

Биотехнология и растениеводство.

Культурные растения страдают от сорняков, грызунов, насекомых-вредителей, нематод, фитопатогенных грибов, бактерий, вирусов, неблагоприятных погодных и климатических условий. Перечисленные факторы наряду с почвенной эрозией и градом значительно снижают урожайность сельскохозяйственных растений. Известно, какие разрушительные последствия в картофелеводстве вызывает колорадский жук, а также гриб *Phytophthora* — возбудитель ранней гнили (фитофтороза) картофеля. Кукуруза подвержена опустошительным «набегам» южной листовой гнили, ущерб от которой в США в 1970 г. был оценен в 1 млрд. долларов.

В последние годы большое внимание уделяют вирусным заболеваниям растений. Наряду с болезнями, оставляющими видимые следы на культурных растениях (мозаичная болезнь табака и хлопчатника, зимняя болезнь томатов), вирусы вызывают скрытые инфекционные процессы, значительно снижающие урожайность сельскохозяйственных культур и ведущие к их вырождению (И. Г. Атабеков, 1984).

Биотехнологические пути защиты растений от рассмотренных вредоносных агентов включают: 1) выведение сортов растений, устойчивых к неблагоприятным факторам; 2) химические средства борьбы (пестициды) с сорняками (гербициды), грызунами (ратициды), насекомыми (инсектициды), нематодами (немато-циды), фитопатогенными грибами (фунгициды), бактериями, вирусами; 3) биологические средства борьбы с вредителями, использование их естественных врагов и паразитов, а также токсических продуктов, образуемых живыми организмами.

Наряду с защитой растений ставится задача повышения продуктивности сельскохозяйственных культур, их пищевой (кормовой) ценности, задача создания сортов растений, растущих на засоленных почвах, в засушливых и заболоченных районах. Разработки нацелены на повышение энергетической эффективности различных процессов в растительных тканях, начиная от поглощения кванта света и кончая ассимиляцией CO₂ и водно-солевым обменом.

Выведение новых сортов растений. Традиционные подходы к выведению новых сортов растений — это селекция на основе гибридизации, спонтанных и индуцированных мутаций. Методы селекции не столь отдаленного будущего включают генетическую и клеточную инженерию.

Генетическую инженерию предлагают использовать для выведения азотфиксирующих растений (рис. 21). В природных условиях азотфиксирующие клубеньковые бактерии, представители рода *Rhizobium*, вступают в симбиоз с бобовыми. Комплекс генов азотфиксации {nif} из этих или иных бактерий предлагают включить в геном злаковых культур Трудности связаны с поиском подходящего вектора, поскольку широко

используемые для подобных целей *Agrobacterium* с плазмидами Ti и Ri не заселяют злаки

Планируют модификацию генома *Agrobacterium*, чтобы бактерия могла вступать в симбиоз со злаками и передавать им генетическую информацию. Другим решением проблемы могла бы быть трансформация растительных протопластов посредством ДНК. К компетенции клеточной инженерии относят создание новых азотфиксирующих симбиотических ассоциаций «растение — микроорганизм».

В настоящее время выделены и клонированы гены, отвечающие за установление симбиотических отношений между клубеньковыми азотфиксаторами и растением-хозяином. Путем переноса этих генов в свободноживущие азотфиксирующие бактерии (*Klebsiella*, *Azotobacter*) представляется возможным заставить их вступить в симбиоз с ценными сельскохозяйственными культурами. Методами генетической инженерии предполагают также повысить уровень обогащения почвы азотом, амплифицируя гены азотфиксации у *Klebsiella* и *Azotobacter*.

Разрабатываются подходы к межвидовому переносу генов, обуславливающих устойчивость растений к жаре, холоду, засоленности почвы. Перспективы повышения эффективности конверсии энергии света связаны с модификацией генов, отвечающих за световые и темновые стадии этого процесса, в первую очередь генов, регулирующих фиксацию CO₂ растением. В этой связи представляют большой интерес разработки по межвидовому переносу генов, кодирующих хлорофилл-связывающий белок и малую субъединицу рибулозо-бифосфаткарбоксилазы — ключевого фермента в фотосинтетической фиксации CO₂.

