

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
Центральный ботанический сад  
Научно-практический центр по биоресурсам  
Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича  
Институт леса



## **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов**

Материалы III Международной конференции,  
посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского  
(7–9 октября 2015 г., Минск, Беларусь)

**В двух частях  
Часть 1**

**Секция 1. Ресурсы и биоразнообразие растительного мира:  
современное состояние, воспроизводство, охрана  
и устойчивое использование**

**Секция 2. Современные направления изучения  
ботанических коллекций для сохранения  
и рационального использования  
биоразнообразия растительного мира**

Минск  
«Конфидо»  
2015

УДК 502.174:574.1(082)

ББК 20.18я43

П78

**Редакционная коллегия:**

*д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.В. Титок (ответственный редактор),*

*д.б.н. Е.И. Анисимова,*

*к.б.н. Б.Ю. Аношенко,*

*к.б.н. Д.Б. Беломесецева,*

*к.б.н. П.Н. Белый,*

*д.б.н. Е.И. Бычкова,*

*к.б.н. Т.В. Волкова,*

*к.б.н. Л.В. Гончарова,*

*д.б.н. С.А. Дмитриева,*

*к.б.н. Е.Я. Куликова,*

*к.б.н. А.В. Пугачевский,*

*д.б.н., чл.-кор. НАН Беларуси В.П. Семенченко,*

*к.б.н. В.А. Цинкевич*

Материалы печатаются в авторской редакции.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций.

П78 **Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов:** материалы III Международной научно-практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. (7–9 октября 2015, Минск, Беларусь). В 2 ч. Ч. 1 / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]; редкол.: В.В. Титок [и др.]. – Минск: Конфидо, 2015. – 514 с.

ISBN 978-985-6777-74-8.

В сборнике представлены материалы III Международной научно-практической конференции «Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов», посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского. Часть 1: секция 1 «Ресурсы и биоразнообразие растительного мира: современное состояние, воспроизводство, охрана и устойчивое использование» и секция 2 «Современные направления изучения ботанических коллекций для сохранения и рационального использования биоразнообразия растительного мира».

**УДК 502.174:574.1(082)**

**ББК 20.18я43**

**ISBN 978-985-6777-74-8**

© ГНУ «Центральный ботанический сад  
Национальной академии наук Беларуси», 2015  
© Оформление. ЗАО «Конфидо», 2015

## Оценка коллекции сортов голубики высокорослой Центрального ботанического сада НАН Беларуси на наличие вирусной инфекции

Кузмицкая П.В.<sup>1</sup>, Урбанович О.Ю.<sup>1</sup>, Анощенко Б.Ю.<sup>2</sup>, Титок В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, O.Urbanovich@igc.bas-net.by

<sup>2</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

**Резюме.** Проведена оценка распространения BLScV, TRSV, TomRSV, PRMV и BLSHV вирусов среди растений голубики из коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Тестированию подверглись 42 сорта голубики высокорослой. В результате установлено, что все растения были свободными от основных вирусных инфекций, поражающих эту культуру.

**Summary.** Kuzmitskaya P.V., Urbanovich O.Yu., Anoshenko B.Yu., Titok V.V. **Virus infection assessment of blueberry variety collection from Central Botanical Garden (Minsk, Belarus).** Presence of BLScV, TRSV, TomRSV, PRMV and BLSHV blueberry viruses in the collection of Central Botanical Garden of NAS of Belarus was evaluated among 42 varieties using molecular markers. All tested plants were found to be free from viruses analyzed.

Голубика является ценной ягодной и лекарственной культурой, произрастающей в странах северного полушария. В настоящее время она рассматривается как промышленная культура во многих странах мира, в том числе и в Беларуси. Интерес к голубике обусловлен вкусовыми и пищевыми качествами ее плодов. Ягоды, получаемые от этого растения, а также продукты их переработки обладают ценными пищевыми и лечебными свойствами, поскольку содержат большое количество биологически активных веществ [1].

Для рационального промышленного культивирования голубики необходимы знания о болезнях и вредителях, способных нанести урон росту и развитию растения, а также снизить его урожайность. Важной группой патогенов являются вирусы, которые могут передаваться от одного растения другому при их вегетативном размножении, а также с помощью насекомых-переносчиков.

