

Национальная академия наук Беларуси
Центральный ботанический сад

Опыт и перспективы выращивания нетрадиционных ягодных растений на территории Беларуси и сопредельных стран

Материалы Международного научно-практического семинара
г. Минск — г. Ганцевичи, 28 сентября — 1 октября 2021 г.

Минск
«Медисонт»
2021

УДК 634.7
ББК 42.358-4я43
О-62

International Scientific and Practical Seminar
«Experience and prospects of growing of unconventional berry
plants in Belarus and neighbouring countries»

Редакционная коллегия:

В. В. Титок, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
Ж. А. Рупасова, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
Л. В. Гончарова, канд. биол. наук; *Н. Б. Павловский*, канд. биол. наук;
Т. И. Ленковец; *С. М. Кузьменкова*.

Рецензенты:

В. В. Титок, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
В. Н. Решетников, д-р биол. наук, академик НАН Беларуси.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций

О-62 **Опыт** и перспективы выращивания нетрадиционных ягодных растений на территории Беларуси и сопредельных стран : материалы Международного научно-практического семинара (г. Минск — г. Ганцевичи, 28 сентября — 1 октября 2021 г.) / Национальная академия наук Беларуси; Центральный ботанический сад ; редкол.: В. В. Титок [и др.]. — Минск : Медисонт, 2021. — 148 с.

ISBN 978-985-7261-71-0.

В сборнике представлены результаты исследований ученых Беларуси и России по проблемам и перспективам развития нетрадиционного ягодоводства культур, которые вызывают интерес и нарастающий спрос у потребителей и производителей: голубики высокой, клюквы крупноплодной, брусники обыкновенной, жимолости съедобной, калины обыкновенной, боярышника мягковатого, бузины черной и др. В материалах освещены этапы истории интродукции ягодных растений семейства *Ericaceae* Juss. в Беларусь, координации и научного сопровождения работ по развитию нетрадиционного промышленного ягодоводства, актуальные вопросы биохимии, биотехнологии, экологии, а также размножения, выращивания ягодных растений, хранения и переработки их плодов.

УДК 634.7
ББК 42.358-4я43

ISBN 978-985-7261-71-0

© Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси, 2021
© Оформление. ООО «Медисонт», 2021

Молекулярно-биологическая характеристика *Vaccinium vitis-idaea* L.

О. В. Чижик, А. Н. Юхимук

Беларусь, Минск, Центральный ботанический сад НАН Беларуси

Фундаментальным аспектом научных исследований отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси является изучение молекулярно-генетических и биохимических показателей состава растений как инструмента таксономии их биологического разнообразия, поиск и скрининг биологически активных веществ на основе теории гомологичных рядов.

Цель работы — молекулярно-генетическая паспортизация видов и подвидовых таксонов *Vaccinium vitis-idaea* L. и протеомные исследования: выявление белков-маркеров видовой и сортовой принадлежности представителей сем. *Ericaceae*, а также белков-маркеров физиологического состояния растений.

Объект исследования — растения брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) хозяйственно ценных интродуцированных сортов: Коралл, Рубин, Эрнтезеген, Мазовия, *Vaccinium vitis-idaea* L. var. minus.

Из растительной ткани отобранных таксонов методом СТАВ-экстракции в нашей модификации получены препараты тотальной ДНК брусники обыкновенной сортовой [1]. Образцы заложены в Банк ДНК отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС.

Для маркирования ДНК исследуемых образцов брусники была выбрана маркерная система SCoT (*Start Codon Targeted*), ассоциированная с кодирующими регионами генома [2–4]. Для проведения молекулярно-генетической идентификации исследуемых таксонов были отобраны праймеры, обладающие достаточным полиморфизмом и имеющие воспроизводимую ампли-

фикационную активность. Проведена кластеризация исследованных генотипов подвидовых таксонов *Vaccinium vitis-idaea* L. по методу UPGMA и сконструированы дендрограммы. Проведенное мультилокусное маркирование генотипов подвидовых таксонов *Vaccinium vitis-idaea* L. с использованием маркерной системы SCoT позволило дифференцировать все исследованные генотипы, разработать и составить уникальные профили для каждого из них, рассчитать генетические дистанции родства/отдаленности. На основании полученных мультилокусных ДНК-спектров впервые разработаны генетические паспорта (табл.).