Разведение устойчивых к гербицидам растений открывает возможность их применения для уничтожения сорняков непосредственно на угодьях, занятых сельскохозяйственными культурами. Проблема состоит, однако, в том, что массивные дозы гербицидов могут оказаться вредными для природных экосистем.

Некоторые культурные растения сильно страдают от нематод. Обсуждается проект введения в растения новых генов, обуславливающих биосинтез и выделение нематоцидов корневыми клетками. Важно, чтобы эти нематоциды не проявляли токсичности по отношению к полезной прикорневой микрофлоре. Возможно также создание почвенных ассоциаций «растение — бактерия» или «растение — гриб (микориза)» так, чтобы бактериальный (грибной) компонент ассоциации отвечал за выделение нематоцидов.

Важное место в выведении новых сортов растений занимает метод культивирования растительных клеток *in vitro*. Регенерируемая из таких клеток «молодая поросль» состоит из идентичных по генофонду экземпляров, сохраняющих ценные качества избранного клеточного клона. В Австралии из полученных *in vitro* клеточных клонов выращивают камедные деревья. Австралийские эвкалипты отличаются способностью расти на засоленных почвах. Предполагается, что корни этих

растений будут отсасывать воду из таких почв и тем самым понижать уровень грунтовых вод. Это приведет к снижению засоленности поверхностных слоев почвы в результате переноса минеральных солей в более глубокие слои с потоками дождевой воды (S. Prentis, 1984). В Малайзии из клеточного клона получена масличная пальма с*повышенной устойчивостью к фитопатогенам увеличенной способностью к образованию масла -(прирост, на 20-30%). Клонирование клеток с последующим их скринингом и регенерацией растений из отобранных клонов рассматривают как важный метод сохранения и улучшения древесных пород умеренных широт, в частности хвойных деревьев (Т. М. Powled-ge, 1984). Растения-регенеранты, выращенные из клеток и тканей меристемы, используют ныне для разведения спаржи, земляники, брюссельской и цветной капусты, гвоздик, папоротников, персиков, ананасов, бананов. С клонированием клеток связывают надежды на устранение вирусных заболеваний растений. Разработаны методы, позволяющие получать регенеранты из тканей верхушечных почек растений. В дальнейшем среди регенерированных растений проводя отбор особей, выращенных из незараженных клеток, и выбраковку больных растений. Раннее выявление вирусного заболевания, необходимое для подобной выбраковки, может быть осуществлено методами иммунодиагностики, с использованием моноклональных антител или методом ДНК/РНК-проб. Предпосылкой для этого является получение очищенных препаратов соответствующих вирусов или их структурных компонентов (И. Г. Атабеков, 1984).

Клонирование клеток — перспективный метод получения не только новых сортов, но и промышленно важных продуктов. При правильном подборе условий культивирования, в частности' при оптимальном соотношении фитогормонов, изолированные клетки более продуктивны, чем целые растения. Иммунизация растительных клеток или протопластов нередко ведет к повышению их синтетической активности. Табл. 6 включает биотехнологические процессы с использованием культур растительных клеток, наиболее перспективные для промышленного внедрения.

Коммерческое значение в основном имеет промышленное производство шиконина. Применение растительных клеток, которые являются высокоэффективными продуцентами алкалоидов, терпенов, различных пигментов и масел, пищевых ароматических добавок (земляничной, виноградной, ванильной, томатной, сельдерейной, спаржевой) наталкивается на определенные трудности, связанные с дороговизной используемых технологий, низким выходом целевых продуктов, длительностью производственного процесса.

