

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР «БИОРЕСУРСЫ»  
ЦЕНТРАЛЬНЫЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД  
Отдел биохимии и биотехнологии растений

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ  
АСПЕКТЫ БИОХИМИИ  
И БИОТЕХНОЛОГИИ  
РАСТЕНИЙ**

Сборник научных трудов  
III Международной научной конференции  
14–16 мая 2008 г., Минск

*К 50-летию Отдела биохимии  
и биотехнологии растений*

Минск  
«Издательский центр БГУ»  
2008

УДК 581:576.3(043.2)  
ББК 28.55  
Т33

Научные рецензенты:

д-р биол. наук, проф., акад. НАН Беларуси *В. Н. Решетников*;  
д-р биол. наук, проф. *В. М. Юрин*;  
д-р биол. наук, проф. *В. Л. Калер*

Редакционная коллегия:

*В. Н. Решетников, О. П. Булко, И. И. Паромчик, Т. И. Фоменко,  
Е. В. Спиридович, Т. В. Антипова*

**Теоретические** и прикладные аспекты биохимии и биотехнологии растений : сб. науч. тр. 3-й Междунар. науч. конф., 14–16 мая 2008 г., Минск : к 50-летию Отд. биохимии и биотехнологии растений / НАН Беларуси, Центр. ботан. сад [и др.] ; редкол. : В. Н. Решетников [и др.] . — Минск : Изд. центр БГУ, 2008. — 562 с.  
ISBN 978-985-476-604-1.

В сборнике изложены результаты исследований по составу, свойствам, организации интерфазных клеточных ядер и пластид высших растений, путей регулярного воздействия на ядерный аппарат, включая реконструкцию генома с помощью трансгеноза. Представлены отдельные проблемы регуляции морфогенеза растительных клеток и микрклонального размножения некоторых культур, использования молекулярных маркеров в документировании ботанических коллекций. Рассмотрены биохимические основы практического использования растительных ресурсов.

УДК 581:576.3(043.2)  
ББК 28.55

ISBN 978-985-476-604-1

© Центральный ботанический сад  
НАН Беларуси, 2008

УДК: 635.92.05

## ОМОЛОЖЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ СИРЕНИ В ЦБС НАН БЕЛАРУСИ

**Македонская Н.В., Брель Н.Г.**

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск, 220012,  
ул. Сурганова 2В, e-mail: belsyringa@mail.ru

Род сирень является фонообразующей частью любого культурного ландшафта. Интерес к культуре сирени бесспорен. О ее декоративности и полезности написано достаточно литературы. Виды и сорта сирени являются обязательным элементом коллекций любого фонда растений открытого грунта.

В течении многих десятилетий сортовая сирень была представлена в достаточном объеме только в коллекциях ботанических садов. Причина отсутствия широкого ассортимента сирени в озеленении городов в низком потенциале традиционных методов вегетативного размножения прививкой, черенкованием, отводками.

В настоящее время альтернативным методом размножения сирени может служить микрклональное размножение. Перспективность этого метода размножения сортов сирени в ускоренной их репродукции и получении оздоровленного посадочного материала.. Кроме того коллекция сирени ,создаваемая в открытом грунте с помощью культуры ткани, имеет еще одно неоспоримое преимущество. Она не стареет, так как способна с помощью естественного возобновления постоянно омолаживаться.

Коллекция сирени Центрального ботанического сада НАН Беларуси (г. Минск) достаточна полная и составляет 220 таксонов, но ей более 50 лет. Вопросы омоложения коллекции очевидны. Особенно, если учесть, что создавалась она послевоенное время. Тогда единственно приемлемым способом массового размножения сортов сирени была прививка.

За годы многолетней интродукции коллекция сирени ЦБС НАН Беларуси неоднократно подвергалась омоложению с помощью обрезки. В настоящее время этот метод уже исчерпал себя, так как у многих сортов наблюдается разрушение древесины близ корневой шейки, что значительно ухудшает рост, снижает ветроустойчивость и приводит к их гибели. Кроме того отмечено повсеместная поврежденность маточных растений сирени «болезнью старости» - различными грибами рода Трутовик. Особенно сильно повреждены маточные посадки, где в отличие от сирингария, растения посажены гуще и затеняют друг друга достигнув –4-5м.