По данным международной организации ЕРРО (European and Mediterranean Plant Protection Organization), опасность для насаждений голубики представляет ряд вирусных инфекций, среди которых отмечены вирус ожога голубики (BLScV, Blueberry scorch virus), вирус кольцевой пятнистости табака (TRSV, Tobacco ringspot nepovirus = blueberry necrotic ringspot virus), вирус кольцевой пятнистости томата (TomRSV, Tomato ringspot nepovirus), розеточная мозаика персика (PRMV, Peach rosette mosaic nepovirus) и вирус шока голубики (Blueberry shock ilarvirus, BLSHV) [2].

Вирус ожога голубики принадлежит к роду *Carlavirus*. Геном вируса представляет собой однонитевую РНК. Она упакована в извилистые частицы длиной около 610–700 нм. Симптомы у пораженных растений голубики могут варьироваться в зависимости от сортовой принадлежности растения. В отдельных случаях инфекция может протекать бессимптомно, в то время как у других растений наблюдается некроз цветков и листьев вплоть до отмирания ветвей, в конечном итоге приводящий к гибели растения. Вирус распространяется с помощью тли (*Fimbriaphis fimbriata* R.), а также при вегетативном размножении зараженных растений [3].

Вирусы TRSV и TomRSV являются причиной возникновения некротической кольцевой пятнистости. Симптомы обоих вирусов сходны, поэтому для дифференциации возбудителей требуется проведение диагностических тестов. TRSV и TomRSV – представители подгрупп А и С рода *Nepovirus*. Их геномы представляют собой две плюс-нитевые молекулы РНК, упакованные в сферические вирионы диаметром около 28 нм. TRSV и TomRSV имеют широкий спектр растений-хозяев, они способны передаваться с пылью, а также при семенном размножении с разной степенью эффективности для различных растений-хозяев. Также эти вирусы распространяются с помощью нематоды *Xiphinema americanum* [3].

Вирус розеточной мозаики персика первоначально был обнаружен у косточковых культур, виноградной лозы, а также у некоторых видов сорных растений, например, одуванчика. Симптомы PRMV могут проявляться в виде неравномерного распределения и

деформации листьев. Вирус относится к подгруппе С рода *Nepovirus*. PRMV – уникальный среди вирусов, распространяющихся с помощью нематод, поскольку его переносчиками могут быть нематоды разных родов – *Xiphinema* и *Longidorus* [3].

Вирус шока голубики является членом подгруппы 3 рода *Ilarvirus*. BISHV распространяется при помощи пыльцы, поэтому заражение происходит в период цветения. Через год после заражения в начале весны во время цветения происходит «шоковая реакция» – цветы и листья опадают. В течение лета на пораженных ветвях развиваются новые листья и во время сбора урожая они могут выглядеть практически здоровыми (за исключением отсутствия ягод) [3].

Поскольку голубика начала возделываться как промышленная культура в Беларуси сравнительно недавно, на сегодняшний день отсутствуют знания о распространенности вирусных инфекций среди растений голубики, выращиваемых в нашей стране. В связи с этим целью данной работы было проведение оценки распространения вирусов BISCV, TRSV, TomRSV, PRMV и BISHV среди растений голубики, выращиваемых на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси (г. Минск).

Отбор растений для анализа производили летом 2014 и 2015 годов из коллекционных посадок на территории ЦБС НАН Беларуси и экспериментальной базы (г. Ганцевичи). Проанализированы растения голубики высокорослой, относящиеся к 42 сортам: Atlantic, Berkeley, Blue Rose, Bluecrop, Bluegold, Bluejay, Blueray, Bluetta, Bonifacy, Bonus, Brigitta Blue, Carolina Blue, Chandler, Chanticleer, Collins, Concord, Coville, Croatan, Darrow, Denise Blue, Duke, Elizabeth, Elliott, Hardy Blue, Herbert, Jersey, Krowley, Legacy, Nelson, North Blue, North Country, Northland, Nui, Patriot, Puru, Putte, Reka, Rubel, Spartan, Sunrise, Toro, Weymouth.

