

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ОСИНЫ *POPULUS TREMULA* С Пониженным содержанием лигнинов

Ковалицкая Ю.А., Даянова Л.К., Шестибратов К.А.

Филиал института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, Россия

Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия; kovalitskaya@inbox.ru

Процесс формирования клеточной стенки – один из важнейших этапов в жизни растения, от которого в дальнейшем зависит функционирование растения в целом. На состав древесины растений можно влиять двумя способами – подавлять активность нативных или осуществлять экспрессию новых ферментов. 4CL (4-кумарат-КоА-лигаза) ключевой фермент в биосинтезе лигнина по фенолпропаноидному пути. Изменение активности этого фермента в растении неизбежно должно привести к снижению содержания лигнина и изменению химического состава древесины. Целью работы было получение и анализ трансгенных растений осины *Populus tremula* с ингибированной экспрессией гена 4CL.

Нами была создана РНК-интерференционная конструкция с инвертированными повторами гена 4CL тополя и осуществлена агробактериальная трансформация растений осины *Populus tremula*. В качестве селективного гена был использован ген устойчивости к канамицину – *nptII*. Для трансформации осины (*Populus tremula*) использовали междоузлия растений, полученных *in vitro*. Селекцию трансгенных тканей проводили на питательных средах с содержанием канамицина 30 мг/л. Из всех полученных линий была выделена геномная ДНК и проанализирована методом ПЦР-анализа на присутствие селективного гена (*nptII*), целевой конструкции 4CL и отсутствие агробактериального гена *VirB*. Проведенный ПЦР-анализ подтвердил трансгенный статус 12 линий растений, трансформированных конструкцией 4CL.

Анализ древесины исследуемых линий показал изменение химического состава древесины по сравнению с исходным генотипом. Например, у линий PtXIII4CL4a и PtXIII4CL2c показано снижение содержания лигнина на 11 и 23%, а целлюлозы на 8 и 14% соответственно. Содержание пентозанов варьировало от 16,6 до 19%. В древесине растений линий PtXIII4CL2c и PtXIII4CL4a было отмечено увеличение соотношения целлюлоза/лигнин по сравнению с контролем на 18 и 3% соответственно. Высота растений линий PtXIII4CL2c и PtXIII4CL3a была на 30% ниже высоты растений исходного генотипа. Также отмечено изменение цвета древесины трансгенных растений осины и эффективности укоренения в зависимости от снижения сигнала транскрипции по данным ОТ-ПЦР у генотипов PtXIII4CL2c, PtXIII4CL3a и PtXIII4CL4a. Таким образом, подавление экспрессии гена 4CL в трансгенных растениях осины приводит не только к изменению химического состава древесины, но и к снижению высоты растений, понижению эффективности укоренения и к изменению цвета древесины.