению трансгенных растений. Постоянно большое значение придается вопросам морфогенеза и регенерации растений из каллусных клеток и тканей.

3.3. Техника культивирования изолированных тканей растений

Необходимым условием работы с культурой изолированных тканей является соблюдение строгой стерильности. Богатая питательная среда – прекрасный субстрат для развития в ней микроорганизмов. Поэтому необходимо стерилизовать эксплант (растительная ткань) и питательную среду. Все манипуляции с изолированными тка-

нями (введение в культуру, пересадка на свежую питательную среду) проводят в асептическом помещении (ламинар-боксе) стерильными инструментами.

Эксплант, а также семена стерилизуют, выдерживая их в течение 5...20 мин в стерилизующих растворах с последующей многократной промывкой экспланта стерильной водой. Время стерилизации зависит от характера экспланта и стерилизующей активности раствора (семена 10...20 мин, вегетативные части 5... 10 мин).

В качестве стерилизующих растворов используют раствор сулемы или диацида (0,1%), гипохлорид кальция, натрия, калия (5...10%), перекись водорода (10...12%), хлорамин Б (6...10%) и др.

Органы растения, из которых берут эксплант для введения в культуру, предварительно моют мыльным раствором со щеткой и споласкивают дистиллированной водой, а затем погружают на несколько секунд в 70%-й раствор этанола. Кроме собственно стерилизующего действия спирта, обработка тканей этанолом перед помещением в основной стерилизующий раствор повышает стерилизующий эффект последнего.

После стерилизации растительные объекты должны быть тщательно промыты стерильной водой.

Поверхностная стерилизация освобождает эксплант только от наружной инфекции. Если же ткани экспланта имеют внутреннюю инфекцию, то его необходимо обработать антибиотиками. Особенно богаты внутренней инфекцией ткани тропических и субтропических растений с крупными сосудами. Загрязнение культур грибами или бактериями обычно выявляется через 1...14 дней после посадки. Эти культуры необходимо удалять, чтобы избежать заражения воздуха в комнате.

Питательные среды стерилизуют паром под давлением в автоклаве. Автоклавируют среды при температуре 120°C и давлении 0,7...1 атм. в течение 20 мин. Если в состав питательной среды входят вещества, разрушающиеся при высокой температуре, то их подвергают холодной стерилизации, пропуская через бактериальные фильтры, после чего добавляют в проавтоклавированную основную среду, охлажденную до 40°C.

Перед стерилизацией посуду необходимо тщательно вымыть детергентами, ополоснуть дистиллированной водой и высушить. Затем ее завертывают в оберточную бумагу и стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 160°C в течение 2 ч. Еще более строгой стерилизации можно добиться под давлением в автоклаве, так как влажный жар более эффективно убивает микроорганизмы и их споры.

Инструменты стерилизуют сухим жаром или прокаливанием в пламени спиртовки. Не допускается стерилизовать металлические предметы автоклавированием, так как под действием пара они ржавеют и тупятся.

3.4. Морфогенез в каллусных тканях

Развитие каллусных клеток может быть различным. Существует несколько путей, по которым может пойти клетка после её дедифференцировки. Первый путь – это вторичная регенерация целого растения, возможна дифференцировка на уровне клеток, тканей, органов. Вторым путем – это утрата клеткой способности к вторичной дифференцировке и регенерации растения, стойкая дедифференцировка, приобретение способности расти на среде без гормонов, т. е. превращение в опухолевую. Такими свойствами часто характеризуются клетки старых пересадочных культур. Третий путь – это нормальный онтогенез каллусной клетки, заканчивающийся ее старением и отмиранием. Клетка претерпевает вторичную дифференцировку и прекращает делиться (стационарная фаза роста). Однако такая дифференцировка не ведет к морфогенезу, а закрепляет за ней свойства старой каллусной клетки. Для сельскохозяйственной биотехнологии наибольший интерес представляет регенерация в культуре тканей из отдельной клетки целого растения. Иногда этот путь лежит через образование отдельных органов.

В культуре каллусных тканей морфогенезом называют возникновение организованных структур из неорганизованной массы клеток. Существуют различные типы морфогенеза. В культуре тканей он может проявляться в виде органогенеза: корневого, стеблевого, реже флорального (цветочного), листового или в виде соматического эмбриогенеза (образования зародышеподобных структур из соматиче-

ских клеток). В случае органогенеза сначала регенерируют отдельные органы, а затем уже из них – целые растения, исключение составляет корневой органогенез.

В результате соматического эмбриогенеза в отличие от органогенеза сразу образуется биполярная структура (соматический зародыш), имеющая зачаточный корешок и стеблевую почку, из которой в дальнейшем развивается целое растение.

Способность отдельной соматической клетки полностью реализовывать свою программу развития и давать начало целому растительному организму называют тотипотентностью.

3.4.1. Культура изолированных тканей, клеток и протопластов в селекции растений

Особенности каллусных клеток, возможность выращивания изолированных тканей и клеток на искусственных питательных средах и, наконец, способность к регенерации растений открывают богатые перспективы для использования метода культуры изолированных тканей в селекции. Основные задачи, стоящие перед селекционерами, клеточными и генными инженерами, – создание устойчивых к патогенам и неблагоприятным факторам внешней среды (засухе, морозу, засолению), а также высокоурожайных форм сельскохозяйственных растений и улучшение качества запасных веществ (белков, жиров, углеводов). Эти задачи могут быть решены традиционными методами селекции за более продолжительные сроки, чем методами клеточной инженерии.

Наряду со вспомогательным использованием методов *in vitro* в селекции клеточная инженерия может применяться для конструирования новых растений и отбора клеток, обладающих устойчивостью к неблагоприятным факторам или повышенной продуктивностью, с дальнейшей регенерацией из них растений. Это направление представляет собой селекцию растений на клеточном уровне.

3.4.2. Вспомогательное использование методов *in vitro* в селекции растений

В отдаленной гибридизации применяют такие методы культуры изолированных тканей, как оплодотворение *in vitro*, эмбриокуль-

туры (выращивание изолированных зародышей на искусственных питательных средах), клональное микроразмножение гибридов. Все большее значение в селекции растений приобретает метод получения гаплоидов.

Преодоление программной несовместимости. При отдаленной гибридизации нередко не происходит оплодотворения растений из-за несоответствия длины пыльцевой трубки длине столбика пестика, в результате чего пыльцевая трубка не достигает семязачки. Это естественное затруднение может быть преодолено с помощью оплодотворения *in vitro*: асептически изолированные завязи помещают в искусственную питательную среду, а пыльцу переносят на поверхность вскрытых семязачек. После оплодотворения здесь же на питательной среде образуются зародыши.

Получение гаплоидов *in vitro* и использование их в селекции. Роль гаплоидных растений в селекции очень велика. Применение их позволяет быстрее найти нужную комбинацию, сокращает время для создания сорта. Гаплоиды используют для получения стабильных гомозиготных линий, для мутагенеза, поскольку на гаплоидном уровне облегчается отбор рецессивных мутаций.

В диплоидных растениях мутации редко затрагивают оба аллельных гена в гомологических хромосомах. Особь обычно гетерозиготна (два гена различаются), при этом проявляется действие только доминантного (но не рецессивного) гена. Поскольку мутации чаще рецессивны, чем доминантны, их довольно сложно выявить. В гаплоидных же растениях, которые содержат только одну из каждой пары гомологичных хромосом, мутации проявляются немедленно. Селекция на гаплоидном уровне позволяет вести прямой отбор не только доминантных, но и рецессивных признаков.

Гаплоидные особи стерильны, но можно искусственно удвоить набор их хромосом с помощью колхицина и получить диплоидные гомозиготные растения.

Гаплоиды могут возникать спонтанно, но частота их спонтанного возникновения очень мала. Существует три способа получения гаплоидов с использованием метода культуры изолированных тканей:

* андрогенез — в искусственной питательной среде из изолированных пыльников и микроспор;

* гиногенез — в искусственной питательной среде из изолированных семязпочек;

* партеногенез — из гибридного зародыша, у которого из-за несовместимости хромосом родителей потеряны отцовские хромосомы.

Гибридизация соматических клеток. Следующий метод клеточной селекции – создание неполовых гибридов путем слияния изолированных протопластов, полученных из соматических клеток. Этот метод позволяет скрещивать филогенетически отдаленные виды растения, которые невозможно скрестить обычным половым путем, вызывать слияние трех и более родительских клеток, получать несимметричные гибриды, несущие весь генный набор одного из родителей наряду с несколькими хромосомами или несколькими генами или только органеллами и цитоплазмой другого.

4. КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ

В природе существует два способа размножения растений, половой (семенной) и вегетативный. Эти способы имеют свои преимущества и недостатки. К недостаткам семенного размножения следует отнести в первую очередь генетическую пестроту получаемого посадочного материала и длительность ювенильного периода. При вегетативном размножении сохраняется генотип материнского растения и сокращается продолжительность ювенильного периода. Однако для большинства видов (в первую очередь для древесных пород) проблема вегетативного размножения остается до конца не решенной. Это обусловлено следующими причинами:

- не все породы, даже на ювенильной стадии, могут размножаться вегетативным способом с требуемой эффективностью (дуб, сосна, ель, орехоплодные и др.);
- практически невозможно с помощью черенкования размножать многие виды древесных пород в возрасте старше 10...15 лет;
- не всегда удается получать стандартный посадочный материал (возможность накопления и передачи информации);
- трудоемкостью и сложностью операций при размножении взрослых (древесных) растений с помощью прививок;
- неэффективностью разработанных технологий для получения достаточного количества генетически однородного материала в течение года.

Достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию принципиально нового метода вегетативного размножения – клонального микроразмножения (получение в условиях *in vitro* (в пробирке), неполовым путем растений, генетически идентичных исходному экземпляру) В основе метода лежит уникальная способность растительной клетки реализовывать присущую ей тотипотентность, т.е под влиянием экзогенных воздействий давать начало целому рас-

тительному организму. Этот метод, несомненно, имеет ряд преимуществ перед существующими традиционными способами размножения:

- получение генетически однородного посадочного материала;
- освобождение растений от вирусов за счет использования меристемной культуры;
- высокий коэффициент размножения ($10^5 \dots 10^6$ – для травянистых, цветочных растений, $10^4 \dots 10^5$ – для кустарниковых древесных, 10^4 – для хвойных);
- сокращение продолжительности селекционного процесса;
- ускорение перехода растений от ювенильной к репродуктивной фазе развития;
- размножение растений, трудно размножаемых традиционными способами;
- возможность проведения работ в течение круглого года и экономия площадей, необходимых для выращивания посадочного материала;
- возможность автоматизации процесса выращивания.

4.1. Методы размножения растений

Процесс клонального микроразмножения разделяют на четыре этапа:

- выбор растения – донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры;
- собственно микроразмножение, когда достигается получение максимального количества микропобегов;
- укоренение размноженных побегов и приспособление их к почвенным условиям;
- выращивание растений в условиях теплицы и подготовка их к реализации или посадке в поле (рис. 5).

Исходя из предложенных в литературе методов микроразмножения растений этот процесс можно осуществлять следующими методами:

- активизацией развития уже существующих в растении меристем;

- индукцией возникновения адвентивных почек непосредственно тканями эксплантата;
- индукцией соматического эмбриогенеза;
- дифференциацией адвентивных почек в первичной и пересадочной каллусной ткани.

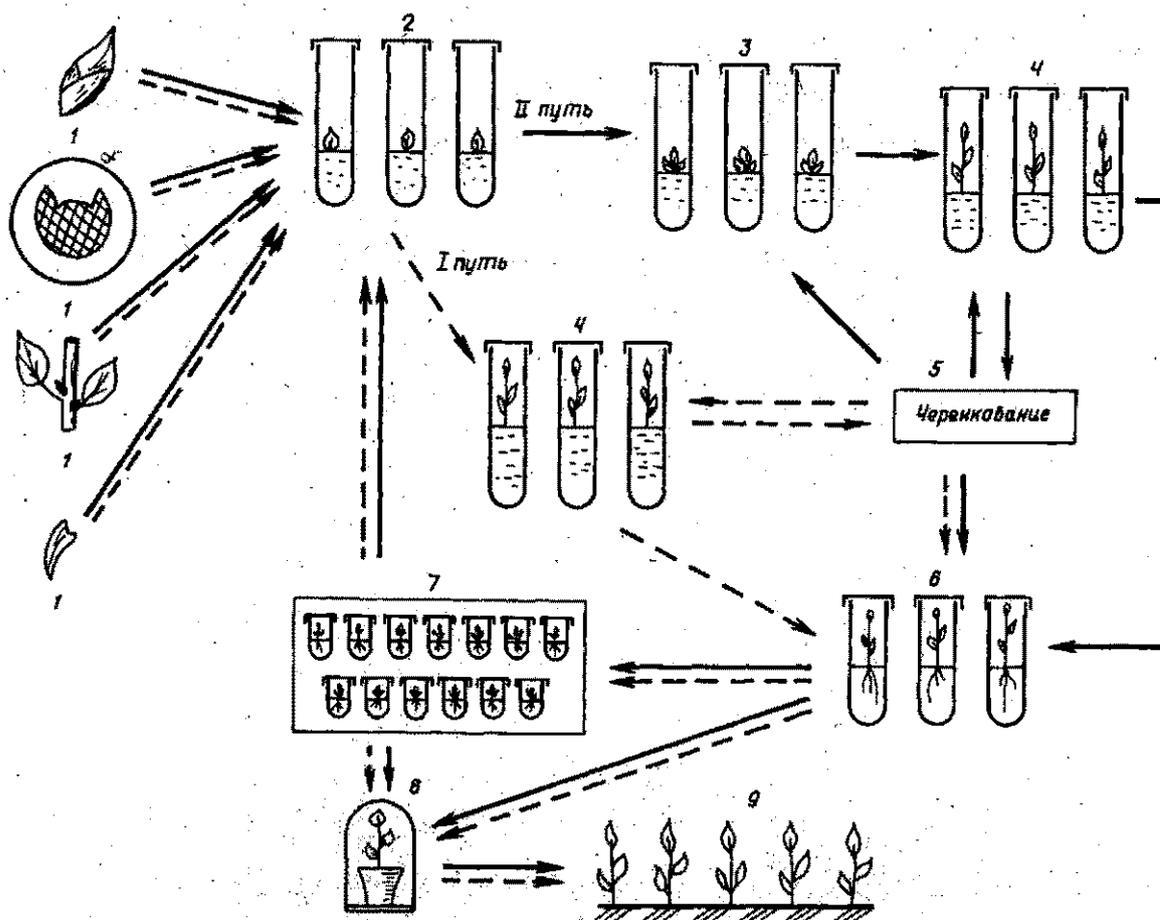


Рис.5.Схема клонального микроразмножения растений методом активации развития существующих меристем (1-й путь), индукции возникновения адвентивных почек на экспланте (2-й путь):
 1 – выбор исходного эксплантата; 2 – получение стерильной культуры; 3 – образование адвентивных почек непосредственно на первичном экспланте; 4 – рост почек и формирование микропобегов; 5 – размножение микропобегов; 6 – укоренение микропобегов; 7 – депонирование размноженных растений-регенерантов при пониженной температуре; 8 – перевод в тепличные условия; 9 – высадка растений в поле

Первый метод, используемый при клональном микроразмножении растений, – это активация развития уже существующих в растении меристем, основывающийся на снятии апикального до-

минирувания. Это может быть достигнуто двумя путями:

– удаление верхушечной меристемы стебля и последующее микрочеренкование побега *in vitro* на безгормональной среде;

– добавление в питательную среду веществ цитокининового типа действия, индуцирующих развитие многочисленных пазушных побегов.

Как правило, в качестве цитокининов используют 6-бензиламинопурин (БАП) или 6-фурфуриламинопурин (кинетин), а также 2-изопентениладенин (2 ip) и зеатин. Полученные таким образом побеги отделяют от первичного материнского экспланта и вновь самостоятельно культивируют на свежеприготовленной питательной среде, стимулирующей пролиферацию пазушных меристем и возникновение побегов более высоких порядков (рис. 6).

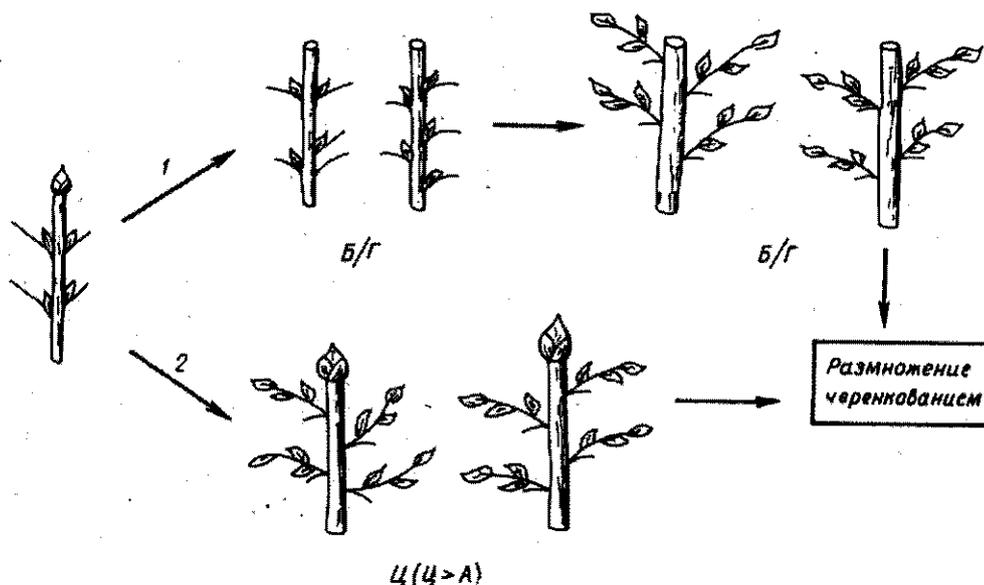


Рис. 6. Схема размножения растений методом активации существующих меристем: 1 – путем удаления верхушечной меристемы; 2 – добавлением в питательную среду цитокининов (Б/Г – безгормональная среда; Ц - цитокинины; А – ауксины)

В настоящее время этот метод широко используется в производстве безвирусного посадочного материала сельскохозяйственных культур, как технических (сахарная свекла, хмель, табак, топинамбур, стэхис), так и овощных (томаты, картофель, огурец, перец, тыква, спаржа и др.), а также для размножения культур промышленного цветоводства (гвоздика, хризантема, роза, гербера), тропических и субтропических растений (рододендрон, азалия, камелия, чай и др.), пло-

довых и ягодных культур (яблоня, слива, вишня, груша, виноград, малина, смородина, крыжовник и др.) и древесных растений (тополь, ива, ольха, береза, рябина, секвойя, туя, можжевельник и др.). Для некоторых сельскохозяйственных культур, таких как картофель, технология клонального микроразмножения поставлена на промышленную основу.

Применение метода активации развития существующих в растении меристем позволяет получать из одной меристемы картофеля более 10^5 растений в год, причем технология предусматривает получение в пробирках микроклубней – ценного, безвирусного семенного материала.

Второй метод – это индукция возникновения адвентивных почек непосредственно тканями экспланта. Он основан на способности изолированных частей растения при благоприятных условиях питательной среды восстанавливать недостающие органы и таким образом регенерировать целые растения. Образования адвентивных почек возможно добиться почти из любых органов и тканей растения (изолированного зародыша, листа, стебля, семядолей, чешуек и донца луковицы, сегментов корней и зачатков соцветий), если их удастся получить свободными от инфекции. Этот процесс, как правило, происходит на питательных средах, содержащих один цитокинин или в сочетании с ауксином, находящихся в соотношении 10:1 или 100:1. В качестве ауксина в этом случае наиболее часто используют β -индолил – 3-уксусную кислоту (ИУК) или альфанафтилуксусную кислоту (НУК). Это наиболее распространенный метод микроразмножения высших растений, которым были размножены многие луковичные цветочные растения (нарциссы, лилии, гиацинты, гладиолусы, тюльпаны) из луковичных чешуи, сегментов базальной части донца луковиц, эксплантов листьев; представители рода *Brassica* (капуста цветная, кочанная, брюссельская, листовая, брокколи) – из сегментов гипокотилия, котиледона, листьев; лук, чеснок – из верхушечной меристемы, ткани донца луковиц; томаты – из апикальных или пазушных меристем; салат цикорный – из сегментов листовых пластинок; петунья – из сегментов корней; глоксиния, сенполия, стрепто карпус, эпинапус – из сегментов листовых пластинок, а также некоторые представители древесных растений – из изолированных зрелых и незрелых зародышей.

Достаточно хорошо разработана технология клонального микроразмножения земляники, основанная на культивировании апикальных меристем. Меристематические верхушки изолируют из молодых свободных от вирусных болезней растений и выращивают на модифицированной питательной среде Мурасиге и Скуга, содержащей БАП в концентрации 0,1...0,5 мг/л. Через 3...4 недели культивирования меристема развивается в проросток, в основании которого формируются адвентивные почки, которые быстро растут и дают начало новым почкам. В течение 6...8 недель образуется конгломерат почек, связанных между собой соединительной тканью и находящихся на разной стадии развития. Появляются листья на коротких черешках, в нижней части которых формируются новые адвентивные почки. Эти почки разделяют и пересаживают на свежую питательную среду. На среде с цитокинином продолжается пролиферация придаточных побегов, а на среде без регуляторов роста в течение 4...6 недель формируются нормальные растения с корнями и листьями. Морфогенетическая активность экспланта сохраняется в течение 3...5 лет.

Таким образом, от одного материнского растения можно получать несколько миллионов растений-регенерантов в год.

Несомненный интерес у исследователей вызывает вопрос, связанный с происхождением адвентивных почек, и в частности, какие клеточные слои участвуют в дифференциации меристем. Единого мнения по этому вопросу пока нет. Так, Тран Тан Ван в своих работах с тканями табака установила, что именно эпидермис является наиболее активной тканью, способной образовывать почки, каллус или корни в зависимости от гормонального баланса питательной среды. Цитологические исследования, проведенные на сегментах базальной части донца луковиц тюльпанов и нарциссов, показали, что адвентивные побеги формируются из поверхностных слоев меристематических клеток, прилегающих к донцу, а для растений глоксинии, сенполии и стрептокарпуса процесс формирования адвентивных почек, как правило, происходит в субэпидермальных клеточных слоях листовых пластинок. Единого мнения по этому вопросу также нет и среди исследователей, работающих с древесными растениями. Так, Арнольд и Эриксон, Джонсон и Борнман считают, что образование почек на изолированной хвое ели обыкновенной под действием БАП

и 2ip происходит в эпидермальном слое культивируемого экспланта, по мнению Чин и Ченга, для псевдотсуги – в субэпидермальных слоях; а Вилалобос и другие утверждают, что при культивировании семядолей сосны замечательной на среде, содержащей один цитокинин, этот процесс происходит одновременно в эпидермальном и субэпидермальном слоях. Для сосны обыкновенной также было отмечено образование адвентивных почек в эпидермальном и субэпидермальном слоях семядолей зародыша. Этот процесс для сосны не зависит от применяемых цитокининов.

Применение метода активации развития существующих в растении меристем позволяет получать из одной меристемы картофеля более 10^5 растений в год, причем технология предусматривает получение в пробирках микроклубней – ценного, безвирусного семенного материала.

Третий метод, практикуемый при клональном микроразмножении, основывается на дифференциации из соматических клеток зародышеподобных структур, которые по своему внешнему виду напоминают зиготические зародыши. Этот метод получил название соматический эмбриогенез. Основное отличие образования зародышей *in vitro* от *in vivo* (в естественных условиях) заключается в том, что соматические зародыши развиваются асексуально вне зародышевого мешка и по своему внешнему виду напоминают биполярные структуры, у которых одновременно наблюдается развитие апикальных меристем стебля и корня. Согласно Стеварду, соматические зародыши проходят три стадии развития: глобулярную, сердцевидную, торпедовидную и в конечном итоге имеют тенденцию к развитию в проросток.

Это явление впервые было отмечено в культуре клеток моркови еще в середине 50-х г.г., а в настоящее время используется для размножения большинства растений из семейства Orchidaceae и Rutaceae, а также для некоторых представителей злаковых (пшеница, ячмень), люцерны, редиса, винограда и некоторых видов древесных пород (осина, эвкалипт, дуб, ель обыкновенная).