Структура и функции клеток определяются активностью генов. Активирование одних генов и репрессирование других приводит к изменению в белковом составе клеток. Поэтому задачей следующего этапа наших исследований являлось получение и сопоставление протеомных карт, оценка функциональных особенностей продуктов экспрессированного генома, а также выявление биохимических маркеров, отражающих закономерности развития растений и каллусных культур.

На основе проведенных исследований впервые получены протеомные карты дифференцированных и дедифференцированных

Таблица — Молекулярно-генетические паспорта подвидовых таксонов *Vaccinium vitis-idaea* L. с праймером SCoT-18

Таксоны	ДНК-маркеры
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. cv. Коралл	SCoT18 _{1525'} , SCoT18 _{1301'} , SCoT18 _{1073'} , SCoT18 _{874'} , SCoT18 _{701'} , SCoT18 _{658'} , SCoT18 _{501'} , SCoT18 ₃₉₉
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. cv. Рубин	SCoT18 _{1888'} , SCoT18 _{1653'} , SCoT18 _{1525'} , SCoT18 _{1301'} , SCoT18 _{1073'} , SCoT18 _{874'} , SCoT18 _{701'} , SCoT18 _{658'} , SCoT18 _{501'} , SCoT18 ₄₆₁
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. cv. Эрнтезеген	SCoT18 _{1888'} , SCoT18 _{1301'} , SCoT18 _{1073'} , SCoT18 _{874'} , SCoT18 _{701'} , SCoT18 _{501'} , SCoT18 _{461'} , SCoT18 ₃₉₉
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. cv. Мазовия	SCoT18 _{1525'} , SCoT18 _{1301'} , SCoT18 _{1073'} , SCoT18 _{874'} , SCoT18 _{701'} , SCoT18 _{658'} , SCoT18 _{501'} , SCoT18 ₃₉₉
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	SCoT18 _{1525'} , SCoT18 _{1301'} , SCoT18 _{1073'} , SCoT18 _{874'} , SCoT18 _{701'} , SCoT18 _{658'} , SCoT18 _{501'} , SCoT18 ₄₆₁
<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. var. minus	SCoT18 _{1888'} , SCoT18 _{1746'} , SCoT18 _{1525'} , SCoT18 _{1301'} , SCoT18 _{874'} , SCoT18 _{701'} , SCoT18 _{658'} , SCoT18 ₅₀₁

тканей растений брусники обыкновенной, а также каллусных культур, инициированных из листовой и стеблевой ткани этих растений. Общую фракцию клеточных белков получали методом ТХУ / ацетоновой преципитации по Amme [5] в нашей модификации. Изоэлектрофокусирование на IPG — стрипах проводили на автоматической станции Protean i12 IEF Cell (Bio-Rad). Второе направление 2D-электрофореза — по методу Laemmli [6] на готовых гелях Criterion TGX Precast Midi Protein Gel, Bio-Rad.

На протеомных картах брусники наблюдали сходные по молекулярным массам группы белков, а также дифференциально экспрессирующиеся отдельные белки, являющиеся характерными для вида брусника обыкновенная и претендующие на роль маркерных для вида *Vaccinium vitis-idaea* L.

В результате скрининга протеомов брусники разных таксонов также были выявлены дифференциально экспрессирующиеся белки, характерные только для растений определенного сорта, которые могут претендовать на роль белков-маркеров сортовой принадлежности (рис. 1). Маркеры *Vaccinium vitis idaea* subsp. *Minus*: кислый белок Мм 23,7 кДа, рI 5,5 (предположительно, фрагмент субъединицы 2 цитохромоксидазы) и основной белок с Мм 38,0 кДа, рI 8,3 (предположительно, флавонол синтаза); маркеры брусники сорта Коралл — кислый белок с Мм 18,8 кДа, рI 4,8 (фрагмент фитохрома В) и белок с Мм 28,9 кД и, рI 7,9 (фрагмент фермента Maturase K).

