

Методы агробактериальной трансформации различных сортов *Camelina sativa* L.

П.Л. Ражина^{1*}, А.А. Веселкин¹, П.И. Козенкова², М.В. Лебедева¹, В.В. Таранов¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

² Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва, Россия

* razhinapolina@yandex.ru

Цель: Разработать эффективный протокол агробактериальной трансформации отечественных сортов *Camelina sativa* с целью дальнейшего геномного редактирования.

Материалы и методы: В работе использовались три сорта рыжика посевного (*C. sativa*): Кристалл, Омич и Исилюлец, предоставленные селекционерами ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Использовались два принципиально отличающихся подхода трансформации: *in planta*, методом погружения соцветий (floral dip), и *in vitro*, путем агробактериальной трансформации культуры клеток и тканей. В ходе работы был использован вектор с репортерной кассетой Ruby, которая обеспечивает синтез пигмента беталаина, и геном, придающим растениям устойчивость к гиромоцину. Для трансформации методом floral dip было использовано два штамма *Agrobacterium tumefaciens*: AGL0 и EHA105 при двух различных концентрациях органосиликонового ПАВ Silwet® L-77: 0,02 и 0,05%. Для трансформации *in vitro* были использованы гипокотили и семядоли пятидневных проростков.

Результаты: После трансформации методом floral dip было получено 6 581 семя, 80 из которых проявляли красный окрас за счет синтеза беталаина. В дальнейшем эти семена были пророщены *in vitro* на среде с гиромоцином и проверены методом ПЦР на наличие вставки. Средняя эффективность по всем сортам составила 1,2%. При этом наибольшая эффективность (свыше 2%) трансформации проявлялась у сортов Кристалл и Исилюлец при использовании штамма EHA 105 и Silwet® L-77 в концентрации 0,02%. Сорт Омич показал вдвое меньшую эффективность при трансформации этим методом.

Эффективность получения трансгенных каллусов (окрашенных в красный цвет) с помощью агробактериальной трансформации *in vitro* оказалась выше: 6,25% для гипокотилей и 19,4% для семядолей. Однако накопление беталаина, по всей видимости, отрицательно влияло на успешность регенерации из каллуса, так как не удалось добиться регенерации побегов из трансгенных каллусов, несмотря на то что регенерация контрольных растений шла достаточно хорошо.

Выводы: Были разработаны протоколы агробактериальной трансформации рыжика посевного двумя разными подходами. Метод floral dip оказался более подходящим для получения большой выборки семян, из которых возможно отобрать трансгенные растения, однако для него желателен визуальный маркер для отбора. Трансформация *in vitro* потенциально обладает большей эффективностью, но требует дальнейшей оптимизации.