Формирование эмбриоидов в культуре тканей происходит в два этапа. На первом этапе клетки экспланта дифференцируются за счет добавления в питательную среду ауксинов, как правило, 2,4-

дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и превращаются в эмбриональные. Для формирования эмбрионов необходимо уменьшать концентрацию ауксина или полностью его исключать из состава питательной среды. Соматический эмбриогенез возможно наблюдать непосредственно в тканях первичного экспланта, а также в каллусной культуре. Причем последний способ менее пригодный при клональном микроразмножении, так как посадочный материал, полученный таким методом, будет генетически нестабилен по отношению к растению-донору. Как правило, соматический эмбриогенез происходит при культивировании каллусных клеток в жидкой питательной среде (сuspензии) и является наиболее трудоемкой операцией. Однако этот метод размножения имеет свои преимущества, связанные с сокращением последнего (третьего) этапа клонального микроразмножения, не требующего подбора специальных условий укоренения и адаптации пробирочных растений, потому что соматические зародыши представляют собой полностью сформированные растеньица. При использовании соответствующей техники их капсулирования из этих эмбрионидов возможно получать искусственные семена.

Четвертый метод клонального микроразмножения – дифференциация адвентивных почек в первичной и пересадочной каллусной ткани. Практически он мало используется в целях получения посадочного материала *in vitro*. Это связано с тем, что при периодическом пересаживании каллусной ткани на свежую питательную среду часто наблюдаются явления, нежелательные при микроразмножении: изменение ploидности культивируемых клеток, структурные перестройки хромосом и накопление генных мутаций, потеря морфогенетического потенциала культивируемыми клетками. Наряду с генетическими изменениями наблюдаются изменения растений и по морфологии: низкорослость, неправильное жилкование листьев и их расположение по стеблю, образование укороченных, утолщенных междоузлий, уродливость, пониженная устойчивость к болезням и вредителям. Причем длительное культивирование каллусных клеток усугубляет эти изменения, поэтому период неорганизованного роста при микроразмножении должен быть сведен к минимуму.

Однако, несмотря на некоторые недостатки, данный метод имеет свои положительные стороны и преимущества. Во-первых, он явля-

ется эффективным и экономически выгодным, так как в процессе размножения из каждой индивидуальной каллусной клетки при определенных благоприятных условиях культивирования может сформироваться адвентивная почка, дающая начало новому растению. Во-вторых, в ряде случаев он является единственно возможным способом размножения растений в культуре тканей. В-третьих – представляет большой интерес для селекционеров, так как растения полученные данным методом, отличаются генетически и морфологически друг от друга. Это дает возможность селекционерам проводить отбор растений по хозяйственно важным признакам и оценивать их поведение в полевых условиях. Этот метод – целесообразно применять лишь к тем растениям, для которых показана генетическая стабильность каллусной ткани, а вариабельность между растениями-регенерантами не превышает уровня естественной изменчивости. К таким растениям можно отнести амариллис, эписции, драцены, томаты, спаржу, некоторые древесные породы и другие культуры. Через каллусную культуру были размножены, сахарная свекла, некоторые представители рода Brassica, кукуруза, рис, пшеница и другие злаковые, подсолнечник, лен, разработаны условия, способствующие регенерации растений из каллуса огурца, картофеля, томатов.

Для культивирования тканей на каждом из четырех этапов требуется применение определенного состава питательной среды. На 1-м этапе необходимо добиться получения хорошо растущей стерильной культуры, что осуществляется путем стерилизации растительных тканей ртутьсодержащими растворами (сулема или диацид 0,1 0,2%) или хлорсодержащими (хлорамин 10...15%, гипохлорит натрия, гипохлорит кальция 5...10%) в течение 5...10 мин для нежных, легкоповреждаемых тканей растений и 10...20 мин для тканей, имеющих более плотную оболочку. После этого растительные ткани необходимо тщательно промывать в стерильной дистиллированной воде, как правило, в трех порциях и переносить на приготовленную заранее питательную среду. Корни отмывают от остатков агара и высаживают в почвенный субстрат, предварительно простерилизованный при 85...90°C в течение 1...2 ч. Для большинства растений в качестве субстратов используют торф, песок (3:1), торф, дерновую почву, перлит (1:1:1), торф, песок, перлит (1:1:1) Исключение составляют орхидные, для ко-

торых готовят субстрат, состоящий из сфагнового мха, смеси торфа, листьев бука или дуба, сосновой коры (1:1:1). Приготовленным заранее почвенным субстратом заполняют пикировочные ящики или торфяные горшочки, в которых выращивают растения-регенеранты. Горшочки с растениями помещают в теплицы с регулируемым температурным режимом (20...22 С), освещенностью (не более 5 тыс. лк) и влажностью (65...90%). Для лучшего роста растений создают условия искусственного тумана, горшочки с растениями накрывают стеклянными банками или полиэтиленовыми пакетами, которые постепенно открывают до полной адаптации растений.

Через 20...30 дней после посадки хорошо укоренившиеся растения подкармливают растворами минеральных солей Кнудсона, Мурасиге и Скуга, Чеснокова, Кнопа (в зависимости от вида растений) или комплексным минеральным удобрением. По мере роста растений их рассаживают в большие емкости со свежим субстратом. Дальнейшее выращивание акклиматизированных растений соответствует принятой агротехнике выращивания для каждого индивидуального вида растений.

Процесс адаптации пробирочных растений к почвенным условиям является наиболее дорогостоящей и трудоемкой операцией. Нередко после пересадки растений в почву наблюдается остановка в росте, опадение листьев и гибель растений. Эти явления связаны в первую очередь с тем, что у растений нарушается при этом деятельность устьичного аппарата, вследствие чего происходит потеря большого количества воды. Во-вторых, у некоторых растений в условиях *in vitro* не происходит образования корневых волосков, что приводит, в свою очередь, к нарушению поглощения воды и минеральных солей из почвы. Поэтому целесообразно на третьем или четвертом этапах клонального микроразмножения применять искусственную микоризацию растений (для микотрофных), учитывая положительную их роль в снабжении растений минеральными и органическими питательными веществами, водой, биологически активными веществами, а также в защите растений от патогенов. Существует два способа заражения растений микоризообразующими грибами, *in vitro* (в стерильных условиях); *in vivo* (в естественных условиях) Первый способ более благоприятен, так как в этом случае исключается воз-

возможность загрязнений почвы другими микроорганизмами. Кроме того, в условиях *in vitro* есть возможность контролировать условия культивирования (свет, температура, влажность). И подбирать субстрат (рН, аэрация), обеспечивающий нормальное формирование микоризы. Растения, размноженные *in vitro*, развиваются значительно лучше, если их корневая система находилась в контакте с микоризообразующими грибами. В этом случае улучшалось снабжение их азотом, увеличивалась в 1,5...2 раза приживаемость растений при их пересадке в почву, а также повышался прирост надземной биомассы. Такие работы были проведены с березой, эвкалиптом, каштаном, сосной, лохом и разными клонами ольхи

Индийскими учеными предложен простой метод предотвращения быстрого обезвоживания листьев растений, выращенных *in vitro*, во время их пересадки в полевые условия. Метод заключается в том, что листья в течение всего акклиматизационного периода следует опрыскивать 50%-м водным раствором Глицерина или смесью парафина или жира в диэтиловом эфире (1:1). Применение этого метода помогает избежать длинных и затруднительных процессов закаливания пробирочных растений и обеспечивает 100%-ю их приживаемость.

В Институте физиологии растений им К.А. Тимирязева РАН разработан упрощенный способ адаптации пробирочных растений винограда. Он состоит в том, что адаптацию растения безболезненно проходят в пробирках – для этого достаточно снять пробки с тех пробирок, в которых растения достигают пробки. В таком состоянии растения оставляют на 1,5...2 недели. К концу этого периода верхушка растения и два развитых листочка появляются над пробиркой и такое растение готово к пересадке в почву. Растения пересаживают в стерильный почвенный субстрат вместе с агаром для предотвращения механических повреждений корневой системы. Побег заглубляют в почвенный субстрат так, чтобы над поверхностью оставался стебель с одним-двумя развитыми листочками, не более. Применение этого способа для адаптации растений винограда к почвенным условиям позволяет упростить и удешевить технику акклиматизации растений. Это достигается вследствие того, что в этом случае туманообразующая установка не используется.

Питательные среды. Эффективность микроразмножения в значительной степени определяется правильным выбором питательной среды. Для культивирования органов и тканей растений чаще применяют твердую агарсодержащую среду, так как в жидкой среде эксплантаты тонут. Любая питательная среда включает следующие группы веществ: макро- и микроэлементы, углеводы, витамины, аминокислоты, регуляторы роста гормональной природы.

Обязательным условием является присутствие в среде кроме элементов питания гормональных факторов или имитаторов их действия. Известно пять групп соединений, относящихся к категории фитогормонов. Это цитокинины, ауксины, гиббереллины, абсцизовая кислота и этилен. При *in vitro* было выявлено, что для дедифференциации, превращения специализированной клетки в меристематическую, способную к делению, необходимо участие двух и более гормонов, относящихся к разным группам.

Условия культивирования. После тщательного перемешивания компонентов питательной среды регулируется *pH* всей смеси путем добавления 0,1 N NaOH и 0,1 N HCl. Для среды Мурасиге - Скуга *pH* устанавливается на уровне 5,7-5,8, у среды для культивирования древесных растений (WPM) оптимальная *pH*=5,2 (табл. 1).

Факторы окружающей среды, такие как свет, температура и состав воздуха, могут влиять на рост и развитие клеток в культуре органов и тканей. Действие этих факторов взаимосвязано. Обычно микроклональное размножение древесных растений проводят при нормальной комнатной температуре и при сохранении того фотопериода, который наблюдается в это время в природе. Чтобы установить оптимальные параметры внешней среды, для многих видов древесных растений необходимо провести дополнительные исследования.

Процесс микроразмножения растений состоит из нескольких этапов. Большинство исследователей выделяют три этапа: эксплантирование исходного материала, собственно микроразмножение, укоренение размноженных побегов. При получении посадочного материала древесных растений методом микроклонирования целесообразно выделить и четвертый этап – адаптации регенерантов к нестерильным условиям среды (рис.7).

Таблица 1. Состав некоторых питательных сред (из Абуја, 1983, концентрация вещества указана в миллиграммах на литр)

Вещество	MS	WPM	АСМ*
<i>Неорганические вещества</i>			
NH ₄ NO ₃	1650	400	400
KN ₃	1900	-	-
CaNO ₃ 4H ₂ O	-	556	556
K ₂ S ₄	-	990	990
CaCl ₂ 2H ₂ O	440	96	96
MgSO ₄ 7H ₂ O	370	370	370
KH ₂ PO ₄	170	170	170
Na ₂ EDTA2H ₂ O	37,25	37,30	-
FeSO ₄ 7 H ₂ O	27,85	27,85	-
Sodium Ferric EDTA	-	-	30,0
MnSO ₄ 4H ₂ O	22,3	22,3	22,3
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,6	8,6	8,6
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2
KJ	0,83	-	0,83
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,25	0,25	0,25
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,025	0,25	0,025
CoCl ₂ 6H ₂ O	0,025	-	0,025
<i>Органические вещества</i>			
Тиамин НО	0,1	1,0	0,1
Никотиновая кислота	0,5	0,5	0,5
Пиридоксин НС1	0,5	0,5	0,5
Глицин	2,0	2,0	-
Лизин	-	-	100
Мио-инозитол	100	100	100
Сахароза	30 000	30 000	30 000
* АСМ (Aspen Culture Medium) — среда для культивирования осины			

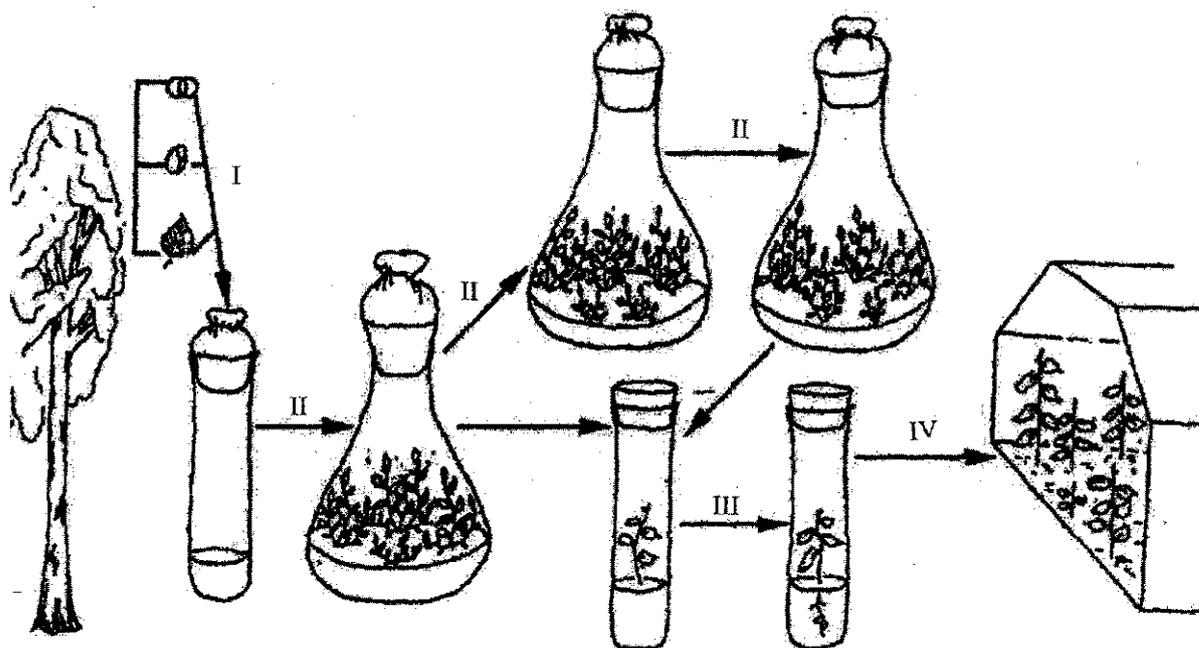


Рис. 7. Схема этапов клонального микроразмножения на примере берёзы (Л.В. Ветчинникова, 1998): I - отбор эксплантов и введение в культуру; II - мультипликация побегов; III - ризогенез; IV – адаптация к нестерильным условиям среды

Отбор эксплантов и введение их в культуру. Для микроразмножения древесных растений используют два основных типа исходного материала:

- ювенильный (семена и их отдельные части, а также части проростков);
- молодые ткани взрослых растений (почки, хвоя, ткани листа, побеги).

Чаще в качестве экспланта служит ювенильный материал.

Перед введением в культуру материал стерилизуют. Установлено, что из всех видов растений древесные породы – самый трудный и сложный объект для получения культуры тканей, так как все типы исходного материала у них сильно заражены (Г.П. Бутова, 1987). Стерилизацию проводят очень осторожно, чтобы не повредить нежные ткани экспланта; концентрация стерилизующих агентов подбирается на возможно более низком уровне.

Стерилизующие растворы могут быть разделены на несколько групп. Первая из них включает растворы, содержащие активный хлор: хлорамин, хлорная известь, гипохлорит кальция и гипохлорит натрия.

Хлорамин используется чаще. Этот препарат наряду с гипохлоритами обладает наименее выраженным токсическим действием.

Вторая группа включает ртутьсодержащие растворы, обладающие наибольшим дезинфицирующим эффектом: хлорид ртути и диацид. Растворы второй группы используют в тех случаях, когда препараты первой группы оказались неэффективными.

Иногда материал стерилизуют перекисью водорода или раствором иода.

Для повышения эффективности стерилизации практикуется последовательное применение стерилизующего агента с 70%-ным этиловым спиртом. Эксплант опускают на 1-3 с в спирт, а затем переносят в стерилизующий раствор. Перед высадкой на питательную среду материал ополаскивают в стерильной воде.

Мультипликация побегов. При правильно подобранной питательной среде, надежной стерилизации и подходящих условиях культивирования в пробирке или колбе образуется несколько побегов. Часть из них пересаживают на новую среду для образования корней, а другую повторно культивируют для увеличения количества побегов. Этот процесс повторяют многократно до получения требуемого количества посадочного материала.

Ризогенез. Питательная среда для культивирования побегов с целью образования на них корней обычно несколько отличается от среды, которая использовалась на первом этапе. Установлено, что для многих растений необходимо использовать среду с низким содержанием солей. Так, в среде Мурасиге - Скуга концентрация солей уменьшается в два или даже в четыре раза. Некоторые травянистые растения не нуждаются в добавлении в среду регуляторов роста, но чаще требуются ауксины. Время, необходимое для формирования корней, варьирует от 10 до 15 дней. Растения из пробирки пересаживают, когда корни достигнут 5 мм длины. Более длинные корни могут при пересадке поломаться.

Адаптация к нестерильным условиям среды. Для переноса растений из культуральных сосудов в почву требуется особая осторожность. Корни промываются для удаления налипшей на них питательной среды. Первые 10-15 дней в теплице поддерживается высокая влажность (90-100%). Для древесных растений в этих целях используют ус-

тановки искусственного тумана. Также необходимо защищать растения от прямого солнечного света.

Процесс адаптации пробирочных растений к почвенным условиям является наиболее дорогостоящей и трудоемкой операцией. Нередко после пересадки растений в почву наблюдается остановка в росте, опадение листьев и гибель растений. Эти явления связаны в первую очередь с тем, что у растений нарушается при этом деятельность устьичного аппарата, вследствие чего происходит потеря большого количества воды. Во-вторых, у некоторых растений в условиях *in vitro* не происходит образования корневых волосков, что приводит, в свою очередь, к нарушению поглощения воды и минеральных солей из почвы. Поэтому целесообразно на третьем или четвертом этапах клонального микроразмножения применять искусственную микоризацию растений (для микотрофных), учитывая положительную их роль в снабжении растений минеральными и органическими питательными веществами, водой, биологически активными веществами, а также в защите растений от патогенов. Существует два способа заражения растений микоризообразующими грибами, *in vitro* (в стерильных условиях); *in vivo* (в естественных условиях). Первый способ более благоприятен, так как в этом случае исключается возможность загрязнений почвы, другими микроорганизмами.

4.2. Оздоровление посадочного материала

Основное преимущество клонального микроразмножения – это получение генетически однородного, безвирусного посадочного материала. Это возможно достичь, используя меристемные ткани апексов и пазушных почек органов стеблевого происхождения. Как правило, меристема состоит из конуса нарастания, а также одного или двух листовых зачатков (примордий) и является свободной от инфекции.

Предположение о возможности отсутствия вирусов в меристематических тканях растений впервые высказано Чунгом в 1938 и Уайтом в 1943 г.г. Начиная с 50-х г.г. были предприняты первые успешные опыты по получению свободных от вирусов растений георгина из точки роста. Авторы этого метода Морель и Мартин полагали, что в больном растении вирус распространяется с отста-

ванием от быстрорастущих молодых органов, особенно в молодых недифференцированных тканях, где концентрация вируса может снижаться, вплоть до полного отсутствия. Теоретические концепции, положенные в основу этого метода, стали проясняться в последнее время.

Строение точки роста растений имеет свою специфику: дистальная ее часть, представленная апикальной меристемой, у разных растений имеет средний диаметр до 200 мкм, высота от 20 до 150 мкм. В более нижних слоях дифференцирующиеся клетки меристемы образуют прокамбий, дающий начало пучкам проводящей системы. Известно, что успех клонального микроразмножения зависит от размера меристематического экспланта: чем больше листовых зачатков и тканей стебля, тем легче идет процесс морфогенеза, заканчивающийся получением целого нормального пробирочного растения. Вместе с тем зона, свободная от вирусных частиц, очень различна для вирусов. Это зависит также от вида и сорта растения. В колее опиле злаков, например, размеры участка верхушки, не содержащей сосуды, могут достигать до 250 мкм. Такая особенность строения апикальной меристемы исключает проникновение в неё вируса путем быстрого транспортирования по проводящей системе, не допускает возможность медленного распространения через плазмодесмы, соединяющие меристематические клетки. При культивировании апикальной меристемы картофеля размером 200 мкм на питательной среде и дальнейшем получении из нее растений-регенерантов показали, что среди полученных растений только 10% были свободны от X-вируса, но 70% – от У-вируса картофеля.

Применение электронной микроскопии часто обнаруживает наличие вирусов в меристеме пораженных ими растений, что впрочем, подтверждает общеизвестный факт, что количество лишенных вируса растений после подобной операции чрезвычайно мало и многие меристемы пораженных растений инфекционны.

Таким образом, эффективность применения апикальной меристемы в качестве метода оздоровления зараженных вирусами растений оказывается низкой. Это было доказано результатами, полученными рядом меристемных лабораторий Российской Федерации и Крыма, показывающими, что из апикальных меристем растений гвоз-

дики, цимбидиума, пораженных вирусами CarMV и CarVMV, в условиях *in vitro* получают инфицированные мериклоны.

В принципе возможно получение безвирусной апикальной меристемы от больного растения, но при этом риск попадания вирусов в здоровые ткани должен быть снижен до нуля. Это может быть достигнуто путем применения предварительной термотерапии исходных растений или хемотерапии.

Метод термотерапии применяется как в условиях *in vitro*, так *in vitro* и предусматривает использование сухого горячего воздуха. Для объяснения, механизма освобождения растений от вирусов в процессе термотерапии существуют различные гипотезы. Согласно одной из них высокие температуры воздействуют непосредственно на вирусные частицы через их рибонуклеиновую кислоту и белковую оболочку, вызывая физическое разрушение и лишая вирусные частицы инфекционности. Вторая гипотеза состоит в том, что высокая температура действует на вирусы через метаболизм растений. Под влиянием высоких температур нарушается равновесие между синтезом и деградацией вирусных частиц. Если преобладает синтез, то концентрация вируса в зараженных тканях растет и наоборот.

Растения, подвергающиеся термотерапии, помещают в специальные термокамеры, где в течение первой недели повышают температуру от 25 до 37°C путем ежедневного увеличения параметров температур на 2°C. Не менее важно при термотерапии создавать и поддерживать на протяжении всего процесса оптимальные режимы: температуру 37°C, освещенность лампами дневного света 5 тыс. лк, фотопериод 14...16 ч в сутки при относительной влажности воздуха в термокамере 90%.

Продолжительность термотерапии всецело зависит от состава вирусов и их термостойкости. Если, например, для гвоздики достаточно 10...12-недельного воздействия теплом, то для освобождения хризантемы от Б-вируса этот период длится 12 и более недель. Однако существуют растения, например, луковичные культуры, цимбидиум, розы и другие, рост которых угнетается в результате длительной термотерапии *in vitro*. Для таких растений целесообразно проводить термотерапию растений-регенерантов *in vitro*.

Помимо положительного действия термотерапии на освобождение растений от вирусов, выявлен положительный эффект высоких температур на точку роста и процессы морфогенеза некоторых цветочных культур (гвоздика, хризантемы, фрезия) в условиях *in vitro*. Применение термотерапии позволяет увеличить коэффициент размножения на 50...60%, повысить адаптацию пробирочных растений-регенерантов к почвенным условиям, а также получить более высокий процент безвирусных маточных растений.

Применение термотерапии в сочетании с меристемной культурой позволяет оздоровить более 70% растений-регенерантов хмеля от вирусного хлороза, 90% земляники, 25% растений черной и красной смородины, 50% малины, более 80% картофеля. Растения на наличие вирусов, как правило, проверяют с помощью иммуноферментного анализа, электронной микроскопии и травянистых растений-индикаторов.

Другой способ, применяемый для освобождения растений от вирусов, – хемотерапия. Он заключается в добавлении в питательную среду, на которой культивируют апикальные меристемы, аналога гуанозина – 1в ...-Д-рибофуранозил-1, 2, 4-триазол-3-карбоксимид (коммерческое название вирозол) концентрацией 20...50 мг/л. Это противовирусный препарат широкого спектра действия. При использовании вирозола в культуральной среде процент безвирусных меристемных растений для ряда обычных для этих растений вирусов увеличивался до 80...100% при 0...41% в контроле. Положительные результаты хемотерапии были получены для сливы, черешни, малины, некоторых цветочных и других растений.

Возраст исследуемого материала. Возраст первичного экспланта существенно влияет и на укоренение микропобегов, размноженных *in vitro*. С увеличением возраста исходного материала, как правило, снижается способность побегов к укоренению. Так, при работе с 8 видами яблонь было получено 80...90%-е укоренение микропобегов из ювенильного материала, 50% – из апикальных почек, изолированных с 2...3-летних растений, и 20...30% – из растений более старшего возраста.

