

характеризующихся высокой устойчивостью к ржавчине и мучнистой росе, скороспелостью, повышенным содержанием белка в зерне.

1. Р.О. Давоян, И.В. Бебякина, Э.Р. Давоян, Н.Ю. Кекало. Использование генофонда диких сородичей для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы // Тез. межд. конф. «Генетика в 21 веке: современное состояние и перспективы развития». - Москва, 2004. – Т. 1. - С. 98.
2. В.И. Авсенин, И.И. Моцный, А.И. Рыбалка, В.И. Файт. Гибриды *Aegilops cylindrica* Host с *Triticum durum* Desf. и *T. aestivum* L. // Цитология и генетика. – 2003. – Т. 38, № 1. – С. 11-17.
3. D. Gruszecka, K. Kowalczyk. Yield structure of triticale strains achieved due to crossbreeding with *Aegilops* // Proc. 5<sup>th</sup> Inter. Triticale Symp., Radzikow, June 30 - July 5, 2002. – Poland, 2002. – V. 2. – P.345-349.
4. О.А. Орловская, Л.Н. Каминская. Оценка ряда хозяйственно-полезных признаков форм тритикале с включением генетического материала эгилопса // Материалы международной научно-практической конференции «Приоритетные направления в селекции и семеноводстве сельскохозяйственных растений в XXI веке». – Москва, 2003. – С. 414-417.
5. Н.П. Гончаров. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск: Сиб. ун., изд-во, 2002. 252 с.
6. H. Tsujimoto. Production of near-isogenic lines and marked monosomic lines in common wheat (*Triticum aestivum*) cv. Chinese Spring // J. Hered. 2001. V. 93, N 3. P. 254-259.
7. И.И. Моцный, Л.И. Омельченко, В.К. Симоненко. Наследование качественных признаков при гибридизации пшеницы с пшенично-элимусным амфиплоидом // Цитология и генетика.- 1997.- Т. 31, № 1.- С. 20-31.

## ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КЛЕВЕРА КРАСНОГО С ПОМОЩЬЮ АГРОБАКТЕРИАЛЬНОЙ *IN PLANTA* ТРАНСФОРМАЦИИ

И.В. Павлова<sup>1</sup>, Т.И. Фоменко<sup>2</sup>, В.В. Сикиржицкая<sup>3</sup>

<sup>1</sup> - Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси

<sup>2</sup> - ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Беларусь

<sup>3</sup> – Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*hakuroshya@yahoo.com*

Технология трансформации растений стала незаменимым инструментом для изучения функций генов и для создания сортов культурных растений. Достоинства этой технологии были опробованы на клевере красном – ценном фуражном растении, в ходе работ по экспрессии гена GUS [1] и по ингибированию собственного гена красного клевера – полифенол оксидазы в результате посттранскрипционного сайленсинга [2]. Эти результаты показывают, что получение трансгенного красного клевера является перспективной технологией при создании улучшенных сортов этой культуры. В наших экспериментах в качестве модельного растения использовали клевер красный сорта Витебчанин (НПЦ по земледелию НАНБ). Сорт Витебчанин диплоидный (2n=14), среднеспелый, со средней устойчивостью к болезням, внесенный в Госреестр в 1995 году. Конструкция Т-ДНК, содержит гены *npt II* устойчивости к канамицину и *CelE*, кодирующий  $\beta$ -1,4-глюканазу (целлюлазу) [3]. Агробактериальную *in planta* трансформацию проводили на 7-ми дневных проростках клевера по методу, описанному для гречихи [4]. После инокуляции проростки выдерживали 48 часов во влажных условиях фитотрона (24 °С, естественном фотопериоде с подсветкой 5000 лк в течение 9 часов), после чего растения пикировали в контейнеры с искусственной почвой Биона (производства ИФОХ НАНБ) и выращивали до кущения при тех же условиях.