Таким образом, биотехнология открывает широкие перспек

Т а б л и ц а 1. Примеры клеточных культур — высокоэффективных продуцентов ценных соединений (по О. Sahai, М. Knulh, 1985, К. Nahlbrock, 1986)

Вид растения	Целевой продукт	Предполагаемое применение
Lithospermum erithrorhizon (воробейник)	Шиконин и его производные	Красный пигмент, используемый в косметике как «биологическая губная помада», антибактериальный агент, используемый при лечении ран, ожогов, геморроя
Nicotiana tabacum (табак)	Убихинон-10	Важный компонент дыхательной и фотосинтетической цепей переноса электронов, применяемый как витамин и в аналитических целях
То же	Глутатион	Участник многих окислительно-восстановительных реакций в клетке, приравнивается к витамину
Morinda citrifolia	Антрахиноны	Сырье для лакокрасочной промышленности
Coleus blumei	Розмариновая кислота	Жаропонижающее средство, проходящее клинические испытания
Berberis stolonifera (барбарис)	Ятрооризин	Спазмолитическое лекарственное средство

тивы в области выведения новых сортов растений, устойчивых к неблагоприятным внешним воздействиям, вредителям, патогенам, не требующих азотных удобрений, отличающихся высокой продуктивностью.

Биодеградация пестицидов. Пестициды обладают мощным, но недостаточно избирательным действием. Так, гербициды, смываясь дождевыми потоками или почвенными водами на посевные площади, наносят ущерб сельскохозяйственным культурам. Помимо этого, некоторые пестициды длительно сохраняются в почве, что тоже приводит к потерям урожая. Возможны разные подходы к решению проблемы: 1) усовершенствование технологии применения пестицидов, что не входит в компетенцию биотехнологии (см. по этому вопросу К- Н. Велецкий, 1986); 2) выведение растений, устойчивых к пестицидам (см. гл. 5, § 1); 3) биодеградация пестицидов в почве.

К биодеградации пестицидов способна микрофлора почвы

Методами генетической инженерии сконструированы штаммы микроорганизмов с повышенной эффективностью биodeградации ядохимикатов, в частности штамм *Pseudomonas cepacia*, разрушающий 2, 4, 5-трихлорфеноксиацетат. Устойчивость того или иного пестицида в почве меняется при добавлении его в сочетании с другим пестицидом. Так, устойчивость гербицида хлорпрофама увеличивается при его внесении совместно с инсектицидами из группы метилкарбаматов. Оказалось, что, метилкарбаматы ингибируют микробные ферменты, катализирующие гидролиз хлорпрофама (М. А. Питина и др., 1986).

Микробная трансформация пестицидов имеет и обратную сторону. Во-первых, быстрая деградация пестицидов сводит на нет их полезный эффект. Во-вторых, в результате микробного превращения могут образоваться продукты, сильно ядовитые для растений. При использовании гербицида тиобенкарба в Японии наблюдали подавление роста и развития риса. Установлено, что подавляет не сам гербицид, а его дехлорированное производное Б-бензил-диэтилтиокарбамат. Чтобы предотвратить образование такого производного, тиобенкарбонат применяют в комбинации с метоксифеном, ингибитором дехлорирующего фермента микроорганизмов (М. А. Питина и др., 1986).

Биологическая защита растений от вредителей и патогенов. Из широкого спектра биологических средств защиты растений ограничимся рассмотрением средств борьбы с насекомыми-вредителями и патогенными микроорганизмами. Именно в этих областях имеются наибольшие перспективы.

К традиционным биологическим средствам, направленным против насекомых, принадлежат хищные насекомые. В последние годы арсенал «оружия» инсектицидного действия пополнен грибами, бактериями, вирусами, патогенными для насекомых (энтомо-патогенными). Многие виды насекомых-вредителей (тля, колорадский жук, яблоневая плодожорка, озимая совка и др.) восприимчивы к заболеванию, вызываемому грибом *Beauveria bassiana*. Препарат боверин из лиофильно высушенных конидий гриба сохраняет энтомопатогенность в течение года после обработки почвы или растений. Препарат пецилолин из гриба *Poecilomyces fumoso-roseus* применяют для борьбы с вредителями кустарников, например смородины (О.А.Алешина, 1982).