Несомненно, с практической точки зрения целесообразно размножать растения, и в частности древесные, в возрасте старше 20

лет, т. е. после проведения оценки по хозяйственно важным признакам. Однако размножение их *in vitro* в таком возрасте представляет большие трудности. Во-первых, все типы тканей и органов у взрослых растений эндогенно заражены грибами и бактериями, что значительно затрудняет получение асептической культуры. Во-вторых, почки или другие органы одного и того же взрослого дерева различаются между собой по поведению в условиях *in vitro* гораздо больше, чем это имеет место у травянистых растений, что приводит к проведению специальных экспериментов по подбору оптимальных условий культивирования, обеспечивающих нормальный рост и развитие вновь введенных эксплантов в культуру.

В настоящее время преодоление возрастного барьера осуществляется путем реювенилизации – сочетание работ *in vivo* и *in vitro*. Реювенилизацию (омоложение) можно проводить несколькими путями:

- многократной обработкой растущего дерева или отдельных ветвей раствором цитокинина перед эксплантацией;
- повторным черенкованием;
- частой подрезкой деревьев для индукции роста побегов непосредственно из ствола дерева или для стимуляции корневых отпрысков;
- проведением повторных прививок;
- путем серии субкультивирований (*in vitro*);
- созданием густых насаждений, обеспечивающих боковое затенение, которое будет стимулировать развитие спящих почек.

Або Эл Нил предложил технологию реювенилизации, первый этап которой состоит в многократной обработке цитокинином деревьев, находящихся в состоянии покоя. Предпочтительным цитокинином является БАП. Однако могут использоваться и другие – кинетин, 2-ип. Выбор цитокинина зависит от реакции обрабатываемого вида, которую устанавливают экспериментально.

Обычно изолированные ткани растений выращивают при освещении люминесцентными лампами с учетом требований материнского растения к интенсивности и фотопериоду. Мурасиге рекомендует на 1-м и 2-м этапах клонального микроразмножения растений культивировать ткани при 1...5 тыс. лк и 14...16-часовом фотоперио-

де, такие условия освещения способствуют инициации побегов и корней у большинства растений.

Многие исследования свидетельствуют, что интенсивность, освещения играет важную роль в индукции органогенеза. Увеличение освещенности с 3 до 6 тыс. лк способствовало интенсивному побегообразованию в культуре бегонии. Максимальное образование побегов и корней в культуре тканей аспарагуса отмечено при 1 тыс. лк (16-часовой фотопериод), снижение или увеличение интенсивности освещения угнетало органогенез тканей.

Резюме. Подводя итог клональному микроразмножению растений следует сказать, что оно является новым перспективным способом вегетативного размножения, позволяющим получать генетически однородный, оздоровленный посадочный материал, иметь высокий коэффициент размножения, сокращать селекционный процесс, проводить работы в течение года, экономя при этом площади, необходимые для выращивания растений. Во многих странах мира биоиндустрия микрклонального размножения поставлена на поточную промышленную основу и представлена десятками активно функционирующих предприятий. Например, во Франции 94% всей продукции цветочных культур получают методом культуры изолированных тканей. В США около 100 коммерческих предприятий получают посадочный материал декоративных, овощных, полевых, плодовых и лесных культур методом клонального микроразмножения. Ведущим производителем оздоровленного посадочного материала цветочных растений является Голландия, а подвоев яблони, сливы и персика – Италия (до 250...500 тыс. ежегодно). В нашей стране также ведутся интенсивные работы по клональному микроразмножению растений и в настоящее время многие научно-следователские институты и промышленные лаборатории разрабатывают и совершенствуют методы микроразмножения и оздоровления различных декоративных, плодовых, ягодных, овощных, кормовых и древесных культур. Например, методы ускоренного размножения винограда, разработанные во Всесоюзном научно-исследовательском институте виноделия и виноградарства «Магарач», позволяют получать из одного одноглазкового черенка 8 тыс. растений в течение 4 мес. Оздоровление промышленных посадок малины от комплекса вирусных заболеваний путем

сочетания термотерапии и культуры меристемы повышает продуктивность культуры в 6...8 раз. От применения биотехнологических приемов и технологии получения безвирусного посадочного материала гвоздики, хризантемы, розы, бегонии Элатиор в специализированных цветководческих хозяйствах «Оранжерейный комплекс», ныне акционерное общество «Элита» Российской Федерации, и в меристематическом комплексе Республиканского концерна «Крымзеленстрой» чистый доход составил в ценах 1990 г. более 1 млн. руб. в каждом из них.

ПРЕАМБУЛА (к гл. 5)

(Из воспоминаний Г.М. Козубова 2008 г.)

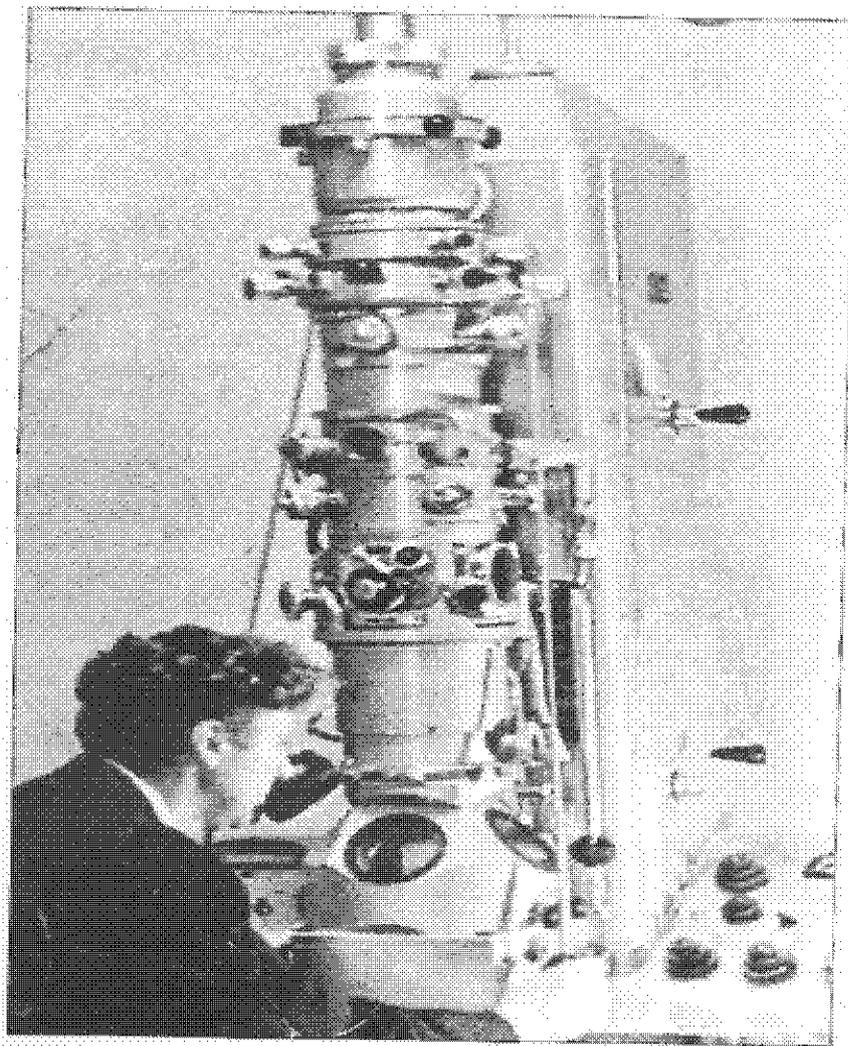
Впервые мне пришлось встретиться с Геннадием Михайловичем Козубовым в 1973 году, когда я работал м.н.с. Архангельского НИИ леса и лесохимии и выращивал посадочный материал хвойных древесных пород (сосна, ель, лиственница) разного географического происхождения в питомнике Коччояг Сыктывкарского лесхоза Минлесхоза Коми АССР. Он показывал сотрудникам лесхоза цветные слайды по морфогенезу, микро и макроспорогенезу, гаметогенезу сосны.

Я увидел жизнерадостного, простого, общительного и очень умного человека, крупного учёного Коми научного центра, института биологии Уральского отделения Российской Академии наук.

Работая над докторской диссертацией (1987-1989 г.г.) по лесосеменному мониторингу основной лесобразующей породы Севера – ели; составляя морфологические прогнозы «цветения» её за год до образования семян; исследуя содержание и локализацию нуклеиновых кислот (ДНК) в генеративных почках (1972 г.) я обратился к Г.М. Козубову с просьбой быть оппонентом моей диссертации. К моей радости он с удовольствием согласился и, защитив диссертацию в декабре 1990 года, мне позднее присудили учёную степень доктора сельскохозяйственных наук.

Считаю, что воспоминания Г.М. Козубова, написанные им за 80-летний период жизни (2008, см. автор) позволили мне использовать научные разработки по изучению лесов в зоне аварии на ЧАЭС, ибо они представляют особый интерес у молодого поколения лесоводов-биологов.

В книге Геннадия Михайловича Козубова (2008), заслуженного деятеля науки РФ и Республики Коми, доктора биологических наук, профессора, изучившему биологические особенности семеношения хвойных на Крайнем Севере, в Карелии и на Кольском полуострове, впервые в стране организованы цитозембриологические исследования хвойных на электронном микроскопе.



Впервые в стране в середине 60-х годов XX века началось активное освоение электронной микроскопии в цитоэмбриологических исследованиях хвойных растений в Институте леса Карельского филиала АН СССР. Г.М. Козубов за работой на электронном микроскопе УЭМВ-100 (1966 г.)

Он в течение семи лет (с 1986 по 1992 г.) активно участвовал в работах по изучению лесов в 30-км зоне аварии на ЧАЭС (Г.М.Козубов, 2004). За активное участие в работах по ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС он награжден орденом Мужества. Он лауреат Государственной премии Республики Коми и Премии имени К.А. Тимирязева АН СССР.

По мнению авторов издания (Г.М. Козубов, А.И. Таскаев, 2002) понятия «авария» и «катастрофа» не однозначны:

– авария – это явление техногенное, связанное с разрушением каких-то механизмов, сооружений, нарушением технологических процессов;

– катастрофа – это последствие деструктивных явлений, вызванных природными катаклизмами и антропогенными факторами, в том числе и техногенными авариями. В данном случае Чернобыльская катастрофа является следствием аварии на ЧАЭС, которая сопровождалась человеческими жертвами, переселением около 300 тыс. коренных жителей из зоны отселения, выведением из хозяйственного оборота миллионов га сельскохозяйственных угодий и лесов, появлением практически в центре Украины двух «мертвых» городов и 75 заброшенных сел и других населённых пунктов. На площади более 3,2 тыс. км² разрушена вся социально-экономическая инфраструктура, создававшаяся в течение сотен лет. Уроки Чернобыля имеют общечеловеческое глобальное значение.

ИССЛЕДОВАНИЯ ЧЕРНОБЫЛЬСКИХ ЛЕСОВ

28 апреля 1986 г. в 19 часов по радио передавали последние известия. В конце голос диктора без особых эмоций сообщил, что 26 апреля на Чернобыльской АЭС произошла авария и часть радиоактивности из четвертого блока попала в атмосферу. Нужно сказать, что подавляющее большинство населения сначала не придало особого значения первому сообщению о самой большой техногенной катастрофе в истории человечества. А там, «за бугром», уже бушевал информационный ураган, кричащий о сотнях жертв, выселении жителей из десятков населенных пунктов, в том числе из города Припять, о предстоящей эвакуации Киева, тайной отправке близких родственников руководящей элиты из Киева на юг и так далее... Однако тревожные сообщения проникали по негласным каналам, информация в которых, конечно, никакой цензуре не подвергалась, в связи с чем волнение среди населения все возрастало. Наконец, 14 мая 1986 г. на 19-й день после аварии (!) по советскому телевидению выступил Генеральный секретарь ЦК КПСС М.С. Горбачев со специальным заявлением, в котором был вынужден признать, что авария на Чернобыльской АЭС – большая беда для советских людей, представляющая чрезвычайную опасность для страны.

Следует отметить, что принятое на заседании Политбюро ЦК КПСС непосредственно после аварии решение о засекречивании практически всех данных по работам в зоне аварии сильно усложнило организацию исследований и получение информации об истинной радио-

экологической обстановке в различных частях Зоны¹, что привело к значительному разному в оценке радиоактивного загрязнения в различных ее частях, а в некоторых случаях к переоблучению работавших там «ликвидаторов». Вскоре выяснилось, что вокруг АЭС на соснах начала желтеть хвоя. Впервые появился новый термин – «рыжий» лес.

Вскоре он зазвучал по радио и телевидению, замелькал в заголовках статей, газет и журналов. Не скрою, что меня это в определенной степени обрадовало, так как в глубине души я все же боялся, что никаких особых эффектов от облучения в лесу не проявится и нам – «лесникам» – там делать будет нечего. Но, как показало время, одними из основных проблем в Зоне с научной и хозяйственной сторон оказались лесные.

Первоначальная наша программа исследований была составлена на два года, так как никто не знал, сколько продлится восстановление ЧАЭС. Как всегда, все работы предполагалось выполнить «в рекордные сроки», население вернуть на места проживания уже через год... С радиоэкологией я к тому времени был мало знаком, но даже у меня эти сроки вызывали сомнение, хотя все наши крупные ученые-атомщики молча соглашались с подобным верхоглядством и фактически массовым обманом и так уже настрадавшихся сотен тысяч людей (только в Украине были выселены из Зоны 135 тыс. жителей).

Одной из первых и довольно сложных проблем оказался подбор сотрудников в состав лесобиологического отряда, который должен был работать в Чернобыле совместно с радиобиологами в Радиоэкологической экспедиции Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Научным руководителем всей этой экспедиции являлся А.И. Таскаев, директор Института биологии, а начальником с сентября 1986 г. – старший научный сотрудник отдела радиоэкологии, кандидат биологических наук Борис Викторович Тестов. На меня возлагалось научное руководство лесобиологическим отрядом. По моим расчетам, в первом заезде в Чернобыль в лесном отряде должны были принимать участие восемь-девять сотрудников, а весной 1987 г. уже сформировать его полный состав, в зависимости от уточненного объема работ. Однако на деле все оказалось намного сложнее: двоим кандидатам не дала разрешение на работу в радиоактивной зоне медкомиссия, двое от поездки отказались

¹ Здесь и далее вместо «30-км зона ЧАЭС» используется термин «Зона» (с большой буквы).

сами. Остались только четверо – научные сотрудники Н.В. Ладанова и С.В. Кузиванова (Загирова), старший лаборант В.В. Алексеев и руководитель «похудевшего» вдвое отряда Г.М. Козубов.

С самого начала многолетних исследований в Зоне перед нами возникла проблема определения поглощенных доз и ретроспективной оценки мощности экспозиционных доз на почве. Поначалу я был уверен, что для физиков-атомщиков это легко разрешимые задачи. Но вскоре пришлось от подобных убеждений отказаться... Во-первых, существующая радиометрическая техника с грехом пополам позволяла определять мощности доз в основном для гамма-излучения, причем только в определенных пределах. Ошибка в 50% считалась вполне допустимой. Однажды на встрече представителей «Средмаша», трех экспедиций АН СССР, Минобороны и лесного хозяйства Украины было решено провести сравнительные дозиметрические замеры на лесном участке в районе Чистогаловских дач. Расхождения в показаниях используемых приборов достигало в отдельных случаях 4-5 раз! Конечно, в своих исследованиях мы прежде всего использовали радиометрические данные, полученные нашими радиоэкологами. Постепенно различные экспедиции, работающие на одних и тех же участках, пришли к «консенсусу» и согласовали между собой наиболее приемлемые плотности загрязнения и мощности экспозиционных и поглощенных доз. 12 октября сбор экспериментального материала был закончен, первичная обработка образцов для световой и электронной микроскопии в основном завершена, причем общее число фиксаций в два раза превысило запланированный объем. Конечно, такой результат удалось получить прежде всего за счет напряженной работы всех участников нашей «мини-экспедиции», состоящей всего из четырех человек.

Следует сказать, что в 1986 г. в Чернобыле царил какой-то общий подъем, желание сделать как можно больше и поскорее. Кроме того, туда съезжались люди, не боявшиеся опасностей, имеющие опыт работы в экстремальных условиях радиоактивного загрязнения. Многие из них знали друг друга по предыдущим радиационным «нештатным» ситуациям, чаще всего строго засекреченным. Общаясь с ними, мы как бы проходили «спецкурсы» по радиоэкологии и ядерной физике. Рядом с нами работали медики, генетики, радиоэкологи, физики-ядерщики, военные специалисты, моряки-подводники, имеющие, пожалуй, наибольший опыт в радиометрии, агрономы и животноводы из «Средма-

ша» и др. Со многими из них потом неоднократно приходилось встречаться в Зоне, они помогали нам адаптироваться в новых специфических условиях работы.

В нашей черныбыльской жизни нередко происходили и анекдотичные случаи. Так, прославился один из московских шоферов, который втихую наелся местной рыбы, выловленной в Припятской протоке. Когда об этом узнали его коллеги, то посоветовали ему немедленно проверить на радиоактивность живот. Шофер пришел к генетикам и попросил приложить к его животу дозиметр, что и было немедленно сделано. Как только прибор поднесли к телу пострадавшего на уровне пупка, он громко зазвенел. Водитель весь позеленел и стал жаловаться на тошноту и головную боль. Благо, что «скорая помощь» располагалась рядом, и он оказался там уже через две минуты. У врачей это был первый случай, когда «звенел» живот. Пострадавшему дали немедленно выпить два литра раствора марганцовки и поставили две трехлитровые клизмы. После выполнения этих процедур наш москвич из зеленого стал синевато-фиолетовым (возможно, от марганцовки). Вновь принесли дозиметр, приложили к животу – звенит! Процедуры повторили – результат тот же. Все приуныли. Но тут кто-то предложил снять с «облученного» рубаху и майку и проверить живот на радиоактивность еще раз. Так и сделали. Живот «молчал», но когда дозиметр поднесли к рубахе, раздался звонок. Оказалось, что вокруг одной из пуговиц накопилась радиоактивная пыль, которая и фонила. А рыба здесь была ни при чем...».



А.И. Таскаев(слева) – директор Института биологии Коми НЦ УрО РАН; Г.М. Козубов (справа) – научный руководитель лесного радиобиологического отряда. Обсуждение материалов по облученным лесам в зоне ЧАЭС, 1990 г..

5. РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХВОЙНЫХ В РАЙОНЕ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ КАТАСТРОФЫ

Освоение человечеством мощного источника энергии – энергии атомного распада и ядерного синтеза – сопровождалось возникновением сложных проблем обеспечения безопасности в случае непредвиденных аварий на ядерных установках, связанных с выбросом в окружающую среду радиоактивных веществ. Начиная с 1944 г. во всем мире произошли 294 радиационные аварии, из которых авария на Чернобыльской АЭС (ЧАЭС) занимает особое положение. Радиоактивное загрязнение свыше 5 Ки/км^2 ^{137}Cs (185 кБк/м^2) охватило площадь 2100 км^2 на Украине, 8100 км^2 в России, 14600 км^2 в Белоруссии. Свыше 1 млн. человек проживало к моменту аварии на этой территории (Международный чернобыльский проект., 1991). Впервые специалистам пришлось проводить обширные работы в условиях чрезвычайно высоких экспозиционных доз, достигающих десятков и даже сотен рентген в час. Значительный урон был нанесен хозяйству сопредельных стран: Польше, Швеции, Финляндии, Норвегии, Австрии, ФРГ, Румынии и др., на территории которых в ряде районов радиоактивное загрязнение составило около 1 Ки/км^2 (37 кБк/м^2). Уже в первые дни после аварии общая площадь, покрытая радиоактивными выпадениями, достигла 200 тыс. км^2 (Израэль, в соавт., 1994).

Опыт ликвидации аварии на ЧАЭС привел к пересмотру общей стратегии в строительстве и размещении атомных объектов как в странах СНГ, так и дальнего зарубежья. Наряду с инженерно-техническими и социально-экономическими проблемами немаловажное значение приобрели и радиоэкологические проблемы, особенно на территориях с радиоактивным загрязнением превышающим $80 - 120 \text{ Ки/км}^2$ ($2960 - 4440 \text{ кБк/м}^2$). Наибольшему радиационному воздействию подверглись природные экосистемы в 30-км зоне ЧАЭС, на значительной части которой радиоактивное загрязнение достигло в 1986 г. нескольких тысяч Ки/км^2 . Около половины всей площади 30-км зо-

ны занимают лесные насаждения, в связи с чем особое значение приобрела организация комплексных радиоэкологических исследований лесных фитоценозов в районе аварии на ЧАЭС. Следует отметить, что общая площадь радиоактивно загрязненных лесов к 1990 г. на Украине, в России и Белоруссии достигла 4 млн. га (Марадулин, 1991).

Радиоэкология как наука сложилась в начале 60-х годов, когда широкое использование атомной энергии в хозяйственной деятельности человека вызвало необходимость изучения путей миграции радионуклидов в природных экосистемах и влияния ионизирующего излучения на популяции и отдельные организмы растений и животных, на их жизнедеятельность и генетический аппарат. Радиационное воздействие на живые организмы приобрело значимость экологического фактора, что привело к возникновению радиоэкологии (Алексахин, 1979). Радиоэкологические исследования, проведенные в различных компонентах природной среды, показали, что лесные экосистемы играют важнейшую роль в поглощении и перераспределении радионуклидов и в то же время отличаются высокой радиочувствительностью (Woodwell, Sparrow, 1963; Тихомиров, Алексахин, 1971; Тихомиров, 1972; Юшков, 1987; Криволицкий и др., 1988).

Авария на ЧАЭС не имеет аналогов как по площади радиоактивного загрязнения, так и по мощностям экспозиционных доз. Общий выброс продуктов деления из поврежденного реактора составил около 50 млн. кюри, возможно и больше, причем наиболее значительный парциальный вклад в общую активность внесли ^{131}I , ^{144}Ce , ^{106}Ru , ^{134}Cs и ^{137}Cs , а впоследствии ^{90}Sr , которые благодаря своей высокой подвижности представляют наибольшую опасность для растений и животных (Информация..., 1986; Беляев, Боровой, 1993). Как известно, в отработанном топливе АЭС содержание этих радионуклидов, особенно Cs и Ce, во много раз превышает выбросы их при ядерных взрывах, что обуславливает длительное радиационное загрязнение на больших площадях вокруг аварийного реактора (Последствия ядерной войны, 1988, б).

5.1 Радиоэкологическая характеристика

В результате чернобыльской аварии произошли самые крупные из когда-либо зарегистрированных кратковременных выбросов радиоактивных материалов в атмосферу Земли из одного источника. В

кратко- и долгосрочном плане радиационную обстановку в загрязненных районах в основном определили 4 элемента: иод (^{131}I), цезий (^{134}Cs и ^{137}Cs), стронций (^{90}Sr) и плутоний ($^{238+239}\text{Pu}$ и ^{240}Pu). Общая активность выброшенных радиоактивных веществ из аварийного реактора составила около 50 млн. кюри, из них около 10 млн. кюри пришлось на ^{137}I и 2 млн. кюри на Cs. Радиоактивное облако над станцией в первый момент после аварии достигло высоты 1800 м (Международный чернобыльский проект., 1991). Выброшенные топливные «горячие» частицы содержали в своем составе ряд биологически активных альфа-излучателей: трансурановые элементы ^{+238}Pu , $^{239+240}\text{Pu}$, ^{+241}Pu , ^{241}Am , ^{242}Cm , ^{244}Cm . Суммарная активность по альфа-излучению топливных «горячих» частиц колебалась от 0,3 до 22 нКи, а удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ в них в среднем составила 3 мКи/см³. Это почти на три порядка выше, чем у «горячих» частиц, которые образуются при ядерных взрывах (Лощилов и др., 1991). К сожалению, до сих пор биологическая роль альфа-излучающих радионуклидов и их судьба в перспективе в районе аварии на ЧАЭС изучены недостаточно. В то же время имеются данные, что воздействие альфа-излучения в очень малых дозах приводит к повышению доли ненормальных митозов и к угнетению роста проростков растений, тогда как бета- и гамма-излучение в подобных дозах вызывает стимуляцию их роста (Куликов и др., 1990). Следует учитывать, что плутоний – один из высокотоксичных радионуклидов, с длительным периодом полураспада (^{238}Pu – 86,6, ^{240}Pu – 6620 и ^{239}Pu – 24100 лет). В продуктах выброса из аварийного блока 2/3 от общего содержания плутония пришлось на ^{239}Pu и ^{240}Pu . Плутоний довольно быстро включается в биохимические циклы миграции и в условиях района ЧАЭС его вынос может составлять от 1,4 до 9% в год (Павлоцкая, Мясоедов, 1991).