В процессе исследований было обнаружено, что каллусы *Vaccinium vitis-idaea* L, инициированные из определенного типа ткани (лист, стебель), содержат белки, характерные для того же типа ткани, из которой был получен каллус (рис. 2).

Так, при сравнении протеомных карт общего пула белков листовой ткани и листового каллуса брусники сорта Коралл обнаружены ферменты фотосинтеза: белки, входящие в состав большой субъединицы РБФК, белки субъединицы НАДФ дегидрогеназы и цитохрома b6. Для листовой ткани — это белок с Мм 51,5 кДа (Ribulose biphosphate carboxylase large chain) и Мм 25,3 кДа (Cytochrome b6), листового каллуса — белок с Мм 45,2 кДа (предположительно, NADH dehydrogenase subunit F) и Мм 25,3 кДа —

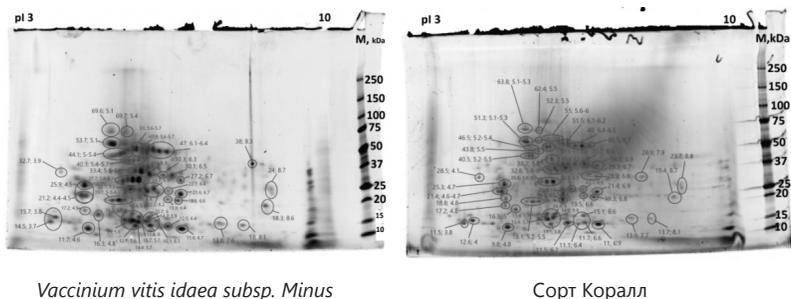


Рисунок 1 — Протеомный профиль общего пула белков листовой ткани *Vaccinium vitis-idaea L.*

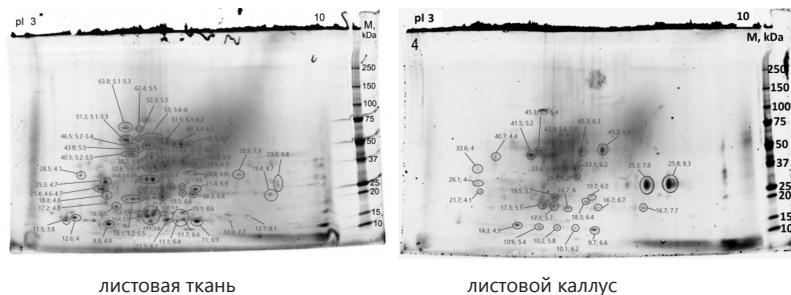


Рисунок 2 — Протеомный профиль общего пула белков листовой ткани и листового каллуса *Vaccinium vitis-idaea L.*, сорт Коралл

Cytochrome b6. Идентификация дифференциально экспрессирующихся белков проведена с использованием базы данных UniProt (<https://www.uniprot.org/>).

Практическое применение и рекомендации по использованию результатов научных исследований: полученные результаты носят фундаментальный характер и развивают биологию ценных ягодных культур и лекарственных растений, а также научные подходы к их использованию.

Список использованной литературы

1. Dempster E. L., Pryor K. V., Francis D., Young J. E., Rogers H. J. Rapid DNA extraction from ferns for PCR-based analyses // *Biotechniques*. — 1999. — Vol. 27(1). — P. 66–68.
2. Collard B. C. Y., Mackill D. J. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants // *Plant Mol Biol Rep*. — 2009. — Vol. 27. — P. 86–93.
3. Mahjbi A., Baraket G., Oueslati A., Salhi-Hannachi A. Start Codon Targeted (SCoT) markers provide new insights into the genetic diversity analysis and characterization of Tunisian Citrus species // *Biochemical Systematics and Ecology*. — 2015. — V. 61. — P. 390–398.
4. Da-Long Guo, Jun-Yu Zhang, Chong-Huai Liu. Genetic diversity in some grape varieties revealed by SCoT analyses // *Mol Biol Rep*. — 2012. — V. 39. — P. 5307–5313.
5. Amme S. A proteome approach defines protective functions of tobacco leaf trichomes // *Proteomics*. — 2005. — Vol. 5. — № 10. — P. 2508–2518.
6. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. — 1970. — Vol. 227. — № 5259. — P. 680–685.