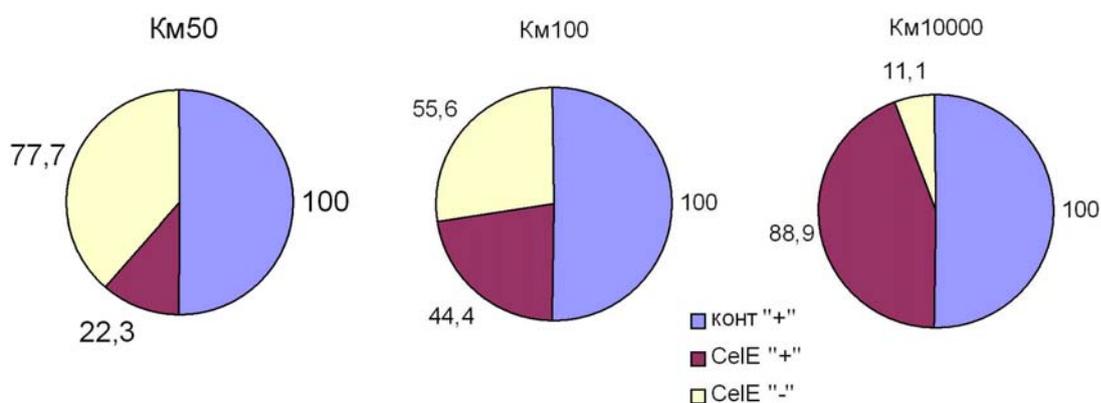
В таблице отражено количество полученных регенерантов клевера красного при *in planta* агробактериальной трансформации (июнь-август 2008 г.). Достоверных различий эффективностей получения регенерантов при контрольной (без инокуляции суспензией бактерий) и опытной (с инокуляцией раневой поверхности меристемы) обработками растений выявлено не было.

Получение регенерантов клевера красного через три недели после *in planta* агробактериальной трансформации, шт

Варианты опыта	Контроль	<i>CelE</i>
Обработано проростков*, шт	64	117
Получено регенерантов*, шт	40	91
Получено регенерантов, % от количества обработанных растений	61,8±3,56	80,5±17,49

\*- в ходе выполнения трех экспериментов.

По внешнему виду проростки в контроле и в опыте не различались в ходе наблюдения в течение полутора месяцев. На рисунке показаны результаты опыта по влиянию селективного фактора (канамицин) на состояние листовой поверхности регенерантов клевера в эксперименте. Примененные концентрации канамицина составляли 50 мкг/мл, 100 мкг/мл и 10 000 мкг/мл. В эксперименте использовали листовые пластинки на 10-ти побегах контрольных растений. На вторые сутки после нанесения на листовую поверхность (на участок с удаленным эпидермисом размером 1×2 мм) капли водного раствора канамицина наблюдали увядание участков ткани в радиусе 2-4 мм вокруг места нанесения всех концентраций раствора канамицина у контрольных растений. На листьях 10 побегов опытных растений наблюдали различные типы реакции. Отрицательной реакцией было принято считать отсутствие увядания тканей вокруг места нанесения раствора канамицина на 2-3 сутки. Количество побегов опытных растений, листья которых давали положительную реакцию на канамицин, увеличивалось с увеличением его концентрации.



**Рис.** Реакция листовой ткани опытных (*CelE*) и контрольных растений клевера красного сорта Витебчанин на действие различных концентраций канамицина (мкг/мл), выраженная в процентах количества прореагировавших побегов от общего количества испытанных побегов (на каждом побеге канамицин наносился на одну из трех листовых поверхностей молодого, развернувшегося листа). «+» - увядание на 2-е сутки, «-» - отсутствие увядания.