5.2 Морфогенез вегетативных побегов

В зоне сублетального поражения сосны поглощенные дозы в среднем составляли 8...10 Гр, хотя на отдельных участках они доходили до 40...60 Гр (Табл. 2). Как правило, подрост сосны 3 – 5-летнего возраста при этих дозах погиб полностью уже в 1986 г. В пораженных сосновых 30 – 40-летних насаждениях в этой зоне отмерло 25 – 30% деревьев, главным образом, угнетенных и произрастающих в неблагоприятных почвенных условиях (чаще всего из-за недостатка

влаги). На 90 – 95% сосен в сублетальной зоне к сентябрю – октябрю 1986 г. молодые побеги оказались полностью некротированными. Однако к этому периоду в верхней части большинства побегов, сформировавшихся в 1985 г., в пазухах укороченных побегов, заложились крупные замещающие почки. Часть этих почек в течение зимы 1986/1987 г.г. погибла, но большинство дало начало мощным молодым побегам со светло-зеленой корой и крупной хвоей. Вследствие этого явления в 1987 г. на концах побегов 1985 г. образовались своеобразные "короны", состоящие из 5 – 6 побегов, в центре которых находились некротированные побеги 1986 г.

Табл. 2. ЕДИНИЦЫ ВЕЛИЧИН В ОБЛАСТИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ²

Величина	Размерность величины	Наименование единицы	Обозначение единицы
Поглощенная доза излучения, керма	L^2T^{-2}	грей	Гр
Мощность поглощенной дозы излучения	L^2T^{-3}	грей в секунду	Гр/с
Активность нуклида в радиоактивном источнике (активность изотопа)	T^{-1}	беккерель	Бк
Интенсивность излучения	MT^{-3}	ватт на квадратный метр	Вт/м ²
Экспозиционная доза рентгеновского и гамма-излучения	$M^{-1}T^1$	кулон на килограмм	Кл/кг
Мощность экспозиционной дозы излучения. Время полураспада	$M^{-1}T$	ампер на килограмм секунда	А/кг с

Многопочечность. Это явление, характерное для сосен в дерево-стоях с поглощенными дозами 5 – 6 Гр и выше. На осевых верхушечных

² Из краткого справочника «Альфа и омега» 3-е изд., Таллинн, «Валгус», 1990 г. С.29

побегах и на первых 2 – 3 мутовках к осени 1986 г. заложилось по 15 – 20, а иногда и до 30 почек на одном побеге. Как правило, расположение почек было скученным, доминирующая терминальная почка при этом не выявлялась (рис. 8). Такие крупные почки достигали 1,5 – 2 см длины и 1 – 1,2 см в диаметре. Их покровные чешуи имели яркую темно-вишневую окраску. Зачатки побегов несли до 16 – 18 ярусов брахибластов при 6 – 8 в норме. Апексы брахибластов в весенний период 1987 г. в таких почках оказались цилиндрическими, не разделенными на две хвоинки, что свидетельствовало о задержке процессов эмбрионального развития брахибластов в 1986 г.

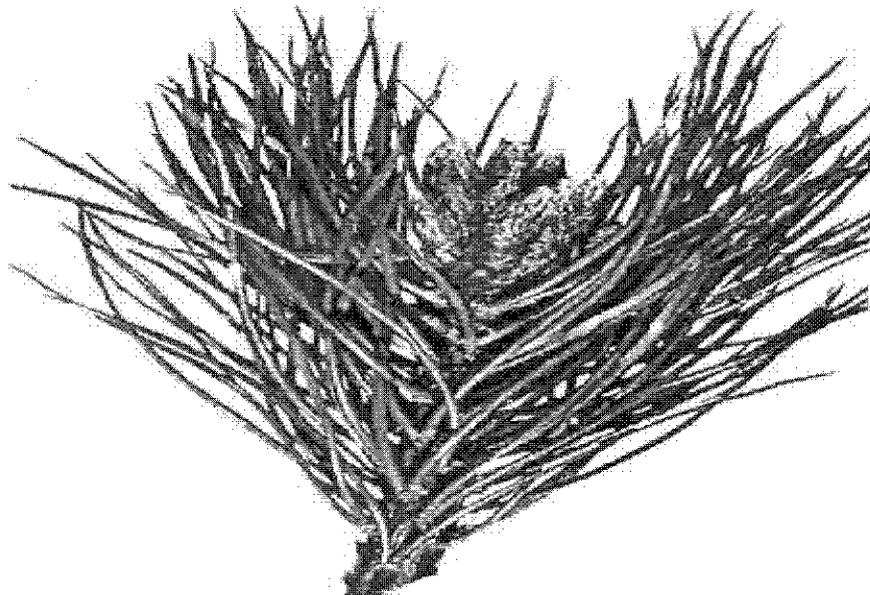


Рис. 8. Скопление укрупненных почек на верхушечном побеге сосны. Октябрь, 1986 г. Поглощенная доза – 3-5 Гр

Для укрупненных почек сосны, заложившихся на концах побегов в 1986 г., характерно значительное увеличение параметров отдельных почечных структур. Так, стебель зачатка побега по площади сечения превышал контроль в 13,5 раза и достигал 5 – 6 мм в диаметре. Особенно интенсивно развивалась сердцевина стебля, площадь поперечного сечения которой превышала контроль в 34 раза. При этом клетки сердцевины оказались «сжатыми» по вертикали и их диаметр составлял около 30 мкм. Как правило, побеги, несущие многочисленные крупные почки, отличались очень крупной хвоей, длина которой в 1,5 – 2,5 раза, а площадь поперечного сечения – в 2,6 – 5,6 раза превышала контроль. Для такой хвои, сформировавшейся в 1986 г., были характерны мощное развитие механических тканей и ряд других гистологических особенностей.

В следующем вегетационном периоде, весной 1987 г., большинство крупных почек пошло в рост с образованием кисти сгущенных побегов, на которых также сформировалась укрупненная хвоя, отличающаяся светло-зеленой окраской. Наряду с 2-хвойными встречались 3- и даже 4-хвойные брахибласты. К осени 1987 г. у этих растений на апикальных побегах заложилось по 6 – 8 и лишь на отдельных деревьях по 10 – 12 почек. В 1988 г. заложение почек на большинстве сосен практически нормализовалось, хотя общее их количество все же в среднем превышало контроль на 15 – 20%. Следует отметить, что к весеннему периоду 1988 г. у 80 – 85% всех обследованных сосен апикальные почки, заложившиеся в 1987 г., на верхушечных побегах отмерли, что привело в дальнейшем к двух- и многовершинности деревьев.

Израстание почечных чешуй. На 10 – 15% сосен, обследованных в сублетальной зоне осенью 1986 г., была обнаружена трансформация почечных чешуи в листоподобные образования, имеющие ланцетовидную форму и достигающие 4 – 5 см длины (рис 9). Из части

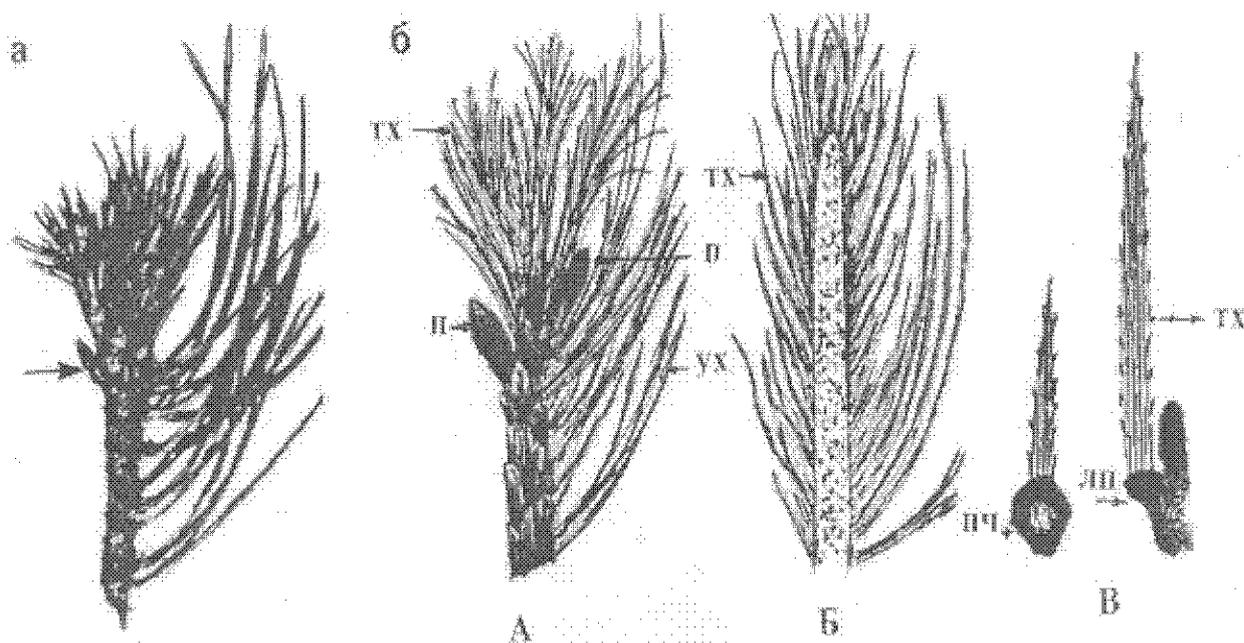


Рис. 9. Укороченный апикальный побег сосны с трансформированными почечными чешуями и хвоей, а также с крупными замещающими почками (показаны стрелками). Октябрь, 1986 г. Поглощенная доза – 3–5 Гр. а – фото; б – схема анатомического строения; А – вторичный побег сосны (октябрь 1986 г, 3–4 Гр) с трансформированной хвоей (tx), замещающими боковыми почками (п) и увеличенной парной хвоей (ух). Б – продольный срез аномальной почки, В – трансформированная хвоя: пч – почечная чешуйка, лп – листовая подушка

таких почек весной 1987 г. образовались мощные короткие побеги с крупной и жесткой хвоей, но большинство из них отмерло в зимний период 1986/87 г. Осенью 1987 г. израстание почечных чешуй было отмечено только на единичных соснах, а в 1988 и 1989 г.г. подобное явление уже не наблюдали вообще. У ели израстание почечных чешуй проявлялось довольно редко, но в отдельных случаях происходило мощное разрастание хвоинок, облегающих верхушечную почку (рис.10).

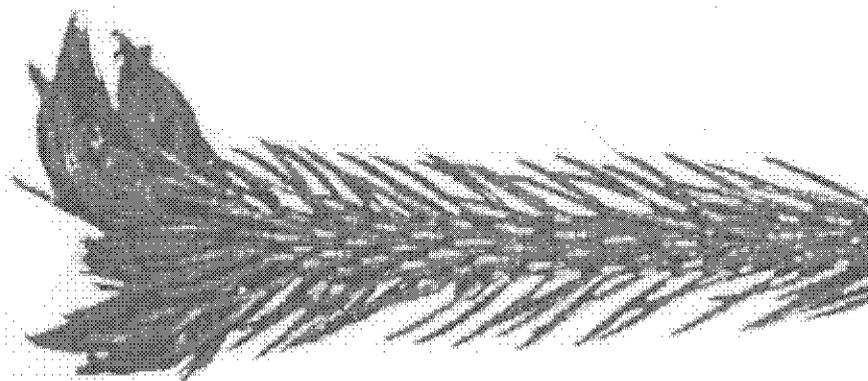


Рис. 10. Сильно разросшаяся «когтевидная» хвоя, облегающая апикальную почку ели. Октябрь, 1986 г. Поглощенная доза – 3 – 4 Гр

Вторичные приросты. На 20 – 30% обследованных сосен и елей осенью 1986 г. было отмечено образование коротких, утолщенных вторичных побегов. В ряде случаев на таких побегах на месте брахибластов сформировались вегетативные почки (рис 11). Как правило, такие побеги израстали из боковых верхушечных почек. В 1987 г. почки, заложившиеся на месте брахибластов, дали начало удлиненным вегетативным побегам.

Почки с некротированным апексом. Весной 1986 г. на многих соснах на участках с поглощенной дозой 4 – 5 Гр и более, отмерли молодые побеги не только в верхней, но и в нижней части кроны. У основания некротированных побегов к осени 1986 г. заложилось по две почки, одна из которых была нормальной вегетативной, а вторая имела удлиненную шиловидную форму (рис. 12). Такие сильно удлиненные почки состояли только из кроющих чешуй, а меристематический апекс в них был полностью разрушен.

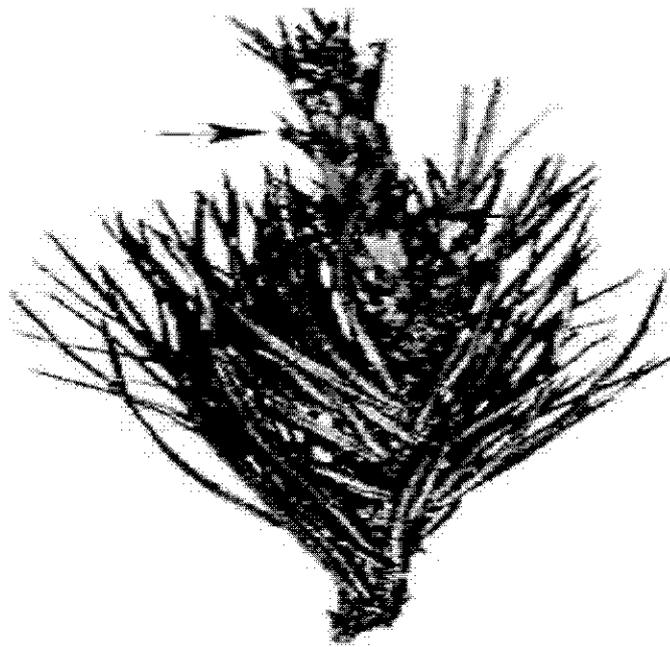


Рис. 11. Сильно укороченный вторичный побег сосны с замещающими боковыми почками вместо пар хвои (показаны стрелками) Октябрь 1986 г. Поглощенная доза 3 – 5 Гр

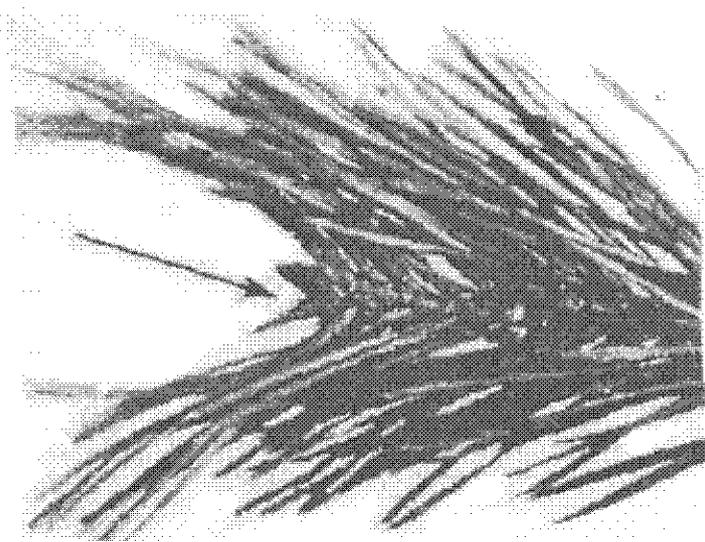


Рис. 12. Боковой побег сосны в нижней части кроны с редуцированной «шиловидной» (показана стрелкой) и нормальной почками, заложившимися на месте некротированной апикальной почки. Октябрь, 1986 г. Поглощенная доза – 3 – 5 Гр

Гигантизм листового аппарата. Радиационное воздействие в 1986 и 1987 г.г. привело в ряде случаев к резкому увеличению параметров листового аппарата как у хвойных, так и у лиственных древесных пород. При этом в 1986 г. гигантизм проявился у хвои сосны и ели при поглощенных дозах в интервале от 2 – 3 до 6 – 8 Гр (по гамма-излучению). Увеличение размеров хвои, как правило, было отмечено

но в апикальной части побегов у ели и у основания побегов у сосны. У лиственных пород гигантизм листьев был присущ в основном вегетационному периоду 1987 г. Наиболее четко он проявился у березы повислой при дозах 40 – 60 Гр и выше, у дуба красного при 8 – 10 Гр. Увеличение листовых пластинок с изменением их формы было выявлено в 1987 г. у дуба обыкновенного, рябины обыкновенной, липы мелколистной, акации белой и у некоторых других пород.

В 1986 г. на верхушечных побегах у отдельных деревьев ели, как уже упоминалось выше, сформировалась очень крупная чешуевидная хвоя, облегающая апикальную почку. Такие чешуевидные хвоинки сидели на сильно увеличенных листовых подушках. Площадь поперечного сечения чешуевидных хвоинок была в 8 раз больше, чем у нормальной хвои. В ней имелись два крупных и два более мелких смоляных канала. Такая метаморфизированная хвоя отличалась относительно слабым развитием покровных тканей, а также эндодермы и проводящих элементов. Клетки тканей в ней были заметно крупнее, чем у обычной хвои. Как правило, чешуевидная хвоя отличалась осевой асимметрией и изгибами, которые, возможно, вызывались некротизацией части клеток трансфузионной ткани, а также нарушением структуры клеток эндодермы.

В 1987 г. у большинства изучаемых на питомнике елей образовались мощные верхушечные побеги, стебли которых имели яркую коричневатую-кирпичную окраску. Листовые подушки на них были сильно увеличены. На побегах 1987 г. сформировалась крупная хвоя, достигающая 35 – 50 мм длины (рис. 13). Объем таких увеличенных хвоинок составлял 100 – 110 мм³, что в 10 – 15 раз больше, чем у хвои 1986 г. При этом парциальные объемы тканей в такой хвое были близки к норме. Подобная гигантская хвоя формировалась преимущественно на елях, получивших повышенную дозу радиации. Отмеченная тенденция к гигантизму хвои сохранилась и в 1988 г. Так, обмеры, проведенные в 1988 г., показали, что у елей на питомнике при поглощенной дозе 0,7 – 1,0 Гр только 3% имели массу 100 хвоинок более 2 г, тогда как при поглощенной дозе 2,5 – 3,0 Гр таких деревьев было 23%, а при дозе 3,0 – 4,0 Гр – уже 38,5%. Следует отметить, что форма гигантской хвои у ели была разнообразной: от слегка изогнутой до крючковатой, с отогнутыми вниз концами (рис. 14).

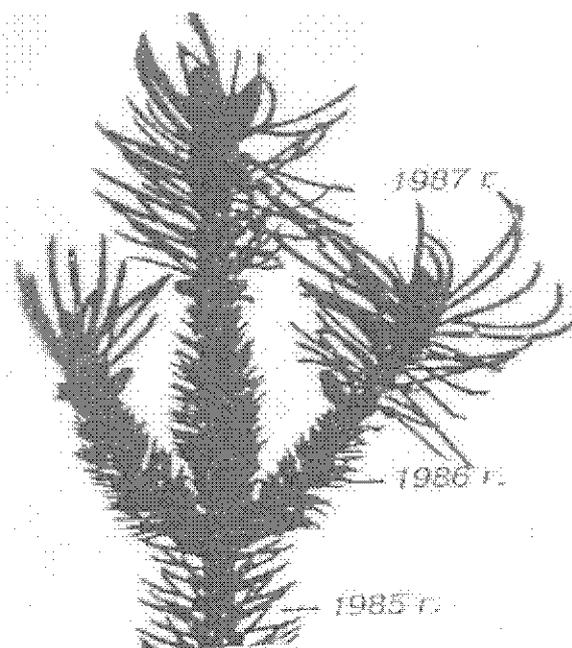


Рис. 13. Нормальная (1985 г.) Угнетенная (1986 г.) Гигантская (1987 г.) хвоя ели после облучения в дозе 8–10 Гр. Июль 1987 г. Поглощенная доза 5 – 8 Гр

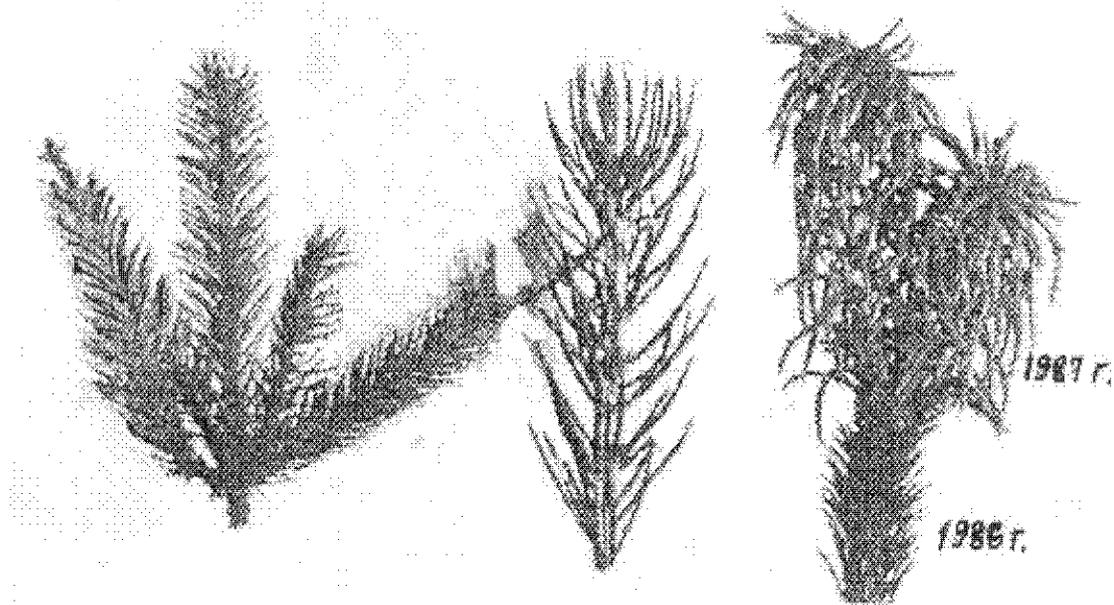


Рис. 14. Форма хвои ели: слева – нормальная, в центре – увеличенная, слегка изогнутая кверху, справа – укрупненная, «когтевидная», сильно изогнутая книзу. Июль, 1987 г. Поглощенная доза – 3 – 4 Гр

К 1988 г. у большинства изучаемых молодых елей жизнеспособность сохранили только 2 – 3 верхние мутовки, причем основная часть молодых побегов сформировалась из латеральных почек на осевом побеге. Это привело к образованию сильно сгущенной «шапки» темно-зеленых молодых побегов на верхушке дерева, ниже которой боковые

побеги либо усохли, либо с 1986 г. прекратили свой прирост. У некоторых деревьев крона при этом приобрела зонтиковидную форму, с повислыми верхушечными и боковыми побегами. Несмотря на значительное поражение практически всей надземной части молодых елей, отпад учетных деревьев за три года после аварии не превысил 5 – 6%, однако в последующие 1990 – 1992 г.г. по сравнению с сосной, значительно возрос, особенно на участках с повышенной плотностью радиоактивного загрязнения.

В зоне со средней степенью поражения сосны (поглощенная доза 5 – 6 Гр), в 1986 г. на верхушечных побегах хвоя сформировалась в основном только в апикальной части побегов, образуя густые щетки из укороченных хвоинок. Однако в ряде случаев хвоя этого года имела увеличенные размеры, превышая обычную по длине и ширине в 1.5 – 2 раза (рис. 15). Такая хвоя выделялась своей яркой голубовато-зеленой окраской и интенсивным восковым налетом. В 1987 г. подобная гигантская хвоя образовалась практически на всех деревьях с частично пораженной кроной, причем наибольшими размерами отличалась хвоя на соснах с более высокой степенью радиационного поражения.



Рис. 15. Хвоя сосны сформировавшаяся в 1986 г.: слева -2-й 3-хвойные брахибласты сильно увеличенные в размерах, справа – на контрольных участках

5.3 Заключение

Морфогенетический эффект радиационного воздействия на древесные растения в зоне аварии на ЧАЭС проявился в основном в

1986 и 1987 г.г. и был обусловлен острым облучением зачатков вегетативных органов, заложившихся еще в 1985 г., и хроническим облучением меристематических инициалей, сформировавшихся во второй половине вегетационного периода 1986 г. Наиболее типичными аномалиями в вегетативной сфере сосны и ели были многопочечность, израстание почечных чешуй, сильно укороченные вторичные побеги, массовое заложение боковых почек, гигантизм листового аппарата, образование побегов со сгущенной хвоей на верхушках деревьев и на боковых ветвях в верхней части кроны. Определенные отклонения проявились у облученных растений в ритмике роста и ориентации побегов. Все наблюдаемые аномалии были выявлены как в молодых, так и в средневозрастных насаждениях, однако в молодняках они возникали при меньших поглощенных дозах.