Важным источником бактериальных энтомопатогенных препаратов служит *Bacillus thuringiensis*. Эти препараты обладают высокой устойчивостью и патогенны для нескольких сотен видов насекомых-вредителей, в том числе для листогрызущих насекомых — вредителей яблонь, винограда, капусты, лесных деревьев. Гены, отвечающие за синтез одного из токсинов *B. thuringiensis*, были изолированы и перенесены в растения табака. Необходимо, чтобы такие «энтомопатогенные» растения не содержали веществ, токсичных для человека и животных (J. Collins et al., 1986).

Вирусные препараты отличаются высокой специфичностью действия, длительным (до 10—15 лет) сохранением активности, устойчивостью к колебаниям температуры и влажности. Из многих сотен известных энтомопатогенных вирусов наибольшее применение находят вирусы ядерного полиэдроза, обладающие высокой эффективностью действия на насекомых-вредителей. Насекомых выращивают в искусственных условиях, заражают вирусом, из гомогенатов погибших насекомых готовят препараты. Применяют отечественные препараты вирин-ЭКС (против капустной совки), вирин-ЭНШ (против непарного шелкопряда). В последние годы для культивирования вирусов широко применяют культуры клеток насекомых.

Комбинация из нескольких биологических средств нередко действует на вредителей более эффективно, чем каждый в отдельности. Смертность соснового шелкопряда резко возрастает, если вирус цитоплазматического полиэдроза применяют в сочетании с препаратами из *Bacthuringiensis*. Эффективна комбинация биологических и химических средств защиты растений от насекомых (Л. М. Тарасевич, 1985).

Среди новых средств защиты растений — вещества биогенного происхождения, ингибирующие откладку яиц насекомыми или стимулирующие активность естественных врагов насекомых-вредителей: хищников, паразитов (С. А. Остроумов, 1986).

Разнообразны средства защиты растений от фитопатогенных микроорганизмов.

1. Антибиотики. Примерами могут служить триходермин и трихотецин, продуцируемые грибами *Trichoderma* sp. и *Trichotecium roseum*. Эти антибиотики используются для борьбы с корневыми гнилями овощных, зерновых и технических культур (О. А. Алешина, 1982).

Фитоалексины, естественные растительные агенты, инактивирующие микробных возбудителей заболеваний. Эти соединения, синтезируемые в тканях растений в ответ на внедрение фитопатогенов, могут служить высокоспецифичными заменителями пестицидов. Фитоалексин перца успешно применяли при фитофторозе. Могут быть использованы также вещества, стимулирующие синтез фитоалексинов в растительных тканях (С. А. Остроумов, 1986).

3. Использование микробов-антагонистов, вытесняющих патогенный вид и подавляющих его развитие.

4. Иммунизация и вакцинация растений. Вакцинные препараты стремятся вводить непосредственно в прорастающие семена.

5. Введение в ткани растений специфичного агента (of-фактора), снижающего жизнеспособность возбудителя (von. G. Zimmermann, 1985).

Биологические средства — важная составная часть комплексной программы защиты растений. Эта программа предусматривает проведение защитных мероприятий агротехнического, биологического и химического плана наряду с использованием устойчивых сортов растений. Задачей комплексной программы является поддержание численности вредителей

растений на экологически сбалансированном уровне, не наносящем ощутимого вреда культурным растениям.

Биологические удобрения. Биологические (бактериальные) удобрения применяют для обогащения почвы связанным азотом. Большое распространение получили препараты нитрагин и азотобактерин — клетки клубеньковых бактерий и азотобактера, к которым добавляют стабилизаторы (мелассу, тиомочевину) и наполнитель (бентонит, почву). Азотобактерин обогащает почву не только азотом, но и витаминами и фитогормонами, гиббереллинами и гетероауксинами. Препарат фосфобактерин из *Bacillus megaterium* превращает сложные органические соединения фосфора в простые, легко усвояемые растениями. Фосфобактерин также обогащает почву витаминами и улучшает азотное питание растений.