Тестирования на вирусные инфекции выполняли с помощью метода полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. Выделение РНК из растительного материала проводили с помощью GeneJet™ Plant Genomic RNA Purification Mini Kit (Thermo scientific (EC)) согласно рекомендуемому протоколу. Для выделения РНК использовали фрагменты листовой пластинки. Синтез минус-цепи кДНК выполняли с помощью RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo scientific (EC)) согласно протоколу производителя. Для идентификации вируса применяли маркеры, представленные в табл. 1, в соответствии с рекомендациями авторов. В реакции использовали внутренний контроль, а именно – амплификацию растительной мРНК. Контрольную амплификацию проводили с помощью праймеров к созревшей мРНК гена, кодирующего субъединицу 5-НАДН-дегидрогеназы. Такой контроль позволяет избежать ложноотрицательных результатов, связанных с деградацией РНК или присутствием ингибиторов обратной транскриптазы [4]. В качестве отрицательного контроля матрицу кДНК в реакции заменяли равным количеством деионизированной воды. Продукты амплификации разделяли в 1%-ном агарозном геле в трис-ацетатном буфере. Гели документировали с помощью фотографирования после окрашивания этидиум бромидом. В качестве маркера молекулярного веса использовали 100 bp DNA Ladder Plus (Thermo scientific (EC)).

Таблица 1. Праймеры, использованные для идентификации вирусных инфекций

Вирус	Последовательности праймеров	Источник
Tobacco ringspot nepovirus	F: CTTGCGGCCCAAATCTATAA R: ACTTGTGCCAGGAGAGCTA'	[5]
Peach rosette mosaic nepovirus	F5321: ATTGGTCGCCGCTCTATTT R5699: CAACAACAAGCCCATCTCC	[6]
Tomato ringspot nepovirus	U1: GACGAAGTTAT-CAATGGCAGC D1: TCCGTCCAATCACG-CGAATA	[7]
Blueberry scorch carlavirus	F:AAAAGTCTGGCCGCGC R:ATTTGAGCGTCAGTC	[8]
Blueberry shock ilarvirus	F: TCRAYRTTYGAYAARTCNCA R: GGTTGRTTRTGHGGRAAYTT	[9]

В результате проведенного тестирования установлено, что все образцы были свободными от вирусов BLScV, TRSV, TomRSV, PRMV и BLSHv. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что перечисленные вирусные инфекции не получили широкого распространения среди растений голубики высокорослой, выращиваемых на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси (г. Минск) и экспериментальной базы (г. Ганцевичи).

#### Список литературы

1. In vitro and In vivo antioxidant properties of *Vaccinium myrtillus* / S. Martín-Aragón [et al.] // *Pharmaceutical Biology* / – 1999. – No 37. – 109–113.
2. Pathogen-tested material of *Vaccinium* spp. // *EPPO Bulletin*. – 1997. – No 27. – P. 195–204.
3. Martin, R.R. New and Emerging Viruses of Blueberry and Cranberry / R.R. Martin, J.J. Polashock, I.E. Tzanetakis // *Viruses*. – 2012. – No 4. – P. 2831–2852.
4. Menzel, W. Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of plant mRNA as internal control / W. Menzel, W. Jelkmann, E. Maiss // *Journal of Virological Methods*. – 2002. – No 99. – P. 81–92.
5. Jossey, S. First Report of Tobacco ringspot virus in pumpkin (*Cucurbita pepo*) in Illinois / S. Jossey, M. Babadoost // *Plant Disease*. – 2006. – No 90. – 1361 p.
6. *Vitis* (Grapevine) Post-Entry Quarantine Testing Manual. – <http://www.biosecurity.govt.nz/files/regs/imports/plants/high-value-crops/vitis-testing-manual.pdf>.
7. Griesbach, J.A. Detection of Tomato Ringspot Virus by Polymerase Chain Reaction / J.A. Griesbach // *Plant Disease*. – 1995. – No 79. – P. 1054–1056.
8. Halpern, B.T. Detection of Blueberry Scorch Virus Strain NJ2 by Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Amplification / B.T. Halpern, B.I. Hillman // *Plant Disease*. – 1996. – No 80. – P. 219–222.
9. Untiveros, M. PCR assays for the detection of members of the genus *Ilarvirus* and family *Bromoviridae* / M. Untiveros, Z. Perez-Egusquiza, G. Clover // *Journal of Virological Methods*. – 2010. – No 165. – P. 97–104.