Облучение молодых сосен I класса возраста в дозах 1,5 – 3 Гр вызвало в целом уже в 1986 г. и в последующие годы стимуляцию ростовых процессов, хотя у отдельных деревьев при этом было отмечено и определенное подавление роста. У молодняков ели того же возраста при подобных поглощенных дозах в 1986 г. произошло значительное снижение энергии роста, уменьшение общей массы и параметров листового аппарата. Текущие линейные приросты побегов у сосны и ели имели высокую обратную зависимость от мощности поглощенных доз. Репарационные процессы в вегетативной сфере у сосны завершились в основном в 1988 – 1989 г.г., когда практически нормализовался рост побегов. Однако в сублетальной зоне большинство сильно пораженных молодняков и отдельные взрослые деревья сосны к этому времени полностью погибли.

Изучение динамики роста древесных пород по радиусу ствола показало, что значительное снижение приростов древесины у ели проявилось при поглощенных дозах 2 – 3 Гр (по гамма-излучению), у сосны – при 8 – 10 Гр, у березы, осины и ольхи черной – при 30 – 40 Гр и выше. У сосны минимумы текущего прироста по радиусу ствола наблюдали в 1987 – 1988 г.г., а у остальных изученных пород – в 1986 г. Как правило, у деревьев, сохранивших жизнеспособность, уже на второй год после спада прироста наступала его стимуляция, особенно интенсивно проявившаяся у ели и березы. На основании этого явления был разработан оригинальный метод биологической дозиметрии, позволяющий ретроспективно определять поглощенные

дозы с достаточно высокой достоверностью.

Анализ роста учетных деревьев сосны и ели при различных поглощенных дозах показал, что у молодняков сосны и ели, а также у 40-летних насаждений ели динамика текущего прироста по высоте синхронна приросту по радиусу ствола. У 50 – 60-летних сосняков минимум прироста по длине побегов также был отмечен в год острого облучения (1986 г.), однако минимум текущего прироста по радиусу ствола, как правило, наступал только через два года (в 1988 г.). Текущий прирост по высоте и линейный прирост боковых побегов у сосны и ели в большинстве случаев проявляли более высокую чувствительность к облучению, чем аналогичный прирост древесины по радиусу ствола.

По довольно многочисленным данным, как острое, так и хроническое облучение приводит к частичному или полному опадению хвои на молодых побегах, уменьшению ее размеров, появлению густохвойных укороченных побегов, снижению содержания хлорофилла и пожелтению хвои (Sparrow, Woodwell, 1962; Mergen, Thielges, 1966; Domini, 1967; Bostrack, Sparrow, 1969; Тихомиров, 1972; Алексин, 1979 и др.).

В 1987 – 1988 г.г. были найдены аномальные хвоинки с различной степенью срастания пар хвои: а) круглые хвоинки с одной цилиндрической проводящей системой, представляющие собой полностью сросшиеся две хвоинки; б) хвоинки с общим проводящим цилиндром, имеющим на поперечном срезе серповидную форму, с глубокой бороздой по всей длине сросшихся хвоинок; в) хвоинки с двумя обособленными проводящими цилиндрами, глубокой бороздой срастания по всей длине хвои. Кроме того, встречались крупные хвоинки, достигающие 12 – 14 см длины, с тремя проводящими пучками и сильно разросшейся эндодермой. В этой хвое вокруг смоляных каналов и в проводящем цилиндре имелись многочисленные клетки гиподермы с сильно утолщенными стенками. В мезофилле аномальной, гигантской хвои, в зоне, прилегающей к эндодерме, в ряде случаев имелся второй ряд более мелких смоляных каналов. Подобные аномалии в строения хвои сосны в 30-км зоне ЧАЭС были описаны также Н. Гольцовой с соавт. (1991). В зоне со средней степенью поражения сосны (поглощенная доза 5-6 Гр), в 1986 г. на верхушечных побегах хвоя сформировалась в основном только в апикальной части

побегов, образуя густые щетки из укороченных хвоинок. Однако в ряде случаев хвоя этого года имела увеличенные размеры, превышая обычную по длине и ширине в 1,5 – 2 раза.

5.4 Исследования генеративной сферы хвойных

Генеративные органы хвойных отличаются значительной сложностью своей организации и длительностью генеративного цикла. Так, если у большинства покрытосеменных растений функционирование репродуктивных структур длится несколько месяцев, то у ели, лиственницы, пихты и некоторых других видов хвойных созревание семян наступает в конце второго года после заложения генеративных органов, у сосны этот процесс длится три, а у можжевельника даже четыре года. По особенностям строения репродуктивные структуры хвойных, особенно в женской сфере, проявляют определенное сходство с половыми структурами представителей животного мира, особенно по своей ультраструктуре (Козубов, Кордюм, 1978).

В период наиболее активного радиационного воздействия на лесные фитоценозы на побегах сосны имелись женские шишки (макростробилы) второго года жизни и молодые, еще не опыленные шишки. На экспериментальных участках в зоне среднего радиационного воздействия с поглощенными дозами до 2 – 3 Гр к осени 1986 г. на соснах сохранились шишки второго года жизни с семенами и шишки первого года, в которых семяпочки находились на свободно ядерной стадии. В женских почках сформировались зачатки шишек. В пыльниках сосны к моменту аварии на ЧАЭС находилась пыльца, практически уже готовая к вылету из микроспорангиев. Таким образом, в репродуктивной сфере сосны острому облучению в 1986 г. подверглись шишки, заложившиеся в 1984 г. и опыленные в 1985 г. Оплодотворение в них в норме должно было наступить во второй половине июня 1986 г., а созревание и вылет семян – весной 1987 г. Молодые шишки, которые вступали в фазу цветения весной 1986 г., заложились в вегетационном периоде 1985 г. Все эти временные особенности генеративного цикла, к сожалению, не всегда учитываются исследователями-радиобиологами при оценке радиационного эффекта облучения репродуктивных структур хвойных, в том числе и сосны, произрастающей в районе аварии на ЧАЭС.

И.С. Федотов и др. (1979) установили, что облучение мужских

почек сосны обыкновенной в осенний период в интервале доз от 3 до 22 Гр вызывает снижение фертильности пыльцы и задержку ее созревания. Так, облучение мужских почек в дозе 6 – 12 Гр привело к запаздыванию созревания пыльцы следующей весной на 2 – 3 дня. При дозе 3 Гр фертильность пыльцевых зерен сосны снижалась на 10%, а при облучении в дозе 12 Гр во втором вегетационном периоде фертильность пыльцы понизилась по сравнению с контролем в 1,8 раза. Надежным показателем поглощенной дозы, по мнению авторов, могут служить размеры пыльников, количество пыльцы в них.

Исследование радиочувствительности микроспорогенеза у хвойных растений (Mergen, Johansen, 1963; Stairs, Troendle, 1969; Mergen, Stairs, 1970, и др.) показало, что в цикле развития мужских генеративных органов именно мейоз является наиболее восприимчивой фазой. Облучение почек сосны черной (*Pinus nigra*), сосны смолистой (*P. resinosa*), ели голубой (*Picea glauca*), ели обыкновенной (*P. abies*), находившихся в состоянии покоя, в дозах 500 Р и выше привело к увеличению частоты разрывов хромосом во время мейоза в анафазе I и II, в дозе 200 000 Р вызвало снижение жизнеспособности пыльцы на 50% (Stairs, Troendle, 1969). Доза 600 000 Р оказалась для пыльцы всех этих видов летальной. Однако при облучении пыльцы в небольших дозах отдельными исследователями был обнаружен стимулирующий эффект, который проявлялся в ускорении роста пыльцевых трубок у хвойных растений (Zelles et al., 1971; Zelles, Ernst, 1973; Zelles, Seibold, 1976).

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования радиочувствительности репродуктивных органов сосны обыкновенной, а также других видов хвойных растений при остром и хроническом облучении позволило выявить ряд особенностей в их реакции на интенсивность лучевого воздействия. Однако, как правило, подобные данные были получены лишь для отдельных видов в ограниченном диапазоне дозовых нагрузок. Многие морфофизиологические процессы, сопровождающие облучение опытных растений, остались не изученными. Исходя из изложенного выше, изучение репродуктивных процессов у хвойных растений в районе аварии на ЧАЭС представляет особый интерес.

Как уже упоминалось, в 30-км зоне ЧАЭС ель встречается только в виде небольших искусственно созданных насаждений. На пи-

томнике молодняки ели I класса возраста зацвели впервые в 1990 г., причем, шишки были обнаружены только на единичных деревьях. 40-летние насаждения ели в период 1986 – 1992 г.г. также обильно цвели и плодоносили только в 1990 г. Собрать достаточное для достоверных выводов количество партий шишек и семян не представилось возможным. Поэтому все приведенные далее материалы по влиянию ионизирующего излучения на репродуктивные процессы у хвойных растений относятся только к сосне обыкновенной.

Биологические свойства шишек и семян (Из воспоминаний М.В.Сурсо)

Конечным результатом генеративного цикла хвойных растений является образование семени. Биологические свойства которого обусловлены успешным прохождением всех этапов цикла. Морфологическая зрелость семян сосны определяется наличием в семени полностью развитого зародыша, выполненного эндосперма и нормальной оболочки. Физиологическая зрелость семян проявляется в их способности к прорастанию, в высоких показателях энергии прорастания, в сохранении стандартной всхожести в течение 4 – 6 лет и выживаемости сеянцев. В естественных условиях семена сосны вылетают из шишек весной, однако морфологическая и физиологическая зрелость их наступает в начале осенне-зимнего периода и заготавливать шишки сосны можно уже в октябре-ноябре, с последующим дозреванием при плюсовой температуре в течение одного месяца.

В 1986 г. удалось собрать образцы шишек сосны почти на всех экспериментальных участках и мощное, острое и хроническое облучение незначительно сказалось на размерах и общей массе шишек второго года развития. Так, при поглощенной дозе 8 – 12 Гр масса одной шишки была ниже контроля на 13% однако число семян в одной шишке снизилось с 21,3 до 6,8 шт., масса 1000 семян составила около 2 г, вместо 7 в контроле. Почти в 10 раз снизился выход семян, всхожесть по проращиванию также уменьшилась с 90,1 до 3%, а количество пустых семян возросло с 18 до 85,2%.

В 1990 – 1991 г.г. продолжалось изучение биологических показателей шишек и семян сосны на экспериментальных участках. Средние размеры шишек колебались в 1990 г. от 3,7 до 4,5 см длины и от 1,9 до 2,1 см в диаметре. Средняя масса одной свежесобранной шишки составила 6,5 – 9,1 г, воздушно-сухая масса 4,7 – 6,6 г соответственно. В

1991 году в основном сохранилось аналогичное положение, хотя жизнеспособность семян была несколько ниже, чем в 1990 г.

5.5. Микроспорогенез и жизнеспособность пыльцы.

Заложение зачатков микростробилов у сосны обыкновенной в районе исследований происходит в конце июня – начале июля. Как правило, мужские почки формируются в нижней части кроны, в так называемом мужском ярусе (Некрасова, 1960). Хотя реверсии пола побегов у сосны были уже неоднократно описаны, мужская сексуализация побегов в основном сохраняется в течение довольно длительного времени. Развитие микростробилов завершается весной следующего года, обычно в третьей декаде апреля, и спорогенные клетки приступают к мейотическому делению. После распада тетрад в микроспорах проходят два проталлиальных и одно митотическое деление. Созревание пыльцы и ее рассеивание происходят в районе ЧАЭС в среднем во второй декаде мая. Зрелая пыльца содержит две проталлиальные, одну вегетативную и одну генеративную клетку.

Острое и хроническое облучение после аварии на ЧАЭС, как уже упоминалось выше, привело к гибели в дозах 4 – 5 Гр и выше женских и мужских побегов (рис. 16). Подобное явление наблюдали на участках с сублетальным и средним уровнями поражения сосны.

Для цитологического анализа пыльцы с каждого учетного дерева срезали по 25 – 30 побегов, несущих микростробилы. Верхние части побегов с почками подсушивались в пакетах из кальки-восковки. Высыпавшуюся пыльцу с помощью сита очищали от растительных остатков и помещали в сухие продизенфицированные пробирки. Пыльцу хранили над хлористым кальцием при температуре 0 – 4°С.

Жизнеспособность пыльцы определяли методом проращивания на искусственной питательной среде (1%-ный агар на 10 – и 15 – 20%-ном растворе сахарозы). Проращивание проводили на предметных стеклах через 2 – 3 недели после сбора в термостате при температуре 26±2°С. Продолжительность проращивания составляла 72 ч. Поскольку проращивание пыльцы на 10%-ной сахарозе дало более устойчивые результаты для большинства вариантов, далее приводятся данные только поэтому варианту опыта. Для характеристики физиологической активности пыльцы был использован показатель средней длины пыльцевых

трубок. Все полученные материалы были обработаны статистически (Лакин, 1980).

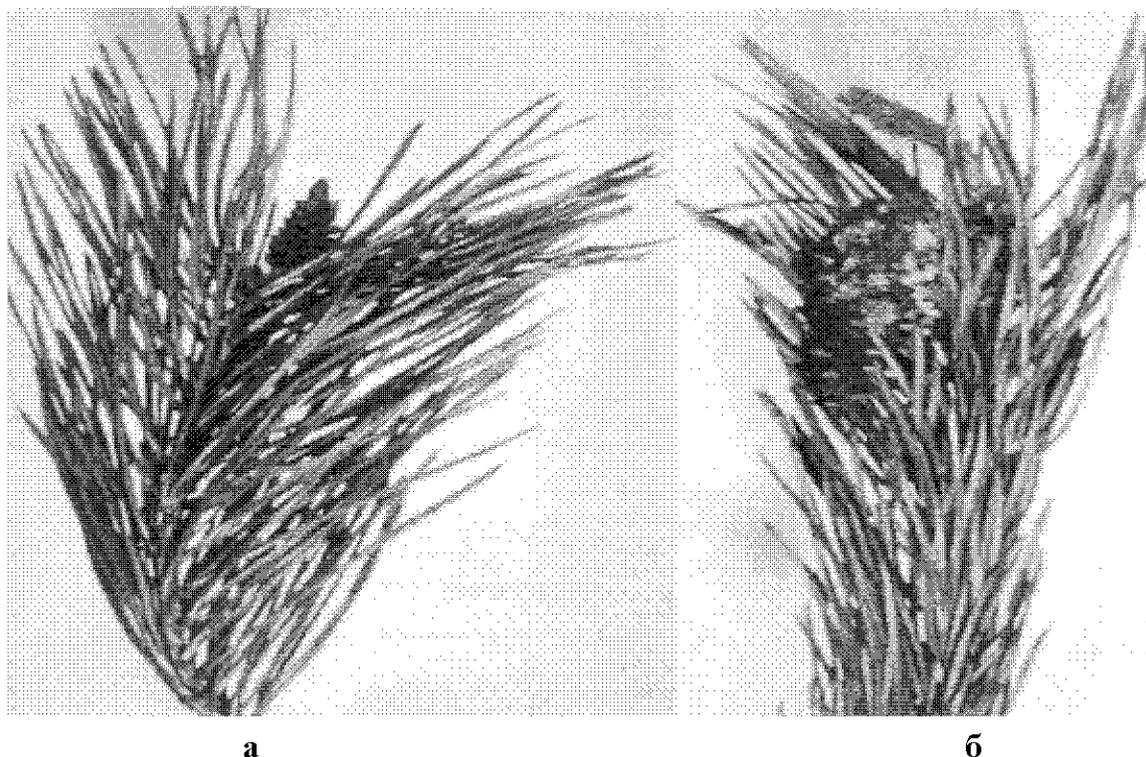


Рис. 16. Генеративные побеги сосны после острого облучения весной 1986 г. в дозе 5 – 8 Гр. Октябрь, 1986 г. *а* – некротизированный мужской побег с полностью сформированными микростробилами. *б* – женский побег с некротизированным молодым побегом 1986 г. и нормально развитой двухлетней шишкой на побеге 1985 г.

Шишки 2-го года развития проявили большую устойчивость к облучению и продолжали рост до нормальных размеров даже при поглощенных дозах 10 – 12 Гр, однако семена в них оказались почти полностью пустыми. Как показали рентгенографические исследования таких семян, некроз женского гаметофита наступил на свободно-ядерной стадии, т.е. непосредственно вскоре после «ударного» облучения в первые дни после аварии.

В целом показатели по массе 1000 семян, всхожести и энергии прорастания (при проращивании), жизнеспособности (при рентгенографии) на всех трех участках ели проявили четкую обратную связь с поглощенными дозами. В 1990 г. на всех участках, особенно на питомнике, у ели образовалось большое количество пустых семян: от 40 до 90%. Однако следует учитывать, что ель в районе исследований интродуцирована из других мест прорастания, что несомненно сказалось на качестве и урожайности ее семян. При прора-

щивании семян ели, собранных на экспериментальных участках в 1990 г., каких-либо аномалий у проростков не было обнаружено.

В 1986 г. проявилась четкая обратная зависимость посевных качеств семян сосны от поглощенной дозы: масса 1000 семян, их всхожесть и энергия прорастания снижались пропорционально поглощенным дозам, а число пустых семян закономерно возросло (см. выше).

В радиобиологической литературе, как уже упоминалось, неоднократно приводились данные о взаимосвязи радиочувствительности тканей различных организмов с размерами хромосом и объемом хроматина. Облучение ядерных структур, особенно белково-нуклеинового комплекса, во многом определяет ход пострадиационных процессов. Все хвойные растения, особенно сосна и ель, характеризуются крупными хромосомами и высокими содержанием ДНК в ядре (Козубов, Муратова, 1986).

Ретроспективная оценка поглощенных доз позволяет сделать вывод, что пороговые мощности дозовых нагрузок, после которых еще возможны восстановительные процессы, составляют для сосны обыкновенной 50-60 Гр/год, а для ели европейской – 10-12 Гр/год. При этом следует учитывать значительную индивидуальную изменчивость по радиоустойчивости у этих пород. Нарастание суммарных поглощенных доз в последующие после острого облучения вегетационные периоды какого-либо значимого влияния на морфогенетические процессы у древесных растений не оказывало.

Очевидно, процессы ежегодного омоложения всех основных тканей, которые характерны для многолетних древесных растений, приводят к снятию поражающего радиационного эффекта.

Массовые радиоморфозы проявились у сосны обыкновенной в 1986 и 1987 г.г. при поглощенных дозах по гамма-излучению 5 – 8 Гр, а у ели европейской – 2-4 Гр и выше.

Острое облучение сосны в 1986 г. при поглощенных дозах 4 – 5 Гр и выше вызвало ряд нарушений в репродуктивной сфере сосны: некроз молодых женских шишек и пыльников, возрастание числа пустых семян, снижение всхожести семян. В шишках 2-го года жизни при 10 – 20 Гр наблюдался практически полный некроз женского гаметофита на свободноядерной стадии. При остром облучении в 1986 г. была отмечена четкая корреляция лабораторной и грунтовой

всхожести семян с мощностями поглощенных доз. Острое и хроническое облучение при мощностях поглощенных доз от 1,5 – 2,0 до 10 – 12 Гр привело в 1987 г. к появлению в мейозе значительного числа хромосомных аномалий в микроспороцитах сосны: от 15 – 20 до 40 – 60% от общего числа учтенных делений. В 1988 г. количество хромосомных аномалий значительно снизилось и репродуктивные процессы на большинстве экспериментальных участков практически нормализовались, всхожесть семян оказалась близкой к норме. Отдельные аномалии в 1990 – 1991 г.г. наблюдались только на двух участках с мощностями экспозиционных доз на почве 6 – 7 и 25 – 20 мР/ч.

Острое облучение в 1986 г. сказалось ингибирующим образом на приросте древесины по радиусу ствола. По радиочувствительности все изученные породы можно расположить в следующий ряд: ель → сосна → береза → ольха черная → осина.

5.5.1. Вариации ветвления пыльцевых трубок

При проращивании облученной пыльцы было обнаружено значительное разнообразие форм роста и ветвления пыльцевых трубок. Наряду с характерным для сосны дихотомическим ветвлением встречались различные вариации многократного ветвления пыльцевых трубок по типу «оленьих и лосиных рогов» и т.д. Некоторые подобные аномалии в ответвлении пыльцевых трубок были ранее описаны для сосны подвергнутой воздействию ионизирующей радиации (Mergen, Joansen, 1963). Наибольшим разнообразием морфологических аномалий при проращивании пыльцы отличались насаждения сосны на участках 2 и 3. Следует отметить, что часть подобных вариаций ветвлений пыльцевых трубок встречалось и в контроле, но значительно реже. Характерно, что аналогичные аномалии в росте пыльцевых трубок проявились при проращивании пыльцы, собранной в 1990 г. на участке 2 с деревьев с признаками радиационного поражения в 1986 г., но полностью нормализовавших свой рост к 1990 г. (рис.17).

Подобное явление, очевидно, вызвано, отдаленным эффектом острого облучения, а также довольно высоким экспозиционным дозами, которые на этих участках составили в 1990 г. 6 – 8 мР/ч.

Пыльца собиралась в период цветения сосны в мае 1990 г. и проращивалась осенью того же года.

