

УДК: 577.21: 57.085.1:577.233.3:633

**Воронова С. С.**, аспірант

**Гончарук О. М.**, молодший науковий співробітник

**Бавол А. В.**, науковий співробітник

**Дубровна О. В.**, доктор біологічних наук

Інститут фізіології рослин і генетики НАН

E-mail: s.voronova.s@gmail.com

## **ГЕНЕТИЧНЕ ПОЛІПШЕННЯ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L. EMEND. FIORI ET PAOL.) МЕТОДОМ *AGROBACTERIUM*-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ**

Останнім часом для генетичної трансформації рослин дослідники випробовують різні підходи. Одним з неградиційних підходів для здійснення переносу агробактеріальної Т-ДНК в однодольні рослини є метод *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta*, який дозволяє уникнути культивування *in vitro* і соматональної мінливості. Цей спосіб сьогодні успішно використовується для генетичної трансформації різних сільськогосподарських культур, в тому числі і пшениці.

Метою роботи було проведення *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta* м'якої пшениці з використанням штаму AGLO, що містить векторну конструкцію рВі2Е або рВі-ОАТ з генами метаболізму проліну.

Об'єктом дослідження служили рослини м'якої пшениці високоврожайного сорту Зимоярка. Трансформацію проводили з використанням двох векторних конструкцій. Перша конструкція містить бінарний вектор рВі2Е з цільовим геном – дволанцюговим РНК-супресором проліндегідрогенази, отриманим на основі гена *Arabidopsis* (ds-RNA suppressor ProDH1), а також селективний ген неоміцинфосфотрансферази II (*nptII*) *E. coli*. Друга конструкція містить бінарний вектор рВі-ОАТ з цільовим геном – орнітинамінотрансферази арабідопсиса, а також селективний ген неоміцинфосфотрансферази II (*nptII*) *E. coli*.

Суспензію клітин *A. tumefaciens* оптично щільністю  $OD_{660} = 0,5$  і додаванням 100 мкМ ацетосірінгону наносили на приймочку маточок за допомогою автоматичного піпет-дозатора. Після повного висихання суспензії проводили контрольоване запилення пилком, який був отриманий з інтактного колоса тієї ж рослини.

За трансформації *in planta* векторною конструкцією з рВі2Е було отримано 424 насінини  $T_0$ , а за трансформації векторною конструкцією з рВі-ОАТ – 411. Все отримане насіння пророщували на селективному середовищі і відбирали канаміцин-стійкі форми. При використанні рВі2Е отримали 16, а при трансформації рВі-ОАТ – 11 рослин, стійких до канаміцину. Стійкі форми вирощували до повної стиглості

зерна і отримання насіння  $T_1$ . Все отримане насіння  $T_1$  аналізували за допомогою ПЛР. Серед 261 проаналізованих насінин  $T_1$ , з конструкцією рВі2Е тільки у 37 підтверджено присутність гена *nptII*. Додатково всі зразки, в яких підтверджена наявність гена *nptII*, перевіряли на присутність гена *pdh* за наявністю екзона 1. Результат аналізу показав, що зазначений ген присутній тільки у чотирьох рослин. Серед 129 насінин  $T_1$ , отриманих з використанням конструкції рВі-ОАТ, у 46 підтверджено присутність гена *nptII*. Всі зразки, у яких підтверджено наявність гена *nptII*, перевіряли на присутність гена ОАТ. Результат аналізу показав, що зазначений ген присутній тільки у 7 рослин.

Таким чином, нами експериментально доведена можливість генетичної трансформації м'якої пшениці з використанням штаму AGLO, що містить плазмиду рВі2Е з дволанцюговим РНК-супресором гена проліндегідрогенази або рВі-ОАТ з геном орнітинамінотрансферази методом *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації *in planta*. Наявність трансгенів підтверджено методом ПЛР аналізу. Частота трансформації з повним вбудовуванням генетичної конструкції становить 1,53 %, при використанні векторної конструкції рВі2Е і 5,43 % при використанні векторної конструкції рВі-ОАТ. Аналіз зразків на присутність гена вірулентності (*VirC*) дозволив виключити бактеріальну контамінацію рослинного матеріалу.

УДК 633.361:631.53.011

**Гавриш С. Л.**, завідувач лабораторії селекції та первинного насінництва зернових і кормових культур  
Донецька державна сільськогосподарська дослідна станція НААН  
E-mail: cnzdiapw@ukr.net

## **ПОКРАЩЕННЯ ПОСІВНИХ ЯКОСТЕЙ НАСІННЯ ЕСПАРЦЕТУ**

Однією з причин зниження показників посівної якості насіння еспарцету, як і багатьох інших рослин, що належать до родини бобових, є те, що в посівному матеріалі завжди присутня певна кількість твердого насіння, яке зберігає життєздатний зародок, але має дуже міцну непроникну для води і повітря насінневу оболонку. Цілком життєздатне, воно довго не проростає. У польових умовах, особливо в літніх посівах, повільне проростання може спричинити суттєве зниження схожості.

Попередніми дослідженнями встановлено, що насіння, яке вилущене з плодкових оболонок і має пошкодженні насінневі оболонки потребує для проростання води на 30 % менше. Обрушене насіння набухає і починає проростати на 12–24 години швидше.

Застосування сіви обрушеним насінням еспарцету, як способу покращення його посівних якостей, стримується відсутністю роз-