

## ОСОБЕННОСТИ АГРОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ КЛЕЩЕВИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ СОРТОВ ЗАНЗИБАР ГРИН И ИМПАЛА БРОНЗОВАЯ

Н.Р. Петров, О.С. Александров

ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

Клещевина обыкновенная (*Ricinus Communis* L.) является распространённой технической культурой. В процессе переработки из неё получают касторовое масло, а также рицинолевуую кислоту, которые имеют широкое применение в народном хозяйстве (da Silva et al., 2006; Ogunniyi, 2006). При производстве касторового масла побочным продуктом производства является жмых, который в последствии могут применяться в качестве высокобелковых биодобавок в животноводстве (Кононенко, 2006). Проблемой применения жмыха клещевины является наличие фитотоксинов: белка рицина и алкалоида рицинина. Данные токсины оказывают негативное действие на организм, вызывая расстройства ЦНС, свертывание крови и необратимое разрушение тканей (de Souza L.C.M. et al, 2018). В связи с этим весьма актуальным является вопрос детоксификации клещевины.

При детоксификации данных токсинов жмыхи подвергают термическим и химическим обработкам, что в дальнейшем отрицательно влияет на качество получаемого белка. Перспективным является поиск новых путей детоксификации. Одним из самых вариантов решения проблемы является геномное редактирование с помощью технологии CRISPR/Cas9. В данной работе представлены результаты агробактериальной трансформации клещевины как необходимая часть данной технологии.

Работа проводилась на донорных асептических растениях, полученных из семян отечественного сорта клещевины обыкновенной Импапа Бронзовая. Перед проращиванием семена подвергали стерилизации в 96 % этаноле и хлорсодержащем дезинфекторе, после чего проращивали на безгормональной среде MS в течение 2–3 недель. В качестве доноров приоритет отдавался молодым субтильным растениям, из которых в дальнейшем получали экспланты. В качестве эксплантов использовались различные сегменты растения: гипокотили, черешки и пластинки семядольных листьев, а также пластинки настоящих листьев.

Для инокуляции около 150 эксплантов помещали в неагаризованную среду MS с добавлением бактериальной суспензии, после чего их переносили на безгормональную твёрдую среду MS для сокультивации. На третьи сутки экспланты переносили для отмывки от остатков бактериальной смеси в жидкую среду MS с добавлением антибиотика (400 мг/л амоксицикла). Дальнейшую культивацию проводили на питательной среде MS с добавлением 1 мг/л зеатина, 0,1 мг/л ИУК, 1 г/л амоксицикла, 10 мг/л гигромицина.

Исследование показало, что на 6–7 сутки на эксплантах проходят активные процессы каллусогенеза. В вариантах из гипокотилей и черешков каллус образовывался на местах срезов. В вариантах с семядольными листьями каллусообразование наблюдалось на прилегающей к среде поверхности. На 11–13 сутки у черешков и гипокотилей образовывались меристематические очаги, развивающиеся в дальнейшем по пути геммогенеза.

Из растительного материала полученных образований выделяли ДНК методом СТАВ (Doyle and Doyle, 1990), полученные образцы подвергали ПЦР-анализу, который показал трансгенную природу полученных регенерантов клещевины обыкновенной.

**Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, проект № 19–76–00040 «Создание перспективного материала для селекции клещевины на отсутствие рицина».**

### ЛИТЕРАТУРА

1. da Silva, N.L., Maciel, M.R.W., Batistella, C.B. and Filho, R.M. (2006). Optimization of biodiesel production from castor oil. Appl. Biochem. Biotechnol. 130: 405–14
2. Ogunniyi D.S. Castor oil: a vital industrial raw material //Bioresource technology. – 2006. – Т. 97. – №. 9. – С. 1086–1091.
3. Кононенко С.И. Влияние режимов влаготепловой обработки клещевины на продуктивность свиней // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. 2006. Т. 1. – №. 1.
4. de Souza L.C.M. et al. Cell toxicity by ricin and elucidation of mechanism of Ricin inactivation //International journal of biological macromolecules. – 2018. – Т. 113. – С. 821–828.
5. Doyl J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue //Focus. – 1990. – Т. 12. – С. 13–15.