

22-741

НА ДОМ НЕ ВЫДАЕТСЯ

КОРНИЕНКО А.В. ЛЕВЕНКО Б.А. БОГОМОЛОВА Н.М.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

монография

22-00741



Министерство образования и науки Российской Федерации
Российская академия сельскохозяйственных наук

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова
Министерство сельского хозяйства РФ

КОРНИЕНКО А.В, ЛЕВЕНКО Б.А, БОГОМОЛОВА Н.М.

**РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ТРАНСГЕННЫХ
РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ**

Монография

Воронеж 2021

УДК 633.63: 575

ББК 42.15

К67

Рецензенты: Шевченко В.Е., профессор ВГАУ, заслуженный работник сельского хозяйства РФ,
Федулова Т.П., доктор биологических наук.

Корниенко А.В., Левенко Б.А., Богомоллова Н.М., **РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ.**

– Воронеж, Воронежский ЦНТИ, - филиал ФГБУ «РЭА» Минэнерго России, 2021. – 115 с.

ISBN 978-5-4218-0427-7

Под редакцией: Корниенко А.В. доктора сельскохозяйственных наук, профессора, член корр. РАСХН, члена Международного института свеклы (IRB), академика ЭА, академика МАИ, иностранного члена НААН Украины, Заслуженного деятеля науки РФ.

В монографии рассмотрены методы получения трансгенных растениях сахарной свеклы, разработки прямой регенерации растений. Система генетической трансформации сахарной свеклы. Получение трансгенные растения сахарной свеклы с генами мутантным, обуславливающими устойчивость к гербицидам широкого спектра действия. Продемонстрирована возможность использования коммерческого гербицида в качестве селективного агента при скрининге трансформантов, несущих ген.

Книга предназначена для селекционеров, семеноводов, товаропроизводителей, переработчиков, работающих по сахарной свекле, а также для сотрудников НИИ сельского хозяйства, где проводится работа с данной культурой, и для преподавателей, аспирантов и студентов сельскохозяйственных вузов, выполняющих исследования по частной генетике и селекции сахарной свеклы и другим корнеплодам и перекрестно опыляющим культурам.

© **КОРНИЕНКО А.В., 2021**

© **ЛЕВЕНКО Б.А., 2021**

© **БОГОМОЛЛОВА Н. М. , 2021**

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Генетическая трансформация растений с помощью <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	13
1.1.1. Взаимодействие между <i>Agrobacterium</i> и растительной клеткой	13
1.1.2. Строение Ti-плазмиды	14
1.1.3. Перенос T-ДНК	16
1.1.4. Особенности строения плазмидных векторов и генетическая трансформация растений	18
1.2. Гербициды широкого спектра действия	22
1.2.1. Общая характеристика гербицидов широкого спектра действия	22
1.2.2. Механизмы действия гербицидов глифосата и фосфинотрицина	25
1.3. Инженерия растений, устойчивых к гербицидам широкого спектра действия	27
1.3.1. Трансгенные растения, устойчивые к глифосату	27
1.3.2. Трансгенные растения, устойчивые к фосфинотрицину	30
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	34
2.1. Характеристика растительного материала и плазмидных векторов, используемых в работах по трансформации ...	34
2.2. Характеристика методов исследования	36
2.2.1. Выделение эксплантов и регенерация растений .	36
2.2.2. Трансформация сахарной свеклы	38
2.2.3. Анализ ядерной ДНК растений	39

2.2.3.1. Выделение и очистка ядерной ДНК(ядНК) расте- ний	39
2.2.3.2. Рестрикция яДНК	39
2.2.3.3. Получение ДНК-зонда для гибридизации с яДНК.....	40
2.2.3.4. ДОТ-гибридизация яДНК	40
2.2.3.5. Саузерн-блоттинг яДНК.....	41
2.2.4. Цитогенетический анализ	42
2.2.5. Статистическая обработка	42
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	43
3.1. Разработка системы регенерации сахарной свеклы путем прямого органогенеза	43
3.1.1. Влияние генотипа	44
3.1.2. Значение экспланта	50
3.1.3. Роль питательной среды.....	57
3.1.4. Влияние условий культивирования.....	63
3.2. Трансформация сахарной свеклы с использованием <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	65
3.2.1. Определение параметров кокультивирования экс- плантов с <i>Agrobacterium</i>	66
3.2.2. Получение трансформированных растений.....	67
3.3. Молекулярно-биологический анализ трансформиро- ванных растений	73
3.3.1 Анализ хромосомной ДНК методом ДОТ- гибридизации.....	74
3.3.2 Анализ хромосомной ДНК методом Саузерн- блоттинга.....	76
3.4. Биологические особенности трансгенных растений.....	79
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	85

ВЫВОДЫ.....	87
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	89
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	114