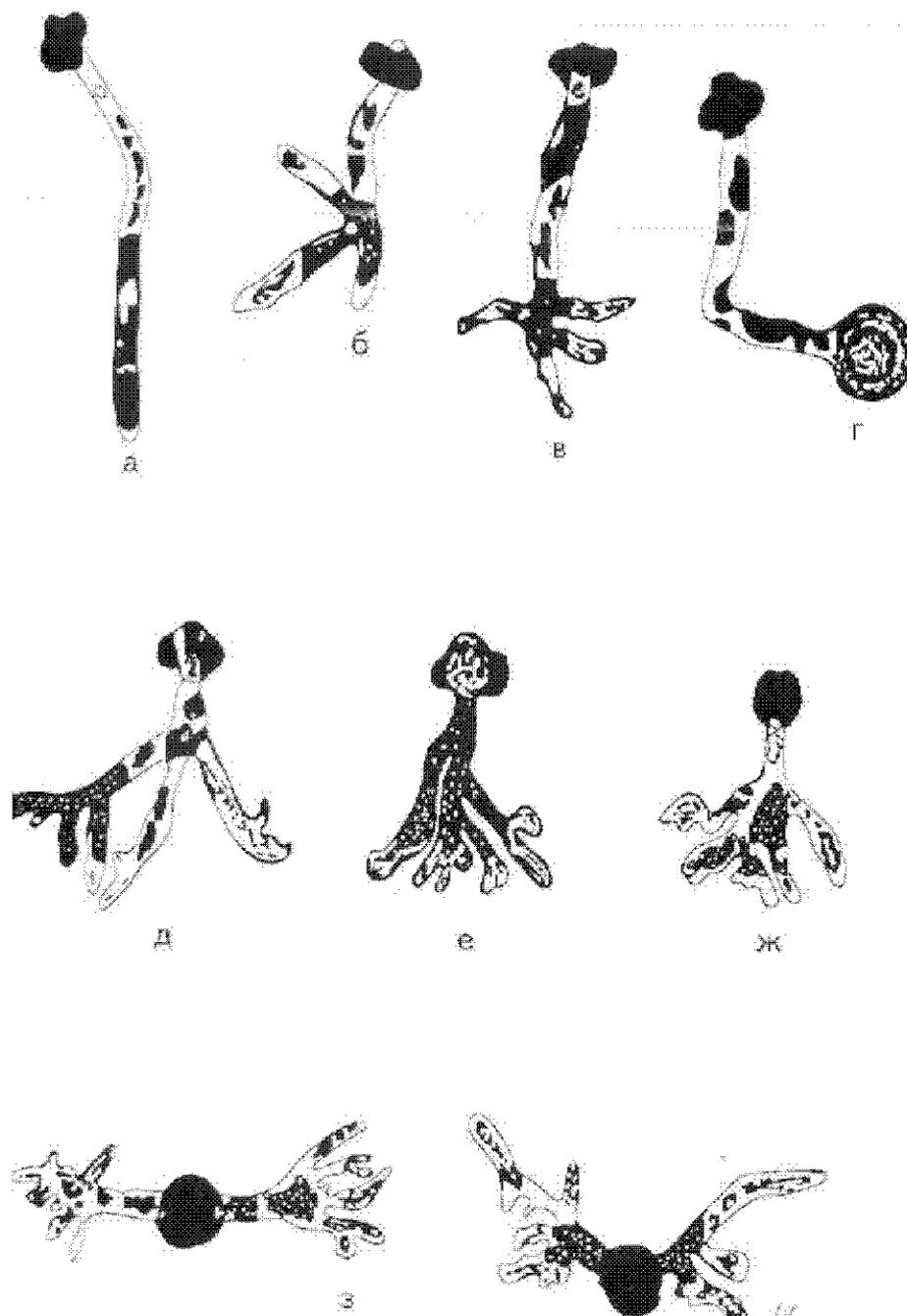


Рис. 17. Пыльцевые трубки при прорастивании сосны пыльцы на питательной среде: одиночная (а); слабоветвящиеся трубки (б, в); одиночная с шаровидным вздутием (г); сильно ветвящиеся (г-ж); типа «лосиных рогов» (з, и). 1990 г. Поглощенная доза – 5-8 Гр (Рис. М.В.Сурсо)

ПРИЛОЖЕНИЕ

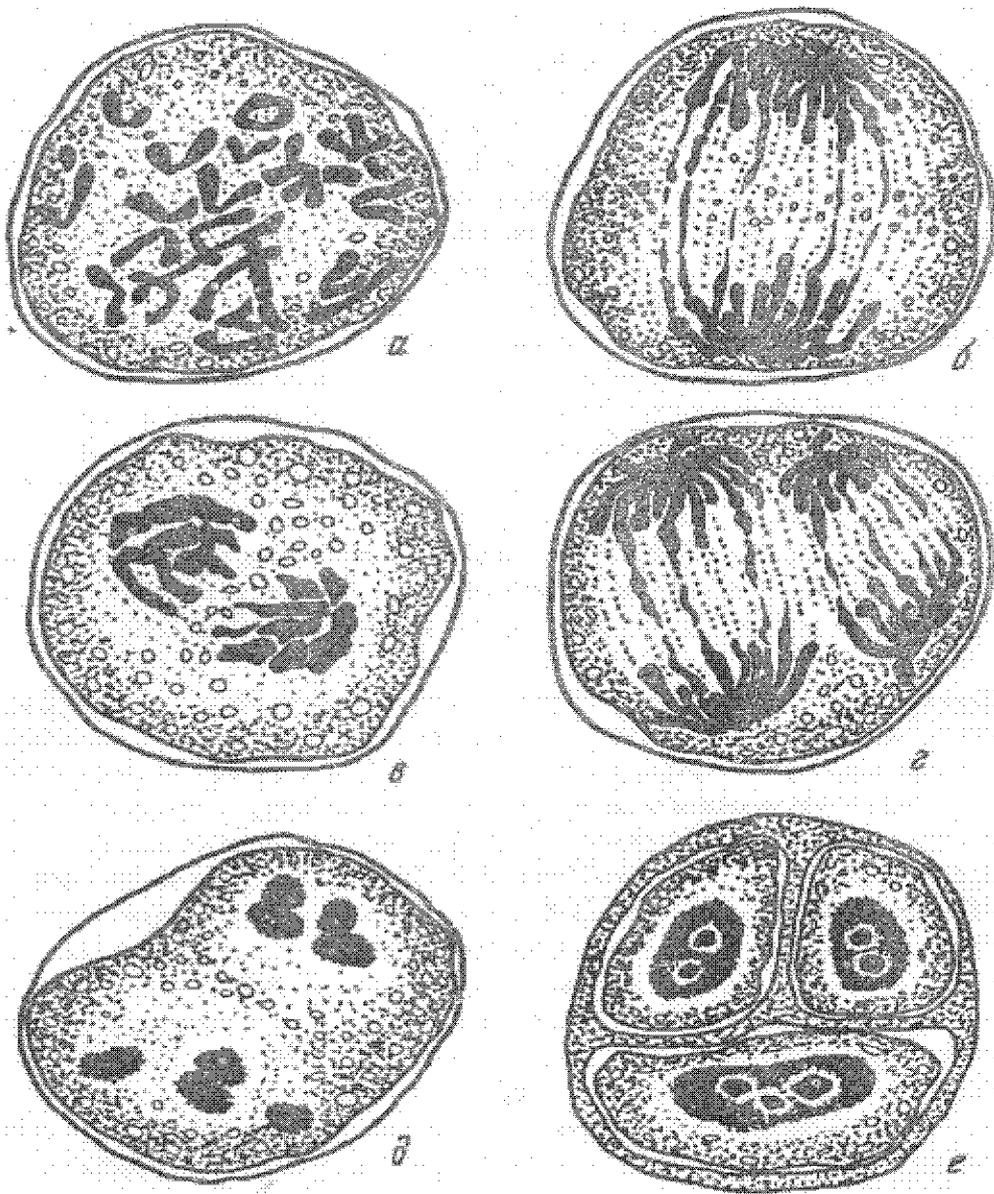


Рис. 1. Аномалии в микроспорогенезе у сосны в весенний период 1987 г.: аномальная метафаза с кольцевой хромосомой (а); хромосомные «мосты» в анафазе I (б) конденсированный хроматин в анафазе I (в); хромосомные «мосты» в анафазе I (г) и анафазе II (д) аномальная тетрада (триада) с диплоидной микроспорой (е)

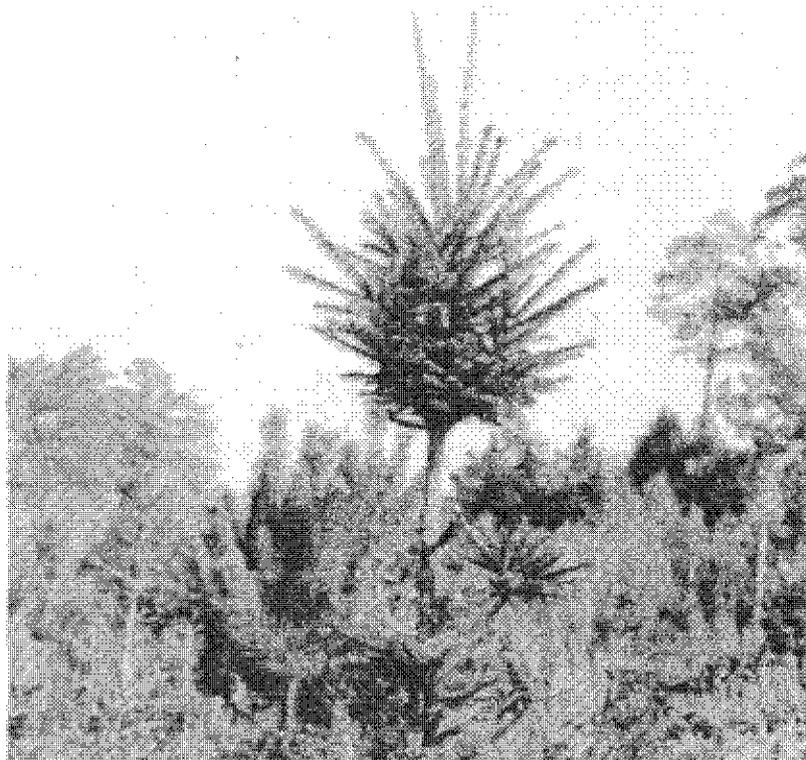


Рис. 2. Молодая ель с сильно пораженной кроной и «шапкой» молодых побегов в верхней части ствола. Август, 1988 г. Поглощенная доза – 3-4 Гр

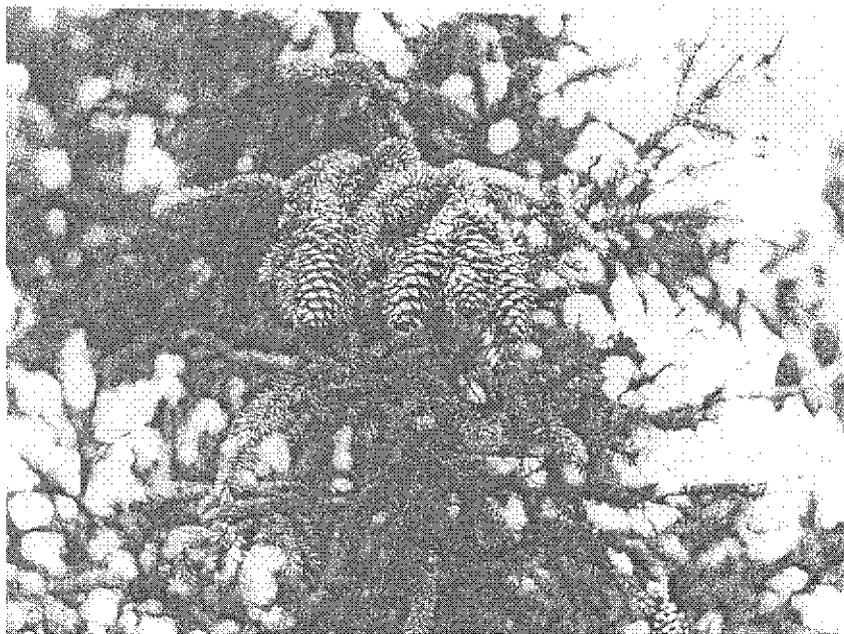


Рис. 3. Аномальный женский побег ели с тремя шишками на Ново-Шепеличском лесном питомнике в 2000 г. Фото А.И. Патова



Рис. 4. Ель с зонтиковидной формой кроны в верхушечной части. На остальной части ствола все ветви отмерли. Октябрь, 1990 г. Поглощенная доза – 3-4 Гр. Фото М.В. Сурсо

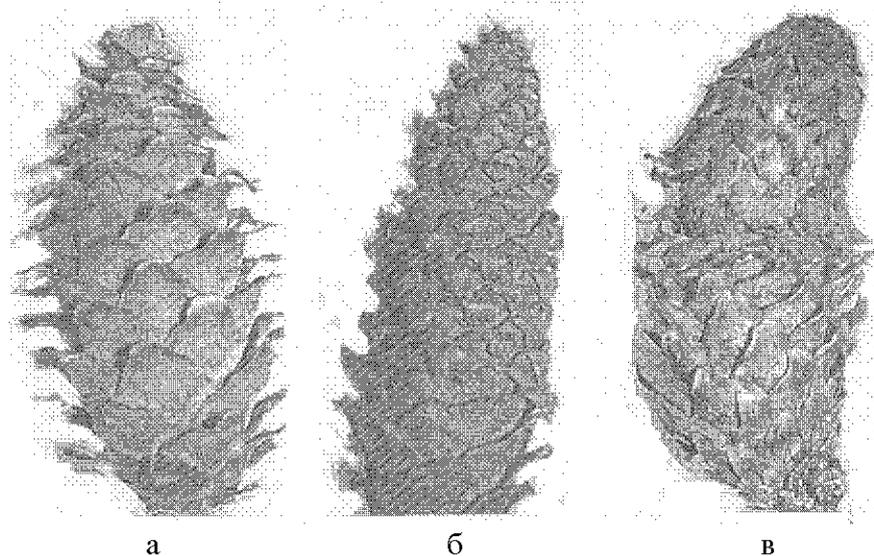


Рис. 5. Аномальные шишки, сформировавшиеся в 1990 г. на 14-летних елях (Ново-Шепеличский лесной питомник) Октябрь, 1990 г. а – с широкими, отогнутыми на концах семенными чешуями; б – с заостренными, сильно загнутыми концами семенными чешуями; в – с дезориентированным расположением семенных чешуй в верхней части шишки. Поглощенная доза – 3-4 Гр. Фото М.В. Сурсо



Рис. 6. 23-летняя ель с угнетенным ростом на Ново-Шепеличском лесном питомнике. Форма – «ель в юбке». Октябрь, 200 г. Фото А.И. Патова



Рис. 7. Мужские сережки березы с расщепленными апикальными частями. 1987 г. Поглощенная доза – 10-12 Гр

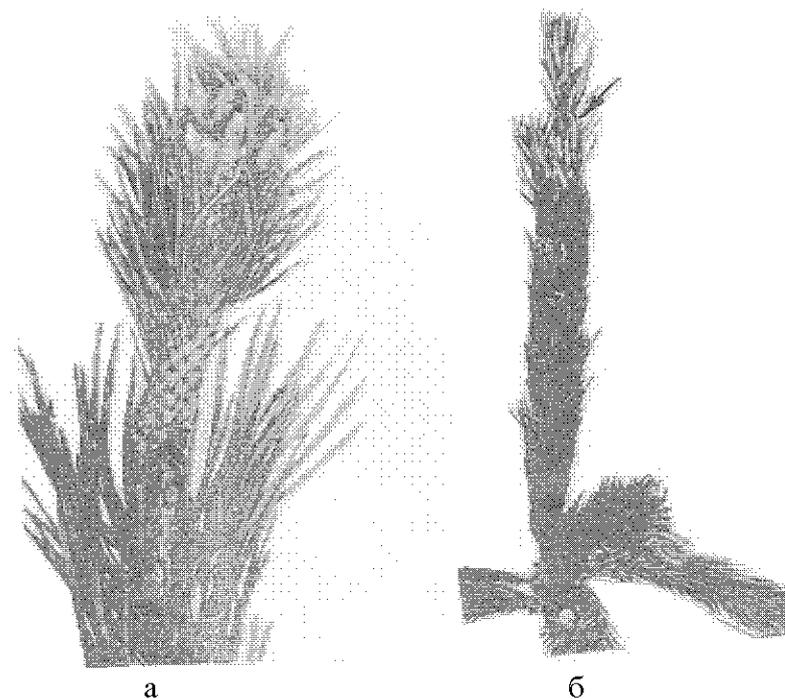
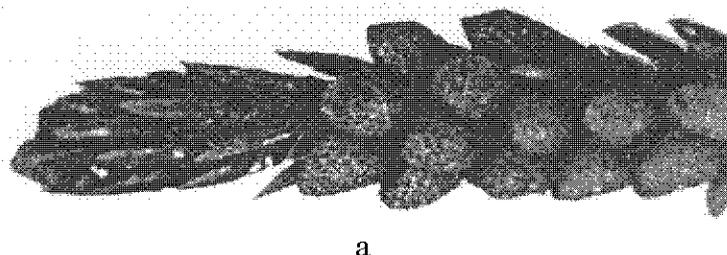
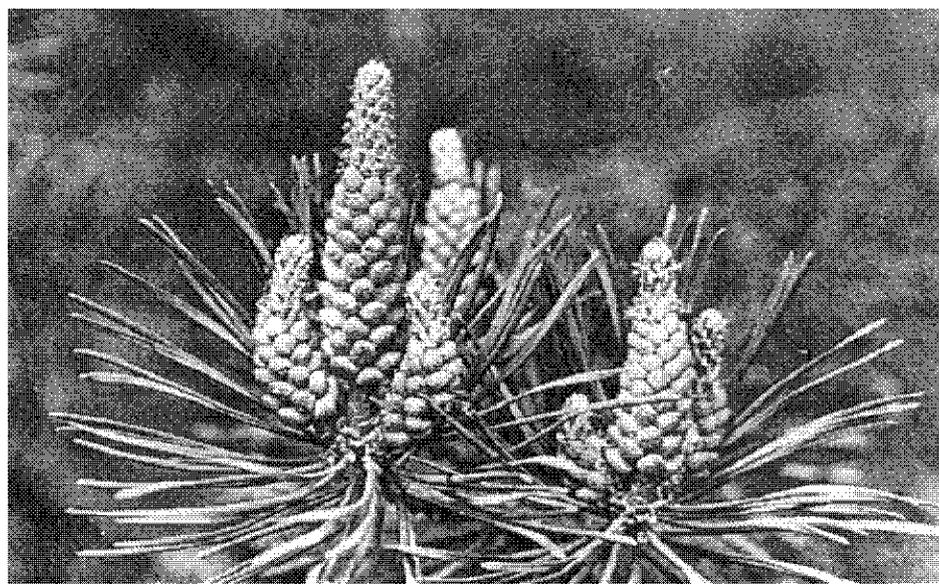


Рис. 8. Укороченный верхушечный побег сосны с многочисленными замещающими почками в апикальной части (а) и верхушечный побег ели (б) с сильно сгущенной крупной хвоей. Октябрь 1986 г. Поглощенная доза: а – 5 – 8 Гр. б – 3 – 4 Гр



а



б

Рис. 9. Укрупненные аномальные собрания микростробилос сосны в сублетальной зоне с поглощенной дозой 20 -25 Гр: а) мужской побег с крупными разрыхленными микростробилами (май 1989 г.); б) – крупные собрания микростробилос с аномальным заложением в апикальной части верхушечных побегов (май 1990 г.) Сосна Банкса. Фото В.В. Алексеева (А)

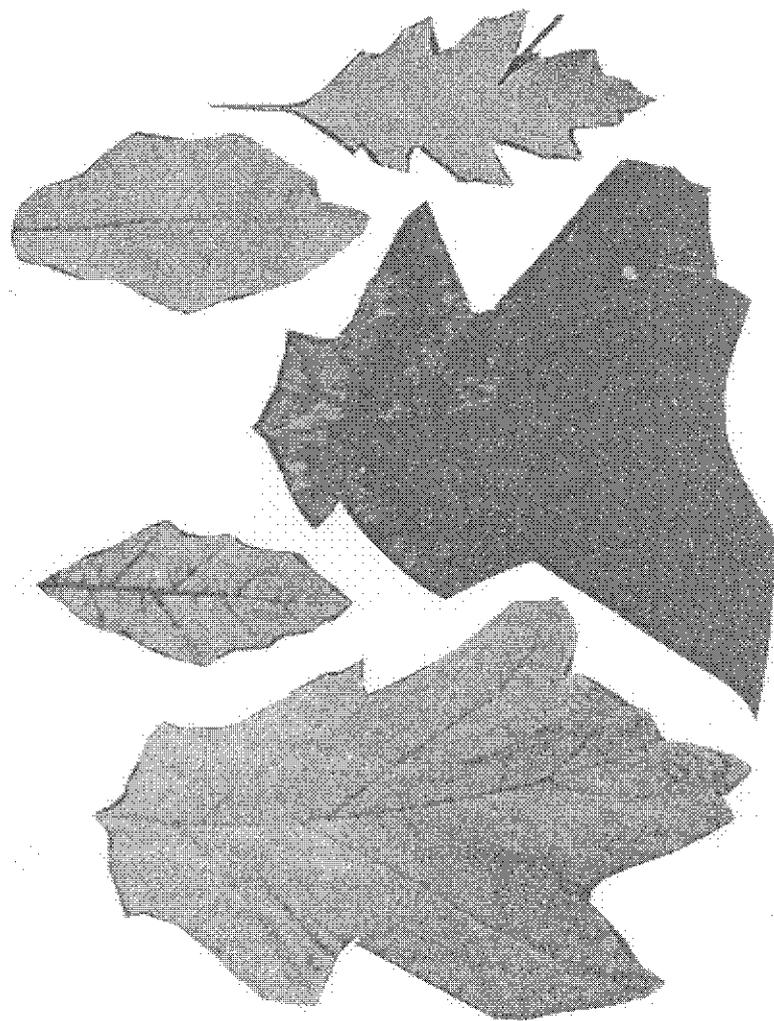


Рис. 9. Метаморфизированные листья дуба красного, сформировавшиеся в 1987 г. при радиационном воздействии в дозе 10-12 Гр. В верхней части – нормальный лист (показан стрелкой)

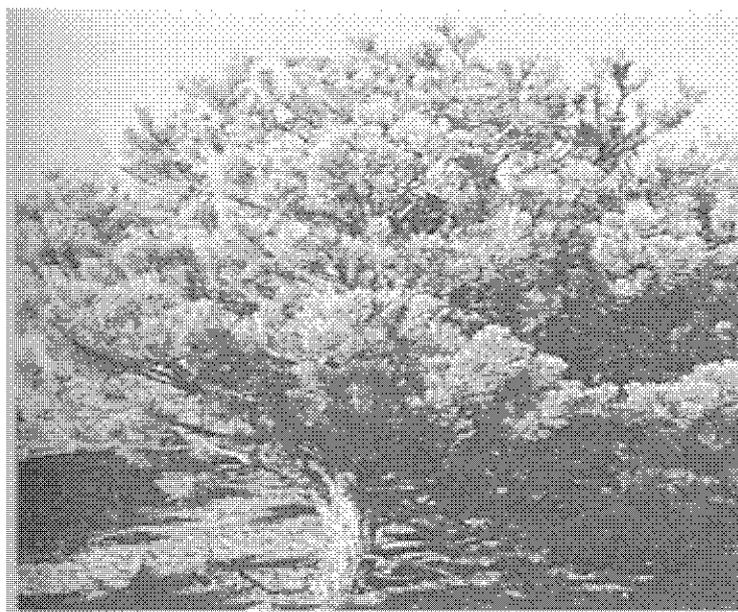


Рис. 10. Карликовая форма сосны на месте захоронения «рыжего» леса с утолщенным коротким стволом и густой шаровидной кроной. Биологический возраст – 15 лет. Октябрь, 2000 г. Фото В.А. Козлова

ТЕРМИНОЛОГИЯ ПО ГЕНЕТИКЕ, ЦИТОЛОГИИ И СЕЛЕКЦИИ

А

Автодупликация (редупликация, репликация) – способность живых организмов или частей клеток, хромосом, пластид, митохондрий) синтезировать из окружающей среды вещества, полностью идентичные имеющимся в исходной структуре, вследствие чего происходит самоудвоение этих структур. Компоненты среды, необходимые для автодупликации, могут быть неорганического или органического происхождения. Основой А. хромосом служит самоудвоение молекул ДНК (см. ДНК-редупликация).

Агамогония – бесполое размножение. Происходит путем простого деления ядра с последующим делением клетки или путем почкования организма.

Аденин (6-Аминопурин) – азотистое основание, производное пурина, входящее в состав нуклеотидов ДНК и РНК. Молекула А. состоит из пиримидинового и имидазольного колец. Комплементарным основанием к А. в молекуле ДНК является тимин, а молекула РНК – урацил. С этими веществами А. соединен двумя водородными связями, а с рибозой или дезоксирибозой А. образует гликозидную связь.

Азотистые основания – химические соединения, входящие в состав нуклеотидов нуклеиновых кислот. А. о. являются производными органических азотсодержащих гетероциклических соединений – пурина и пиримидина. В молекулах ДНК они представлены пуриновыми основаниями – аденином и гуанином, пиримидиновыми основаниями – цитозином и тиминем. В молекулах РНК вместо тимина имеется урацил.

Азотистых оснований комплементарность – строго определенная дополнительность азотистых оснований по отношению друг к другу: аденин одной полинуклеотидной цепи молекулы нуклеиновой кислоты всегда связан с тиминем (в РНК – с урацилом), а гуанин – с цитозином. Таким образом, аденин комплементарен тимину (урацилу), гуанин – цитозину.

Алломиксис – перекрёстное оплодотворение.

Аллосомы – см. Хромосомы половые.

Амитоз – прямое деление интерфазного ядра путем его перешнуровки без возникновения структур, характерных для митоза. Встреча-

ется преимущественно в клетках высокоспециализированных тканей и в клетках тканей временного характера (нуцеллус, эндосперм, перисперм, паренхима и др.), а также при делении патологически измененных клеток, например раковых. А. может проходить как в период синтеза ДНК, так и в постсинтетический. В процессе А. сначала удлиняется и перешнуровывается, делясь на два, ядрышко, затем делится на две части все ядро. После цитокинеза клетка делится на две дочерние. Ядерный материал при А. даже в случае деления ядра на две части распределяется между дочерними клетками неравномерно. При отсутствии цитотомии А. приводит к возникновению полиплоидных клеток.

Амфимиксис (эугамия) – обычный тип полового процесса, при котором зародыш образуется в результате слияния женской и мужской гамет с последующей кариогамией. Явлением, противоположным А., является апомиксис (см. Апомиксис).

Анафаза мейоза. Различают анафазу первого редукционного (AI) и второго эквационного (AII) делений мейоза.