Растения синтезируют ряд соединений, регулирующих их рост и развитие (фитогормоны, биорегуляторы). К их числу принадлежат ауксины, гиббереллины, цитокинины. Созревание плодов стимулирует этилен. Эти биорегуляторы находят применение в сельском хозяйстве. К числу новых, обнаруженных в последние годы биорегуляторов относят пептиды, имеются перспективы их применения в сельском хозяйстве (К- N. Kohler, 1986).

Биотехнология и животноводство. Большое значение в связи с интенсификацией животноводства отводится профилактике инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных, с применением рекомбинантных живых вакцин и генноинженерных вакцин-антигенов, ранней диагностике этих заболеваний с помощью моноклональных антител и ДНК/РНК-проб

Для повышения продуктивности животных нужен полноценный корм. Микробиологическая промышленность выпускает кормовой белок на базе различных микроорганизмов — бактерий

Производство белка на основе одноклеточных — процесс, не требующий посевных площадей, не зависящий от климатических и погодных условий. Он может быть осуществлен в непрерывном и автоматизированном режиме.

В нашей стране производится биомасса одноклеточных, в особенности на базе углеводородного сырья. Достигнутые успехи не должны заслонять проблемы грибов, дрожжей, водорослей. Богатая белками биомасса одноклеточных организмов с высокой эффективностью усваивается сельскохозяйственными животными. Так, 1 т кормовых дрожжей позволяет получить 0,4—0,6 т свинины, до 1,5 т мяса птиц, 25—30 тыс. яиц и сэкономить 5—7 т зерна (Р. С. Рычков, 1982). Это имеет большое народнохозяйственное значение, поскольку 80% площадей сельскохозяйственных угодий в мире отводятся для производства корма скоту и птице (Г. К- Скрыбин, В. К- Ерошин, 1984).

Одноклеточные организмы характеризуются высоким содержанием белка — от 40 до 80% и более. Белок одноклеточных богат лизином, незаменимой аминокислотой, определяющей его кормовую ценность. Добавка биомассы одноклеточных к недостаточным По лизину растительным кормам позволяет приблизить их аминокислотный состав к оптимальному. Недостатком биомассы одноклеточных является нехватка серусодержащих аминокислот, в первую очередь метионина. У одноклеточных его приблизительно вдвое меньше, чем в рыбной муке (О. Volfova, 1984). Этот недостаток присущ и таким традиционным белковым кормам, как соевая мука. Питательная . ценность биомассы одноклеточных может быть значительно повышена добавкой синтетического метионина.

Производство кормового возникающей при использовании углеводов как субстратов для крупномасштабного производства белка, — ограниченность их ресурсов (Г. К- Скрябин, В. К- Ерошин, 1984). Важнейшими альтернативными субстратами служит метанол, этанол, углеводы растительного происхождения, в перспективе водород.

Очищенный этанол на мировом рынке стоит почти вдвое дороже метанола (О. Volfova, 1984), но этанол отличается очень высокой эффективностью биоконверсии. Из 1 кг этанола можно получить до 880 г дрожжевой массы, а из 1 кг метанола— до 440 г (I. G. Minkevich, 1985). Биомасса из этанола особенно богата лизином — до 7% (О. Volfova, 1984).

Большое значение для животноводства имеет обогащение растительных кормов микробным белком. Для этого широко применяют твердофазные процессы

Перспективными источниками белка представляются фототрофные микроорганизмы, в особенности цианобактерии рода *Spirulina* и зеленые одноклеточные водоросли из родов *Chlorella* и *Scenedesmus*. Наряду с обычными аппаратами для их выращивания используют искусственные водоемы. Добавление к растительным кормам биомассы *Scenedesmus* позволяет резко повысить эффективность усвоения белков животными (А. Richmond, 1985).

Таким образом, существуют разнообразные источники сырья для получения биомассы одноклеточных. Некоторые субстраты (этанол) дают столь высококачественный белок, что он может быть рекомендован в пищу.

Цианобактерии рода *Spirulina* издавна используют в пищу ацтеки в Центральной Америке и племена, обитающие на озере Чад в Африке.