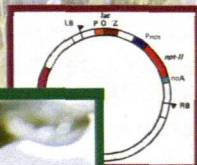


**АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
СИБИРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ОВОЩЕВОДСТВА**

ДУБЛЕТ

**по получению трансгенных растений
капусты белокочанной,
устойчивых к фитопатогенам
(на примере введения гена *mf3*)**

09-13002



Москва -2009

Методические рекомендации подготовлены сотрудниками ГНУ Всероссийского научно-исследовательского института овощеводства Россельхозакадемии А.В. Поляковым, О.Ф. Шарафовой, С.А. Зонтиковой.

Рекомендации рассмотрены и рекомендованы к изданию Методической комиссией по селекции, семеноводству и биотехнологии ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии (протокол №13 от 22 октября 2009 г.), а также Ученым Советом ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии (протокол №13 от 28 октября 2009 г.).

Рекомендации предназначены для специалистов научно-исследовательских учреждений, занимающихся биотехнологией и селекцией овощных, бахчевых и других культур, а также для преподавателей ВУЗов и аспирантов.

Ответственный за выпуск – заместитель директора по науке,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор В.А. Борисов.

ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии, 2009 г.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ РАСТЕНИЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ФИТОПАТОГЕНАМ	4
Получение трансгенных растений методом агробактериальной трансформации	6
ПОЛУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ	9
Исходный материал	9
Стерилизация и проращивание семян	10
Регенерация растений капусты белокочанной <i>in vitro</i>	10
Регенерационная система капусты белокочанной	14
ТРАНСФОРМАЦИЯ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ	14
Размножение и культивирование агробактерий	14
Выделение колоний и получение суточной бактериальной культуры	15
Подготовка и культивирование агробактерий на твердой питательной среде	16
Длительное хранение бактерий	16
Агробактериальная трансформация эксплантов капусты белокочанной	17
Селекция трансформантов	17
ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСФОРМАЦИИ	18
Плотность суспензии агробактерий	18
Поранение эксплантов	20
Длительность инокулирования и сокультивирования эксплантов с агробактерией	20
Возраст экспланта и длительность прекультивирования	21
ОЦЕНКА ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ	23
Экспрессия трансгена в растительном организме	23
Молекулярно-биологический анализ растений-регенерантов	24
Экспресс-оценка при проращивании семян (T_1) на фоне канамицина	26
Экспресс-оценка капусты белокочанной при проращивании семян (T_1) на фоне фузариевой кислоты	27
Экспресс-оценка капусты белокочанной поколения T_1 на устойчивость к киле (<i>Plasmodiophora brassicae</i> Wor.)	28
Характеристика трансгенных растений капусты белокочанной по морфологическим признакам	29
СХЕМА АГРОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ	30
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	31