В AI координированные центромеры диад бивалентов, влекомые притяжением полюсов и действием тянущих митотических нитей, начинают двигаться к противоположным полюсам клетки. Хиазмы, до этого момента сдерживающие бивалент как целое, начинают исчезать. Причем в первую очередь исчезают терминальные хиазмы коротких бивалентов, вследствие чего их диады в движении к полюсам опережают диады длинных бивалентов, которые из-за наличия нескольких хиазм разъединяются несколько позднее. Диады бивалентов, состоящие из редуцированных отцовских и материнских хромосом, расходятся к полюсам совершенно случайно, не проявляя ни малейшей тенденции к группированию только материнских или отцовских хромосом. Хроматиды при анафазном движении диад продольно разъединены и сдерживаются вместе только общей центромерой. В конце AI они снова соединяются по всей своей длине. Таким образом, в результате анафазного разделения бивалентов у полюсов клетки сосредоточивается по гаплоидному числу хромосом (диад), т. е. происходит редукция числа хромосом вдвое.

А II по кинетике соответствует анафазе обычного митоза разница между ними заключается в числе и характере функционирующих единиц: в анафазе митоза к каждому полюсу отходит диплоидное число хроматид, генетически различных после мейотического кроссинговера.

Ангстрем (А) – мера длины, равная 10^{-8} см. Служит для измерения субмикроскопических структур клетки, изучаемых при помощи электронного микроскопа.

Анемофилия (анемогамия) – ветроопыление (см. опыление анемофильное).

Апомиксис – способ семенного размножения, когда отсутствует кариогамия и зародыш развивается из клеток гаметофита при различных нарушениях спорогенеза и полового процесса вплоть до полного их отсутствия. А. также определяется как бесполое размножение. Систематизация феноменов этого чрезвычайно сложного и многообразного явления довольно трудна. Наиболее удобна эмбриологическая классификация разновидностей А., при которой учитывается характер спорообразования и формирования гаплоидного или диплоидного гаметофита. При этом все формы А. можно разграничить на три группы.

Первая группа. Формы А., основанные на эуспории, т. е. образовании спор в процессе нормального мейоза. Тетрада макроспор в этом случае включается в нормальный макрогаметогенез, когда три макроспоры дегенерируют, а четвертая развивается в гаплоидный зародышевый мешок. При вторичном разделении форм А. при эуспории различают: 1) партеногенез стимулятивный (с псевдогамией) и автономный (без опыления); 2) андрогенез; 3) синергидную апогаметию. Поскольку во всех случаях А. при эуспории зародыш развивается из гаплоидных клеток, приведенные формы А. называются редуцированными, или гаплоидными.

Вторая группа. Формы А., основанные на анэуспории, когда образуются диплоидные споры (диплоспория), вследствие тех или иных нарушений в мейозе макроспороцита, или основанные на апоспории, когда споры вовсе не образуются, а зародышевый мешок формируется непосредственно из материнской клетки макроспор (макроспороцита). Поскольку в обоих случаях образуются диплоидные нередуцированные зародышевые мешки, формы А. этой группы называются нередуцированными, или диплоидными. Сюда входят: 1) семигамия; 2) стимулятивный (с псевдогамией) и автономный (без опыления) партеногенез; 3) синергидная и антиподная апогаметия.

Третья группа включает различные формы адвентивной эмбрионии. Развитие зародыша при адвентивной эмбрионии происходит не из

клеток гаметофита, как во всех остальных случаях A_n , а из клеток спорофита (нуцеллуса или интегумента), что приближает этот тип развития к вегетативному размножению. Однако тот факт, что развитие сформированного из вегетативной клетки зародыша может проходить только в зародышевом мешке (гаметофите) и этот зародыш в дальнейшем развивается в семя, дает все основания отнести адвентивную эмбрионию к A_n .

При A_n чередование полового и бесполового поколений не сопровождается, как это наблюдается при амфимиксисе, сменой ядерных фаз. Половое и бесполовое поколения при A_n имеют одно и то же число хромосом: гаплоидное – при редуцированных формах A_n (первая группа) или диплоидное – при нередуцированных формах A_n (вторая и третья группы).

Аутосомы – обычные неполовые хромосомы.

Г

Гаметогенез – процесс образования гамет, мужские гаметы образуются вследствие микрогаметогенеза, женские – макрогаметогенеза.

Микрогаметогенез. С преобразования микроспор в пыльцевые зерна начинается формирование мужского гаметофита. Гаплоидное первичное ядро пыльцевого зерна после более или менее продолжительной интерфазы митотически делится, образуя две клетки. Одна из них – крупная, с большим ядром и ядрышком и вакуолизированной цитоплазмой, – называется вегетативной клеткой. Ядро второй, значительно меньшей по размеру и прилегающей к оболочке пыльцевого зерна клетки, более плотное и содержит много ДНК, а густая цитоплазма – много РНК. Эта клетка называется генеративной. Позже генеративная клетка отходит от оболочки пыльцевого зерна и располагается в цитоплазме вегетативной клетки, обеспечивая таким образом свой рост и развитие за счет последней. У части покрытосемянных растений развитие мужского гаметофита на этом приостанавливается и пыльцевое зерно до попадания на рыльце остается двухклеточным. Лишь когда вегетативная клетка пыльцевого зерна прорастет пыльцевой трубкой в столбик гинецея, происходит митотическое деление генеративного ядра на два спермия (спермиогенез). У другой части растений спермии образуются еще до прорастания пыльцевого зерна.

Макрогаметогенез. При гаметогенезе в семязпочке (развитие женского гаметофита) митотически делится ядро халазальной макроспоры.

Установлено, что метаболическая активность цитоплазмы этой макроспоры выше в ее верхней микропилярной части, что в дальнейшем обуславливает повышенную жизненность локализующихся здесь клеток. Первое деление ядра макроспоры приводит к образованию двухъядерного зародышевого мешка, в результате последующих двух делений образуется восьмиядерный зародышевый мешок. Все деления ядер происходят синхронно, вновь образующиеся ядра расходятся к полюсам зародышевого мешка, который в это время усиленно растет и вакуолизируется. После третьего деления начинается образование клеток: в микропилярной части образуется яйцеклетка (см.) и две синергиды (см.), в халазальной части – три антиподы (см.). Ближе к обоим полюсам находится по одному полярному ядру, слияние которых впоследствии приводит к образованию диплоидного вторичного ядра.

Образованием спермиев или яйцеклетки гаметогенез заканчивается. Следует подчеркнуть, что микроспорогенез и микрогаметогенез, макроспорогенез и макрогаметогенез являются биологически едиными последовательными процессами характерных для каждого этапа делений клеток.

Гаметы – зрелые мужские и женские половые клетки, содержащие гаплоидное вследствие редукции в мейозе число хромосом. Мелкие, как правило, подвижные мужские Г. (сперматозоиды, или спермин) называются микрогаметами, более крупные и неподвижные женские (яйцеклетка) – макрогаметами. Слияние ядер Г. в процессе оплодотворения приводит к образованию зиготы. Если сливающиеся Г. морфологически одинаковы, они называются изогаметами, если они морфологически дифференцированы – анизогаметами. Г. могут нести и диплоидное число хромосом, например при семигамии и диплоидном партеногенезе как формах нередуцированного апомиксиса. Однако оплодотворения диплоидной яйцеклетки в этих случаях не происходит.

Гаплоидный набор хромосом – одинарный набор хромосом (n), в котором из каждой пары гомологичных хромосом представлена только одна хромосома. Г. n . х. содержится в гаметах диплоидов или в соматических клетках моногаплоидов, развившихся из этих гамет партеногенетическим или андрогенетическим путем.

В более широком смысле термин Г. n . х. применяется и к гаметическому числу хромосом в клетках или особях, произошедших от полиплоидных организмов (полигаплоиды), несмотря на то, что в этом

случае Г. н. х. содержит два или даже больше одинарных наборов хромосом.

Генезис – происхождение, возникновение или процесс образования.

Генеративные органы – органы, связанные с осуществлением полового размножения.

Гермафродит – обоеполый организм, у которого образуются и мужские и женские половые клетки. Все однодомные виды растений являются Г.

Гетерозис – увеличение мощности и жизнеспособности, повышение продуктивности гибридов первого поколения по сравнению с родительскими формами. Г. истинный – превосходство гибрида по какому-нибудь признаку над лучшим родителем Г. гипотетический – над средней по обоим родителям. Различают Г. соматический – более мощное развитие вегетативных органов у гибридных организмов; Г. репродуктивный – более мощное развитие репродуктивных органов, повышенная фертильность, приводящие к формированию высокого урожая семян, плодов; Г. адаптивный – повышение приспособленности гибридных организмов к изменяющимся условиям среды и их конкурентоспособности в борьбе за существование.

Гибридизация соматических клеток (парасексуальная гибридизация) – слияние в одну клетку двух и более соматических клеток животных или протопластов соматических клеток растений *in vitro*. К такому слиянию способны даже клетки самых отдаленных в филогенетическом отношении таксонов. Кариотип гибридной соматической клетки представляет собой сумму кариотипов исходных клеток. В процессе последовательных митозов (если произошло слияние ядер и исходная гибридная клетка способна к делению) часть хромосом элиминирует.

Д

Двудомные растения – виды растений, у которых при диклинии (см.) одни особи несут женские цветки, а другие – мужские.

Декапитация – удаление точки роста стебля.

Диплоид – организм с двумя гомологичными наборами хромосом и соматических клетках – $2n$. Диплоидной является зигота, один набор хромосом в которую привнесен женской, а второй – мужской га-

метой. Если вследствие аномалий мейоза не происходит редукция числа хромосом, образуется диплоидная (нередуцированная) гамета.

Дифференциация – образование в процессе развития из однородных клеток разнообразных по морфологическим признакам и функциям клеток, тканей и органов. Д. является одной из основ онтогенетического развития организма. Осуществляется она в период интерфазы и является реализацией генетической информации, идущей от ДНК ядра. Биохимически Д. проявляется в синтезе специфических для клеток данной ткани белков.

Д. основана на разновременном вступлении генов в детерминацию онтогенеза (генов вступление ступенчатое), т. е. на дифференциальной транскрипции с генов, функционирующих в разные фазы онтогенеза и синтезирующих соответствующие молекулы и-РНК. Генотипы клеток различных дифференцированных тканей особи идентичны (они соответствуют генотипу исходной зиготы), однако в них функционируют разные гены.

ДНК-редупликация (репликация) – самоудвоение молекулы ДНК. ДНК-р. происходит так называемым полуконсервативным способом: двойная спираль молекулы ДНК сначала разделяется на две полинуклеотидные цепи, затем на каждой из цепей из свободных нуклеотидов интерфазного ядра в соответствии с правилом комплементарности азотистых оснований достраиваются новые дочерние цепи. Каждая вновь образованная молекула ДНК состоит из одной «старой» полинуклеотидной нити и комплементарной ей «новой» нити. ДНК-р. лежит в основе самоудвоения (редупликации) хромосом.

3

Зигота – оплодотворенная яйцеклетка, дающая начало развитию нового организма. Образуется вследствие сингамии с последующей карิโอгамией. Если сливаются обычные, редуцированные гаметы, З. имеет двойное, диплоидное ($2n$) число хромосом. Если одна или обе сливающиеся гаметы нередуцированы, образуется полиплоидная З.

Зиготена (зигонема) – вторая, следующая за лептотеной стадия профазы I мейоза. Характеризуется сближением и началом конъюгации (синапсиса) гомологичных хромосом. Характер сил, которые движут гомологичные хромосомы навстречу друг другу в массе других, случайно распределенных в ядре хромосом, до сих пор остается неясным. Конъюгация чаще всего начинается вблизи центромеры или с конца

хромосомы, реже в других местах, но во всех случаях конъюгируют строго гомологичные локусы, в конечном счете гомологичные хромомеры. В зиготенном ядре образуется гаплоидное число пар конъюгирующих гомологичных хромосом. Вследствие проходящей спирализации хромосомы постепенно утолщаются. 3. переходит в пахитену.

И

Инбридинг (инцухт) – «разведение в себе», скрещивание особей, родство между которыми более тесное, чем родство между особями, случайно взятыми из той же популяции. И. у перекрестников – это принудительное самоопыление, повторяющееся в большем или меньшем числе последовательных поколений. Крайним выражением естественного И. является автогамия у самоопылителей, т. е. слияние гамет, продуцированных одним и тем же цветком.

Интерфаза – метаболическая стадия, стадия кинетического покоя клетки между двумя митозами. В И. клеточное ядро (интерфазное ядро) содержит мельчайшие гранулы и темноокрашивающиеся частицы, называемые хромоцентрами или прохромосомами. Хромосомы максимально деспирализованы, сильно гидратированы, с низкой способностью окрашиваться. Они равномерно распределены по всему объему ядра. Вследствие этого интерфазное ядро отличается сравнительно гомогенной структурой, нарушаемой лишь присутствием одного или нескольких крупных ядрышек. И. делится на два периода: 1) автосинтетический, в течение которого происходит авторепродукция хромосомного материала клетки, 2) гетеросинтетический, во время которого клетка выполняет специфические функции в соответствии с клеточной дифференциацией. Продолжительность обоих периодов – от 10 до 20 ч. Автосинтетический период И. соответствует периодам g_1 и S митотического цикла, гетеросинтетический – периоду g_2 .

Термин И. неправильно употребляется так же, как синоним интеркинеза, т. е. стадии покоя между двумя делениями мейоза.

Интродукция – перенос в какую-либо страну или область видов и сортов растений, ранее здесь не произраставших. Если после И. данная форма легко произрастает в новых для нее условиях, не изменяя своей генетической конституции, говорят о натурализации. Если И. влечет за собой огромные потери среди репродуцируемой в новых ус-

ловиях популяции и выживание лишь отдельных уклоняющихся генотипов из интродуцированного экотипа, говорят об акклиматизации.

Ионизирующие излучения – излучения, вызывающие при попадании в ткани организмов ионизацию молекул воды и других химических веществ и обладающие в силу этого сильным мутагенным эффектом. И. и. делятся на две группы: 1) электромагнитные излучения (рентгеновские и гамма-лучи); 2) корпускулярные излучения (бета-лучи, быстрые, промежуточные, медленные и тепловые нейтроны, протоны и дейтроны). Применяются в генетических исследованиях и практической селекции (мутагенез экспериментальный, индуцированный) (см. Мутагенные факторы).

К

Кастрация цветков – предшествующее опылению искусственное удаление незрелых пыльников.

Клетки соматические – клетки тела (сомы) особи, не принимающие участия в половом процессе и содержащие диплоидное число хромосом.

Ксеногамия (кроссбридинг) – перекрестное (гетероклинное) внутривидовое опыление, когда рыльце опыляется пыльцой с цветков других растений того же вида. При К. в процессе оплодотворения соединяются гаметы, происходящие от неродственных растений. Явлением, противоположным кроссбридингу, является инбридинг. К. – разновидность аллогамии.

М

Макрогаметогенез – процесс образования женского гаметофита и женской гаметы (яйцеклетки) из макроспоры (см. Гаметогенез).

Макромутации – см. Мутации крупные.

Макроспора (мегаспора) – образующаяся в процессе макроспорогенеза одна из четырех гаплоидных клеток, собранных в тетраду макроспор. Одна из макроспор тетрады (халазальная макроспора) служит исходной для образования зародышевого мешка (японского гаметофита) со всеми его составляющими.

Макроспорогенез (мегаспорогенез) – процесс образования макроспор (мегаспор) из материнской клетки макроспор, в результате двух последовательных делений мейоза дающей четыре макроспоры с гаплоидным числом хромосом в каждой. Макроспоры в тетраде размещены в большинстве случаев последовательно (линейно) в направлении

от микропилярной к халазальной части нуцеллуса. Последующие процессы в макроспорах относятся уже к гаметогенезу – развитию женского гаметофита. Нижняя, халазальная, макроспора после трех последовательных митотических делений ядра образует зародышевый (эмбриональный) мешок, которым у покрытосемянных представлен женский гаметофит. Остальные три макроспоры постепенно дегенерируют (см. Гаметогенез).

Мегаспора – то же, что макроспора (см.).

Мейоз (редукционное деление) – деление клеточного ядра, предшествующее образованию половых клеток и связанное с уменьшением (редукцией) числа хромосом, свойственного соматическим клеткам, в два раза.

Различают три типа М.: 1) начальный, или зиготический, М. происходит сразу после сингамии с первым же делением зиготы. Он свойственен организмам, у которых в чередовании поколений преобладает гаплофаза, а диплофаза связана лишь с коротким периодом существования зиготы (водоросли, простейшие); 2) конечный, или гаметиический, М. происходит в гаметообразующей клетке (оогенез и сперматогенез) многоклеточных животных; 3) промежуточный, или споровый, М. свойственен большинству растений. Он происходит в материнской клетке микро- или мегаспор в процессе микро- или мегаспорогенеза, когда в результате М. образуются гаплоидные споры, без оплодотворения развивающиеся в дающий гаметы гаметофит.

Для всех трех типов ход М. одинаков. Он состоит из двух следующих одно за другим деления, сопровождающихся лишь однократным удвоением количества ДНК: 1-го мейотического, или редукционного (гетеротипного), при котором число исходных хромосом уменьшается вдвое, и 2-го гомотипного, проходящего по типу митоза. В отличие от обыкновенного митоза во втором делении М. расходящиеся хроматиды не идентичны исходным вследствие произошедшего в первом делении кроссинговера.

В поддержании видовой постоянства числа хромосом при половом размножении, продуцировании генетически неравнозначных гамет и создании генотипического разнообразия в потомстве заключается биологическое значение М. (см. Профаза, Метафаза, Анафаза и Телофаза мейоза, Интеркинез).

Менделя законы – установленные Г. Менделем (1865) основные генетические закономерности наследования, проявляющиеся при скрещиваниях.

1. *Закон однородности и реципрокности*, по которому гибриды F_1 происходящие от гомозиготных родителей, являются полностью генотипически и фенотипически однородными, и однородность эта не зависит от направления скрещивания ($\text{♀ } A \times \text{♂ } B$ или $\text{♀ } B \times \text{♂ } A$).

2. *Закон расщепления*, по которому во втором поколении (F_2), произошедшему от самоопыления растений в F_1 либо от скрещивания F_1 сестринских особей, происходит расщепление на особи, несущие признаки исходных родителей в чистом виде, и на особи гибридные. В зависимости от числа генов, по которым различались исходные родители, и от отношений доминантности – рецессивности аллелей, существуют различные числовые отношения расщепления по генотипу и фенотипу. Например, 3:1 – расщепление по фенотипу при моногибридном скрещивании и полном доминировании; 1:2:1 – расщепление по фенотипу при моногибридном скрещивании и неполном доминировании, а также расщепление по генотипу при моногибридном скрещивании; 9:3:3:1 по фенотипу при дигибридном скрещивании и т. д. (см. Скрещивание полигибридное).

3. *Закон независимого распределения* или независимого комбинирования генов, по которому у потомков от скрещивания родителей, различающихся более чем по одной паре признаков, каждая пара признаков подчиняется закону расщепления независимо от других пар, в результате чего возникают новые комбинации признаков, у родителей не встречавшихся.

Справедлив для генов, относящихся к разным группам сцепления.

Из приведенных законов наследования, установленных Г. Менделем, вытекают основные законы наследственности:

1. Закон дискретной (генной) наследственной детерминации признаков. Этот закон лежит в основе теории гена.

2. Закон относительного постоянства наследственной единицы (гена).

3. Закон аллельного состояния гена (доминантность и рецессивность).

Метаболизм – обмен веществ, совокупность процессов ассимиляции и диссимиляции. М. – основная особенность живых организмов.

Метаболиты – продукты обмена веществ (метаболизма) живого организма.

Метафаза мейоза – различают метафазу первого, редукционного (МІ), и второго, эквационного (МІІ), делений мейоза. МІ характеризуется полным исчезновением ядерной оболочки и построением митотического веретена. Принципиальное отличие МІ от метафазы митоза в том, что в последней на метафазной пластинке размещены отдельные редуцированные хромосомы, причем единственная центромера каждой хромосомы расположена строго в экваториальной плоскости, сестринские хроматиды ориентированы к разным полюсам. В МІ метафазную пластинку составляют не отдельные хромосомы, а биваленты, состоящие из двух редуцированных гомологичных хромосом (диады). Самостоятельные центромеры диад, как бы отталкиваясь, размещаются не в экваториальной плоскости, а на равном расстоянии по обе стороны от нее, представляя таким образом зеркальное отображение друг друга. Так же по обе стороны экваториальной плоскости размещены и сами диады, оставаясь соединенными хиазмами (большая часть терминальными). Такое расположение (коориентация) диад и их центромер можно рассматривать как приспособление, обеспечивающее правильное расхождение хромосом в последующей анафазе. Каждая центромера бивалента прикреплена к отдельной нити митотического веретена. Остается неясным, является ли коориентация центромер следствием их взаимного отталкивания или действия тянущих сил нитей веретена.

МІІ по кинетике не отличается от метафазы обычного митоза. Принципиальным отличием является то, что в МІІ функционирует гаплоидное, а не диплоидное, как в метафазе митоза, число хромосом, каждая из которых состоит из двух генетически неравнозначных хроматид. В митозе, как известно, хроматиды полностью идентичны.

Метафазная (экваториальная) пластинка – скопление хромосом, расположенных в виде пластинки в экваториальной плоскости клетки во время метафазы митоза или мейоза.

Микрогаметогенез – процесс образования мужского гаметофита и мужских гамет (спермиев) из микроспоры (см. Гаметогенез).

Митоз (кариокинез) – непрямое деление клеток, в результате которого происходит сначала удвоение, а затем равномерное распределение наследственного материала между двумя вновь возникающими клетками. Основным способом деления клеток состоит из трех периодов: 1) реорганизации (профаза), в котором из синтезированного в интерфазе материала строятся структурные элементы хромосом, митотический аппарат и происходит распад клеточных структур, характерных для покоящейся клетки; 2) деления и движения (метафаза и анафаза); 3) реконструкции (телофаза, цитотомия), в котором восстанавливается типичная организация клетки и происходит деление цитоплазмы. Общая продолжительность митоза от 10 минут до нескольких часов. Отдельные клетки ткани могут вступать в М. асинхронно, независимо друг от друга, или одновременно с синхронным прохождением всех стадий М. В первом случае говорят о клеточном контроле М., во втором – о тканевом контроле М. Существуют гены (гены митоза), регулирующие ход митоза, время образования, структуру и активность веретена деления.

В генетическом отношении М. является процессом, задача которого сводится к наследственной стабилизации размножающихся клеток, к обеспечению генетической непрерывности. В этом исключительное биологическое значение М. (см. Профаза, Метафаза, Анафаза, Телофаза, Цитокинез, Интерфаза).

Морфогенез – возникновение и развитие органов, частей и признаков организма в процессе онтогенеза, сопровождающееся дифференциацией клеток и тканей, составляющих орган.

Мутагенные факторы (мутагены) – различной природы факторы, естественное наличие или искусственное применение которых вызывает появление мутаций. Естественный мутагенез основан на действии автомутагенов, генов-мутаторов и ряда природных факторов, включая экстремальные внешние условия. Однако частота спонтанного мутирования очень низка. Применяющиеся для искусственного вызывания мутаций М. ф. разделяются на физические и химические.

Физические М. ф. включают различные излучения, температуру, ультразвук и механические воздействия. Главными из них являются электромагнитные (рентгеновские, гамма-, инфракрасные и ультрафиолетовые лучи) и корпускулярные (электроны, или β -частицы, протоны, или α -частицы, нейтроны) радиоактивные излучения. Все перечислен-

ные излучения, за исключением инфракрасных и ультрафиолетовых лучей, являются ионизирующими излучениями. Их действие основано на образовании ионов в облученной ткани (первичное действие) и тепловом возбуждении молекул этой ткани (вторичное действие), вследствие чего пораженные молекулы претерпевают химические изменения, влекущие за собой генетические последствия. Ультрафиолетовые лучи производят только возбуждение молекул; проникающая способность их невелика. Мутагенным эффектом обладают Уф-лучи с длиной волны 2500—2800 Å (спектр поглощения ДНК) при облучении пыльцы, спор и бактерий.

Химические М. ф. в зависимости от принципа действия разграничиваются на пять групп: 1) ингибиторы предшественников (азотистых оснований) нуклеиновых кислот; 2) аналоги азотистых оснований, включающиеся вместо них в нуклеиновые кислоты; 3) алкилирующие соединения; 4) окислители, восстановители и свободные радикалы; 5) акридиновые красители.

Наиболее эффективными являются алкилирующие мутагены, из числа которых можно назвать N-нитрозоалкилмочевину, этиленимин, диэтилсульфат, диметилсульфат, 1,4-бисдиазоацетилбутан, этилметансульфонат и ряд других. Мутагенная эффективность физических и химических мутагенов зависит от многих условий (см. Мутагенный эффект, Мутагенного эффекта модифицирование).

