

ПОЛУЧЕНИЕ *IN PLANTA* ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ *BRASSICA NAPUS* L., УСТОЙЧИВЫХ К ГЛИФОСАТУ

Кулик Е.В., Селезнева Ю.В., Присяженко О.К., Добровольский С.А., Николайчик Е.А., Евтушенков А.Н.

Белорусский государственный университет; alena.kulik31@gmail.com

Получение трансгенных гербицидустойчивых культур является актуальным направлением современной сельскохозяйственной отрасли. Создание растений, устойчивых к широко используемому во всем мире гербициду глифосату (N-(фосфометил)-глицин), позволит существенно повысить эффективность сельскохозяйственного производства, значительно увеличить урожайность культур.

Важным этапом в процессе получения трансгенных растений является перенос в растительную клетку созданной генетической конструкции. В настоящее время широко используется метод кокультивации листовых эксплантов с суспензией агробактерий с последующей регенерацией трансформированных растений. Однако этот метод довольно трудоемкий, затратный, продолжительный по времени и требует соблюдения условий стерильности. Более перспективным является метод агробактериальной трансформации *in planta* без стадии культуры тканей.

Цель данной работы состояла в получении трансгенных растений рапса, устойчивых к глифосату, с использованием метода агробактериальной трансформации в условиях *in planta*. Трансформацию проводили штаммом с бинарным вектором, сконструированным на кафедре молекулярной биологии БГУ, несущим маркерный ген *nrpIII* устойчивости к антибиотику канамицину и целевой ген *aroA Dickeya dadantii* с одной мутацией, который кодирует измененную енолпирувиллицикатфосфат синтазу, что определяет устойчивость к гербициду глифосату. Материалом для трансформации служили 5-7 дневные проростки рапса сорта Прамень длиной 35-50 мм. Поражение проросткам наносили лезвием в область семядольного узла глубиной 2-3 мм. Затем растения опускали семядольными листочками на 2 минуты в агробактериальную суспензию. После агробактеризации проростки подсушивали на фильтровальной бумаге, высаживали в растильни с искусственной ионообменной почвой «Биона 311» и выдерживали сутки в темноте, в термостате при 28 °С. Для послераневой адаптации проростки культивировали в климатостате КС-200 СПУ в контролируемых условиях (24 °С, Д/Н=16/8 часов). Через 7-10 дней адаптации, растения высаживали в сосуды с почвой и продолжали культивировать в теплице. В фазе 4-5 настоящих листьев растения опрыскивались раствором глифосатсодержащего гербицида «Шквал». После проведения селекции на устойчивость к гербициду были отобраны первичные T₀ трансформанты, из которых выделена и проанализирована методом ПЦР геномная ДНК. В результате амплификации с использованием праймеров, специфичных к целевому гену, обнаружен ПЦР-продукт соответствующей длины, что указывает на получение методом *in planta* растений рапса, содержащих в геноме вставку гена *aroA*.