Анализ геномной ДНК (выделена с использованием реактивов «ДНК-сорб-С» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Кат.№ К1-6-50) из побегов опытных растений клевера с помощью ПЦР с использованием праймеров к участку 35S промотора Т-ДНК (L-4: АСА АТС ССА СТА ТСС ТТС GC и L-5: GTC АCG АCG TTG ТАА ААС GA), последующий электрофорез в 1% агарозном геле с добавлением бромистого этидия и визуализация продуктов в UV-свете показали наличие Т-ДНК у 7-ми из 22-х проанализированных опытных побегов.

В результате *in planta* агробактериальной трансформации с использованием плазмиды p35S $\text{CelE}$  получены регенеранты клевера красного диплоидного сорта Витебчанин. Регенеранты адаптированы к условиям культивирования *in vivo*. Выявлены побеги с различной восприимчивостью к действию селективного агента – канамицина и несущие использованную T-ДНК в составе геномной ДНК части побегов.

1. K.H. Quessenberry, D.S. Wofford, R.L. Smith, P.A. Krottje, F. Tcacenco. Production of red clover transgenic for neomycin phosphotransferase II using Agrobacterium // Crop Science.- 1996. – V. 36. – p. 1045-1048.
2. M.L. Sullivan, K.H. Quensenberry. Transformation of selected red clover genotypes. Methods in molecular biology. V. 343.- P. 369-382.
3. P.M. Абдеев, И.В. Голденкова, К.А. Мусийчук, Э.С. Пирузян. Изучение свойств термостабильной целлюлазы CelE Clostridium thermocellum с целью экспрессии в растениях // Биохимия. 2001.- Т.66.- вып.7- с.39-42.
4. M. Kojima, Y. Arai, N. Iwase, K. Shirotori, H. Shioiri, M. Nozue. Development of a simple and efficient method for transformation of buckwheat plants (Fagopyrum esculentum) using Agrobacterium tumefaciens // Biosci. Biotechnol Biochem. 2000. - V. 64. – p. 845-847.

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА В ЗЕРНЕ ОЗИМОЙ РЖИ В ГИБРИДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

О.С. Радовня, В.Л. Копылович

Полесский филиал РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»  
mzpolfl@mail.gomel.by

В Беларуси уже имеются как отечественные, так и зарубежные сорта, которые при отсутствии полегания и при соответствующей агротехнике могут обеспечить урожайность более 50 ц/га. Однако наряду с высокой урожайностью к современным сортам озимой ржи предъявляется ряд других требований, в том числе и по качеству зерна.

Важнейшими показателями качества озимой ржи в настоящее время являются устойчивость к прорастанию на корню и повышенное содержание белка, от которых зависят хлебопекарные и пищевые (кормовые) достоинства зерна.

Отрицательная взаимосвязь между уровнем урожая и содержанием белка общеизвестна. Вместе с тем встречаются публикации, что содержание сырого протеина в зерне озимой ржи в малой степени связано с другими важными селекционными признаками. В связи с чем возможно вести одновременную селекцию на повышенное содержания сырого белка и другие признаки. Очевидно, что результативность селекционной работы в этом направлении во многом зависит от исходного материала, применяемых методов селекции, полученным ранее данным по закономерностям наследования.

В связи с этим в наших исследованиях по созданию нового исходного материала в селекции озимой ржи на качество мы уделяли большое внимание на содержание белка в зерне.

В качестве гипотезы предполагалось, что жесткий повторный индивидуальный отбор в гибридной популяции, проводимый: на элементы качества (соответствующие модели идеального сорта для Беларуси) и на устойчивость к прорастанию, сопровождаемый с отбором только средне и высокобелковых фенотипов позволит за ряд лет сформировать новый исходный материал, сочетающий как высокую продуктивность, так и повышенное содержание белка в зерне.

Исследования проводились в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию».

Схема процесса создания нового исходного материала озимой ржи включала:

1. Отбор из 3 гибридных популяций (F<sub>3</sub>- F<sub>4</sub>) высокопродуктивных растений с высокими хлебопекарными качествами. В результате было выделено 127 элитных растений с числом падения зерна 126-323 с. (2005 год);