Мутации крупные (макромутации) – мутации, в значительной степени (в отличие от малых мутаций) изменяющие те или иные признаки организма. Вследствие резко выраженного фенотипического эффекта М. к. и того, что к ним относятся мутации олигогенов (главных генов), контролирующих просто менделирующие признаки, М. к. называют также главными мутациями. Большая часть М. к. снижает жизнеспособность растений, однако отдельные из них представляют несомненный селекционный интерес. В экспериментальном мутагенезе М. к. легко фиксируются в M_2 . Если вследствие М. к. происходит изменение признака, выводящее мутант за пределы таксона исходной формы, М. к. называется системной. Между М. к. и малыми мутациями, особенно если те и другие касаются количественных признаков, существенную все переходы, а границы субъективны.

Мутации соматические – мутации, происходящие в соматических клетках организма. Индуцированные или спонтанные М.с. приво-

дят к химерности особи по генотипу составляющих ее тканей и органов. М.с. отличаются от генеративных мутаций только местом возникновения.

Н

Наследственность цитоплазматическая (плазматическая) – внеядерная наследственность, когда передача наследственной информации связана с локализованными в плазмоне наследственными элементами (плазмогенами). Причем генетическое влияние цитоплазмы проявляется в основном не самостоятельно, а как следствие взаимодействия плазмона с ядерными генами. Экспериментально получены доказательства генетической роли пластид и митохондрий. Генетическое значение других органоидов цитоплазмы гипотетично. Наследственные функции цитоплазмы некоторые исследователи связывают с имеющимися в ней нуклеиновыми кислотами (ДНК и РНК).

Н. ц. следует отличать от длительных модификаций и генетической предетерминации цитоплазмы. Основным указанием на наличие Н. ц. является различие в реципрокных скрещиваниях (исключая таковые у апомиктов) и сохранение контролируемого материнской цитоплазмой признака у гибрида при полном насыщении его хромосомами отцовской формы в процессе возвратных скрещиваний.

Если признак детерминируется цитоплазмой, он передается только по материнской линии. Яркими примерами Н. ц. являются цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) и пластидная наследственность.

Наследственность ядерная – наследственность, осуществляемая распределением при размножении носителей наследственности (генов), локализованных в хромосомах. При половом размножении Н. я. называется мейотической, при вегетативном митотической. Материальным носителем Н. я. является дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК).

Некроз – отмирание какого-либо участка ткани при сохранении в целом пораженного органа. Вызывается болезнетворными микроорганизмами, действием высокой или низкой температуры. Н. гибридный генетически контролируется комплементарным взаимодействием доминантных аллелей генов, приводит к угнетению или гибели растений F₁.

Нуклеиновые кислоты – высокомолекулярные соединения, биологические полимеры, обеспечивающие хранение и передачу наследст-

венной информации. Мономерными структурными единицами Н. к. являются нуклеотиды, последовательность которых в молекулах Н. к. определяет синтез специфических белков клетки. Н. к. представлены двумя типами: дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК, см.) и рибонуклеиновой кислотой (РНК, см.).

О

Онтогенез – индивидуальное развитие живого организма от момента оплодотворения яйцеклетки до естественной смерти. Основными этапами О. являются: 1) эмбриональное развитие; 2) постэмбриональное развитие; 3) зрелость и размножение; 4) старость и естественная смерть. Всеобщими основами онтогенетического развития организмов являются процессы роста (преобладание митотической активности клеток), дифференциации тканей (преобладание функциональной активности клеток) и морфогенеза, т. е. развития органов и признаков.

Оплодотворение – процесс слияния двух гамет – яйцеклетки и спермия (сперматозоида у животных) – и соединения их ядер (кариогамия), ведущий к удвоению числа хромосом и образованию зиготы, которая является началом развития следующего поколения. О. предшествует опылению и прорастанию пыльцы. Через одну из пор экзины набухшего и увеличившегося в размере пыльцевого зерна выпячивается интина и в виде узкой пыльцевой трубки начинает вращать в столбик пестика. Обычно в столбик прорастает значительное число пыльцевых трубок; скорость их роста различна. В пыльцевую трубку переходит вегетативное ядро с двумя спермиями или с генеративным ядром у растений с двуклеточным строением мужского гаметофита. В последнем случае сразу же происходит митотическое деление генеративного ядра на два спермия, так что уже на подходе пыльцевой трубки к нижней части столбика спермия полностью сформированы. В зародышевый мешок пыльцевая трубка проникает различными путями (см. Порогамия, Халазогамия, Мезогамия), но наиболее распространенным является прорастание через микропиле – порогамия. При соприкосновении с синергидами оболочка пыльцевой трубки разрушается, содержимое ее изливается в зародышевый мешок, один из спермиев сливается с ядром яйцеклетки, другой – с ядром центральной клетки зародышевого мешка. Таким образом происходит О., которое у покрытосемянных растений всегда двойное (см. Оплодотворение двойное).

Оплодотворение двойное – оплодотворение у покрытосемянных растений, когда яйцеклетка оплодотворяется одним (генеративное оплодотворение), а диплоидное ядро центральной клетки зародышевого мешка (вегетативное оплодотворение) – другим спермием пыльцевого зерна. В некоторых случаях второй спермий сливается с одним из полярных ядер, после чего оплодотворенное полярное ядро сливается с неоплодотворенным либо слияние полярных ядер и спермия происходит одновременно. В результате генеративного оплодотворения ($n + n$) возникает диплоидная зигота ($2n$), дающая начало зародышу. Кариогамия при генеративном оплодотворении может происходить перед началом первого деления в зиготе (премитотическая кариогамия), во время профазы первого деления зиготы (постмитотическая кариогамия) или идти по промежуточному типу, когда ядро спермия погружается в ядро яйцеклетки сразу, но при этом отделяется от него собственной оболочкой, слияние же ядер происходит лишь в профазе первого митоза зиготы. Следствием вегетативного оплодотворения ($2n + n$ или $n + n+n$) является возникновение начальной клетки ($3n$) триплоидного эндосперма. О. д. открыто в 1898 г. русским ученым С. Г. Навашиным.

Опыление анемофильное – опыление, при котором перенос пыльцы осуществляется ветром. Анемофильно опыляемые растения составляют почти пятую часть флоры цветковых растений. Пыльники у них обычно крупные и выходят за пределы цветка. Вероятность ветроопыления очень мала, но она компенсируется, как правило, громадным числом пыльцевых зерен, производимых пыльниками. Например, одно растение кукурузы продуцирует в среднем 50 млн. пыльцевых зерен. Сами пыльцевые зерна сухие, очень мелкие и легкие, что обеспечивает их хорошее перенесение ветром. Приспособлением к О. а. являются также качающиеся пыльники, например у злаковых, когда выведенные за пределы цветка пыльники раскачиваются ветром и легко освобождаются от пыльцы. Рыльца цветков анемофильных растений крупные, перистые, с большой поверхностью, что тоже способствует лучшему улавливанию носящейся в воздухе пыльцы.

II

Панмиксия – свободное, основанное на случайном равновероятном сочетании всех типов гамет скрещивание особей в пределах популяции. Ограничивается различными видами изоляции (см.). II. является одним из условий математической модели идеальной популяции.

Прививка – см. Трансплантация.

Профаза мейоза. В мейозе различают профазу I (P1) и профазу II (P2). P1 – это первая стадия редукционного деления мейоза, во время которой происходят конъюгация гомологичных хромосом и обмен участками между ними, т. е. кроссинговер. P1 является самой продолжительной фазой первого деления мейоза, она состоит из пяти последовательных фаз, границы между которыми довольно условны: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена и диакинез (см.).

P2 – первая стадия второго (митотического) деления мейоза. В зависимости от характера интеркинеза P2 или совсем выпадает, или в отличие от P1 очень непродолжительна.

Профаза митоза – первая стадия митоза. Характеризуется увеличением объема ядра, началом дегидратации и морфологического развития хромосом. В ранней П. м. хромосомы имеют вид слабоспирализованных тонких длинных нитей, распределенных по всему объему ядра. Вследствие редупликации в интерфазе каждая хромосома состоит из двух обвитых одна вокруг другой хроматид. С течением П. м. спирализация хромосом постоянно увеличивается, вследствие чего они укорачиваются, становятся толще и лучше окрашиваются специфическими красителями. Повышение структурной компактности хромосом обеспечивает их мобильность в конце П. м. и в последующих стадиях митоза, метафазе и анафазе. В поздней П. м. максимально спирализованные по малой спирали хромонемы начинают закручиваться в большую спираль, число витков которой прогрессивно уменьшается, а диаметр их увеличивается, сами витки сближаются, хроматиды взаимно раскручиваются. Все это приводит к четкой морфологической дифференциации хромосом к концу П. м., когда видно, что они состоят из двух параллельных, тесно соприкасающихся хроматид, соединенных центромерой. В это время хромосомы центробежно движутся к периферической зоне ядра. В ходе П. м. постепенно уменьшается в размерах и исчезает ядрышко, окончательное исчезновение которого приходится на конец П. м. В это же время ядерная оболочка распадается на отдельные фрагменты с замкнутыми краями, образуя при этом мелкие пузырьки и цистерны, рассеянные в цитоплазме. В конце П. м. начинает формироваться митотический аппарат.

Р

Редукция – уменьшение вдвое соматического (диплоидного) числа хромосом в процессе мейоза (см.).

Репарация – самовосстановление первичной структуры ДНК, следующее после нарушения ее физическими или химическими мутагенами. Процесс Р. детально изучен при воздействии ультрафиолетовыми лучами на микроорганизмы, при котором в пораженной молекуле ДНК образуются димеры пиримидиновых оснований; чаще всего димеры «тимин – тимин», реже – «цитозин – тимин» и «цитозин – цитозин». При последующем облучении видимым светом с длиной волны 4000 Å активизируется фотореактивирующий фермент, расщепляющий димеры пиримидинов и восстанавливающий первичную структуру ДНК (фотореактивация). При темновой Р. из пораженной нити молекулы ДНК ферменты эндонуклеазы «вырезают» димеры пиримидинов, а образующаяся брешь восстанавливается комплементарно к неповрежденной нити этой же молекулы ДНК. Если молекула ДНК с димерами реплицируется, против каждого из ее димеров образуется брешь. Последующий обмен между сестринскими полинуклеотидными цепями может восстановить первичную структуру молекулы ДНК (рекомбинационная Р.).

Репликация – см. Автодупликация, ДНК-редупликация.

Репрессия – один из механизмов регуляции биосинтеза белка. Представляет собой подавление синтеза в клетке какого-нибудь фермента. Р. наступает, когда концентрация вещества, синтезируемого с участием данного фермента, становится выше нормальной для клетки в данный момент ее функционирования (см. Индукция).

Репродуктивные органы, связанные с функцией размножения – полового (например, цветок, плод, семя, т. е. генеративные органы) для вегетативного (например, клубень, луковица).

РНК – рибонуклеиновая кислота, биологический полимер. РНК находится в хромосомах ядра, ядрышке и цитоплазме, выполняя первостепенную роль в биосинтезе белка в клетке. В отличие от ДНК макромолекула РНК представлена одной длинной неразветвленной полинуклеотидной цепью, состоящей из чередующихся рибонуклеотидов. Как и у ДНК, у РНК четыре типа нуклеотидов (см.). Однако вместо дезоксирибозы ДНК пентозный сахар РНК представлен рибозой, а вместо тимина в соответствующем рибонуклеотиде имеется урацил. В зависи-

мости от функций или локализации в клетке различают три типа РНК: информационную (и-РНК), транспортную (т-РНК) и рибосомную РНК (р-РНК).

и-РНК играет роль переносчика генетической информации от ДНК-ядра к рибосомам цитоплазмы (см. Транскрипция). Образуется она под влиянием ДНК – зависимой РНК-полимеразы и существует очень непродолжительное время. Среди типов РНК информационная РНК отличается самыми большими линейными размерами молекул, молекулярный вес и-РНК изменяется в широких пределах. Нуклеотидный состав и-РНК комплементарен нуклеотидному составу ДНК-матрицы, он определен генетическим кодом (см.). В рибосомах на молекуле и-РНК, как на матрице, в соответствии с информацией, полученной ею от ДНК хромосом, строятся специфические белки. Аминокислоты для синтеза этих белков из гиалоплазмы в рибосомы переносит транспортная РНК, т-РНК имеет различные формы, число которых соответствует числу аминокислот, входящих в состав белков. В т-РНК входит примерно 70 рибонуклеотидов, молекулярный вес ее порядка $2,5 \times 10^4$, т. е. молекулы т-РНК среди разных типов РНК самые малые.

Рибосомная РНК получила свое название от того, что находится в рибосомах. Она составляет около 85–90% всей РНК клетки.

В состав р-РНК входит 4–6 тыс. нуклеотидов, молекулярный вес ее порядка $0,4–1,3 \times 10^4$. Нуклеотидный состав р-РНК, выделенной из разных видов, мало отличается. Роль р-РНК окончательно не выяснена.

У вируса табачной мозаики и ряда других вирусов, у которых отсутствует ДНК, РНК выполняет роль непосредственного носителя наследственной информации (см. ДНК, Транскрипция, Трансляция).

С

Семья – семенное потомство одного растения.

Спермий – мужская половая клетка (гамета) у растений. С. образуется вследствие проходящего в пыльцевом зерне или пыльцевой трубке спермиогенеза. У различных видов форма и размер С. сильно варьируют, изменяются они также и в процессе онтогенеза С. Размер С. в большой мере зависит от массы окружающей его ядро цитоплазмы, при этом С. могут быть мало- или многоплазменными.

Т

Телофаза мейоза – различают телофазу первого, редукционного (Т I), и второго, эквационного (Т II) делений мейоза. Т I наступает с

окончанием расхождения диад к разным полюсам делящейся клетки. Некоторое время хромосомы находятся в конденсированном состоянии, морфологически они еще дифференцированы. Затем происходит разрыхление спиральной структуры (которая, однако, сохраняется до конца второго деления мейоза) хромосом и их агрегатное рассредоточение в массе вновь образующихся ядер. После цитокинеза формируются две клетки (диада клеток), а при отсутствии его – два гаплоидных ядра в одной клетке. В последнем случае цитокинез происходит после второго деления мейоза. Продолжительность Т I обычно невелика. Т II принципиально не отличается от телофазы обычного митоза.

Тотипотентность – способность клеток уже дифференцированных тканей после дезинтеграции и последующего создания соответствующих условий для роста и дифференциации восстановить целый организм или часть его.

Трансплантация – пересадка тканей у животных или прививка части одного растения (привой) на другое растение (подвой). Т. у растений имеет широкие возможности при их вегетативном размножении, у животных она резко ограничена тканевой интолерантностью (несовместимостью).

Ф

Фертильный – плодовитый, способный производить жизнеспособное потомство при половом размножении.

Х

Хромосомы половые – хромосомы, отличающиеся по структуре и функциям от обычных хромосом (аутосом) и определяющие развитие пола. Их также называют аллосомами и гетерохромосомами. По сравнению с аутосомами Х. п. позже или раньше расходятся к полюсам при делении клетки, почти полностью состоят из гетерохроматина и отличаются дистанционной, а не контактной конъюгацией, т. е. отсутствием истинного контакта между Х. п. в первом делении мейоза. При определении пола по типу ХУ Х. п. называются Х-хромосомой и У-хромосомой. У-хромосома – это непарная Х. п. в клетках особей гетерогаметного пола (ХУ), а Х-хромосома – парная Х. п. в клетках особей гомогаметного пола (ХХ). У-хромосома меньше по размеру и в генетическом отношении более инертна, чем Х-хромосома, содержащая, наряду с другими генами, гены – реализаторы пола, т. е. гены, которые у особей с генетическим определением пола, но бисексуальной потенцией

определяют развитие по мужскому, женскому или гермафродитному типу. Если X- и Y-хромосомы различаются не морфологически (положение центромеры, размер), а по количеству и локализации гетерохроматина, они называются структурными X. n.

Ц

Цитокинез (цитотомия) – деление клетки в конце митоза. Начинается обычно в ранней телофазе, когда в экваториальной зоне начинают уплотняться нити митотического веретена (образование фрагмопласта), которые вместе с элементами эндоплазматической сети служат материалом для создания новой клеточной оболочки. Ц. заканчивается одновременно с окончанием телофазы или немного позже.

Цитология – наука о клетке. Она изучает структуру (строение) и функции (жизнедеятельность) клетки.

Э

Экваториальная пластинка – см. Метафазная пластинка.

Эмбриогенез – процесс развития зародыша из зиготы (см. Зародыш).

Я

Ядро вегетативное – ядро вегетативной клетки пыльцевого зерна, контролирующее рост пыльцевой трубки.

Ядро генеративное – ядро генеративной клетки пыльцевого зерна, которая еще в зрелом пыльцевом зерне или при проростании пыльцы митотически делится на два спермия.

Яйцеклетка (яйцо) – женская гамета, образующаяся в процессе макрогаметогенеза. Центральная клетка в яйцевом аппарате, по размеру заметно крупнее окружающих ее синергид и остальных клеток зародышевого мешка. Я. имеет грушевидную или удлинненную в направлении от микропиле к халазе форму. Ядро Я. крупное, расположено в нижней ее части, с крупным ядрышком. Цитоплазма Я. густая, с высокой физиологической и метаболической активностью, хорошо развитой эндоплазматической сетью, большим числом рибосом, амилопластов, митохондрий и других клеточных структур. В верхней (апикальной) части Я. фиксируется кислая реакция, что связано с накоплением здесь РНК и интенсивным синтезом белков (см. Гаметогенез, Макрогаметогенез).

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексахин Р.М. История лесной радиоэкологии, её достижения и нерешенные задачи [Текст] / Проблемы лесной радиоэкологии. М., (Тр. ИПГ), 1979, Вып. 38. С. 6 – 26.
2. Бутенко. Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений [Текст] / М., Наука, 1964. 272 с.
3. Бутова Г.П. Клональное микроразмножение лесных древесных растений [Текст] // (Экспресс-информация Гос. ком. СССР по лесному хоз-ву / ЦБНТИ «Лесоводство, лесоведение, лесные пользования» М., 1987. С. 2 – 18.
4. Ветчинникова Л.В. Клональное микроразмножение селекционного материала березы карельской [Текст] // Научные основы селекции древесных растений Севера. Петрозаводск, 1998. С. 73 – 87.
5. Гуляев Г.В. Словарь терминов по генетике, цитологии, селекции, семеноводству и семеноведению [Текст] / Г.В. Гуляев, В.В. Мальченко. – Изд.2-е, перераб. и доп. М., Россельхозиздат, 1983. 240 с.
6. Дубинин Н.П. Общая генетика [Текст] М., Изд-во «Наука», 1970. – 487 с.
7. Дубинин Н.П. Общая генетика [Текст]. М., Изд-во 2-е «Наука», 1976. 590 с.
8. Израэль Ю.А. Радиоактивное загрязнение территории России в результате аварии на Чернобыльской АЭС [Текст] / Ю.А. Израэль, Е.В. Квасникова, И.М. Назаров, Е.Д. Стукин, Ш.Д. Фридман // IV Международн. научно-техн. конф. «Чернобыль-94»: Сб. тез. Зеленый мыс. 1994, С. 40 – 41.
9. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции [Текст]: Учебн. для биолог. спец. ун-тов. М., Высш. шк., 1989. 591 с.
10. Петров Д.Ф. Генетика с основами селекции [Текст] / Изд. 2-е, доп. Учебное пособие для ун-тов. М. «Высшая школа», 1976. 416 с.
11. Райт Дж.В. Введение в лесную генетику [Текст] / Дж.В. Райт. Пер. с англ. А.Ю. Клячко, Л.Я. Полозовой, Л.П. Воеводкиной [Текст] / Под ред. Л.Ф. Правдина, В.А. Бударagina / М., «Лесная промышленность», 1978. 470 с.
12. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды [Текст] / Пер. с англ. / Под ред., с предисл. и дополн. В.Г. Дебабова. М., Мир, 1987. 411 с.
13. Картель Н.А. Генетика в лесоводстве [Текст] / Н.А. Картель, Е.Д. Манцевич. Минск, Изд-во «Наука и техника», 1970. 166 с.
14. Катаева Н.В. Клональное микроразмножение растений [Текст] / Н.В. Катаева, Р.Г. Бутенко/ М., Наука, 1983. 96 с.
15. Каменный В.И. Подготовка питательных сред и культивирование микроорганизмов [Текст] / Учебное пособие. Архангельск: АГТУ, 2008. 175 с.

16. Козубов Г.М. Радиобиологические исследования хвойных в районе Чернобыльской катастрофы (1986 – 2001 г.г.) [Текст] / Г.М. Козубов, А.И. Таскаев. М: ИПЦ «Дизайн. Информация. Картография», 2002. 272 с.
17. Козубов Г.М. Радиобиологические и радиоэкологические исследования древесных растений [Текст] / Г.М. Козубов, А.И. Таскаев / СПб: Наука, 1994. 256 с.
18. Козубов Г.М. Семь лет в Чернобыльских лесах (1986 – 1992 г.г.) [Текст] / Сыктывкар, – (Коми научный центр УрО РАН), 2004. 160 с.
19. Козубов Г.М. Жизнеописание отдельно взятого представителя русской науки в XX веке [Текст] / Сыктывкар, (Коми научный центр УрО РАН), 2008. 400 с.
20. Котов М.М. Генетика и селекция [Текст] / Часть 1. Учебник для вузов: Йошкар-Ола, МарГТУ, 1997. 280 с.
21. Котов М.М. Генетика и селекция. [Текст] / Часть 2. Учебник для вузов: Йошкар-Ола, МарГТУ, 1997. 108 с.
22. Любавская А.Я. Лесная селекция и генетика. [Текст] / Учебник для вузов., М., Лесная промышленность, 1982. 288 с.
23. Лобашев М.Е. Генетика [Текст] Изд-во Ленинградского университета, 1976. 751 с.
24. Международный чернобыльский проект // Оценка радиологических последствий и защитных мер [Текст] / Доклад Международного консультативного комитета. М., 1991. 95 с.
25. Методические указания к выполнению лабораторных работ по генетике [Текст] / авт. сост. д-р с.-х. наук, акад. АПК А.И. Барабин: АГТУ, Архангельск, 2001. 22 с.
26. Тонгур В.С. На пороге разгадки (химия жизни) [Текст] / М., Изд-во «Знание», 1966. 128 с.
27. Хатчинсон Т. Последствия ядерной войны Т.2. Воздействие на экологию и сельское хозяйство. Дополнительные факторы возможного воздействия ядерной войны на экосистемы [Текст] // Т. Хатчинсон, М. Харуэлл, У. Кроннер (мл.), Г. Гровер (пер с англ.) М., 1988 б. С. 215 – 317.
28. Царев А.П. Генетика лесных древесных пород [Текст] / А.П. Царев, С.П. Погиба, В.В. Тренин. Петрозаводск. Изд-во Петрозаводского государственного университета, 2000. 339 с.
29. Шевелуха В.С., Сельскохозяйственная биотехнология [Текст] / В.С. Шевелуха, С.В. Дегтярев, Г.М. Артемонова [и др.]. – М. Изд-во МСХА, 1995. 310 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
1. Молекулярные основы ауторепродукции генетического материала	7
1.1. Назад к клетке.....	16
1.2. Репликация нуклеиновых кислот	20
2. Биотехнологии и генетическая инженерия	22
3. Клонирование фрагментов ДНК – основа генетической инженерии	26
3.1. Клонирование животных	28
3.2. Клонирование растений	29
3.3. Техника культивирования изолированных тканей растений	31
3.4. Морфогенез в каллусных тканях	33
3.4.1. Культура изолированных тканей, клеток и протопластов в селекции растений.....	34
3.4.2. Вспомогательное использование методов <i>in vitro</i> в селекции растений	34
4. Клональное микроразмножение растений	37
4.1. Методы размножения растений	38
4.2. Оздоровление посадочного материала	52
Преамбула к гл. 5	59
5. Радиобиологические исследования хвойных в районе Чернобыльской катастрофы	65
5.1. Радиоэкологическая характеристика	66
5.2. Морфогенез вегетативных побегов	67
5.3. Заключение	75
5.4. Исследования генеративной сферы хвойных	78
5.5. Микроспорогенез и жизнеспособность пыльцы.....	81
5.5.1. Вариации ветвления пыльцевых трубок	84
Приложение	86
Терминология по генетике, цитологии и селекции.....	92
Литература	114
Оглавление	116