Естественное старение сирени, загущенность посадок создают угрозу потери ценного материала. Особенно учитывая, что коллекция сирени создавалась не из корнесобственных, а из привитых растений, которые не имеет сортовой корневой поросли. Значительный возраст маточных растений не по-

зволяет провести их размножение зелеными черенками, так как репродуктивная способность черенков сирени невысокая и с возрастом резко снижается.

Поэтому так актуальна работа по сохранению коллекции сирени в ЦБС НАН Беларуси. растениями, способными самостоятельно омолаживаться. Вопросы обновления коллекции сирени активно решаются с 1990-х годов. Были предложены пути омоложения коллекции корнесобственным посадочным материалом, полученным методом *in vitro*.

Поэтому пополнение и замена существующих сортов велась растениями микроклонального происхождения из отдела биохимии и физиологии растений ЦБС, где разработаны методы оптимизации микроклонального размножения сирени, а также из других биологических учреждений.

Первый сорт сирени *Мадам Флора Стенман*, полученный в ЦБС НАН Беларуси микроклональным методом, был высажен в коллекцию в 1994 году. в количестве 12 экземпляров в возрасте пяти лет. В настоящее время растения обильно цветут. У них с целью усиления появления поросли была проведена частичная омолаживающая обрезка.

С 1996г программа по омоложению коллекции сирени идет ускоренными темпами. Были переданы в отдел интродукции древесных растений. на доращивание следующие микроклонально размноженные сорта - *Пинк Мист*, *Юбилейная*, *Радж Капур*, *Флора Лунный Свет*, *Павлинка*., *Акубофолия*, *Красавица Москвы*. В 2000г. высажены на доращивание сорта *Жемчужина* и *Нестерка*, в 2003г. еще 2 сорта - *М.Шолохов*, *Сенсация*.

Переданные сорта в коллекции обильно цветут. Путем сравнения с описаниями сортов в регистре «Международного общества сирени подтверждена аутентичность сортов, полученных микроклональным методом, кроме двух. У сорта *Красавица Москвы* в отличие от оригинала соцветия белые, а не розоватые, плотные, а не ажурные, с более мелким цветком и не типичной для исходного сорта формой цветка. Возможно, в результате клонирования произошли хромосомные перестройки и сорт не индифицируется. Сорт *Акубофолия* с типичной желтой крапчатостью листьев пока не зацвел, но стал активно возобновляться порослью.

Отмечена неоднородность вступления саженцев микроклонально размноженных сортов сирени в генеративную стадию. Сорта начинают зацветать в возрасте от 3 до 7 лет. Сорт *Жемчужина* зацвел раньше других через три года, сорт *Нестерка* – через 4 года., остальные сорта на 5 год и позже. Сирень сортов *Сенсация* и *М. Шолохов* еще не цвели. Можно предположить, что это связано с биологическими особенностями сортов, которые имеют сложное гибридное многоступенчатое происхождение. Кроме того саженцы сирени, независимо от способа их получения, болезненно реагируют на пересадки. Первые два года саженцы, медленно адаптируясь на новом месте, не цветут и резко снижают темпы прироста побегов до 4-8см, выходя на норму прироста до 40см

только на 3-й год. Все микроклонально размноженные сорта сорта сирени после доращивания их в питомнике, претерпевают пересадки на постоянное место в коллекцию, возможно, поэтому сдвигаются сроки их зацветания. С целью активного внедрения сирени белорусской селекции и лучших сортов мировой селекции в озеленение высажено на доращивание в открытый грунт более тысячи витроплантов сирени, полученных в отделе биохимии и физиологии растений

Отмечено влияние сроков посадки на развитие витроплантов в открытый грунт. Растения активно приживаются на новом месте и хорошо зимуют при летнем сроке – в начале августа и начале сентября. Поздне-осенние посадки растений зависимы от перепадов зимних температур и приводят к их частичному выпадению. Весенние посадки (в мае) в открытый грунт витроплантов из теплиц, где они рано трогаются в рост, ведет к затормаживанию роста растений и как следствие к снижению годового прироста.

В 2004г. из Лесостепной опытной станции Липецкой области (Россия) введены в культуру 16 корнесобственных сортов сирени, размноженных черенкованием. Это популярные сорта селекции Л.А. Колесникова – *Л. Леонов, Михаил Шолохов, И.В. Мичурин, Сумерки, Индия, П.П. Кончаловский, Олимпиада Колесникова*, а также редкие сорта сирени селекции Н.К. Вехова – *Гибрид ЛОС, А.Громов, Русь* и селекции Никитского ботанического сада Украины – *Никитская, Ялта* и другие.

В 2005г. привезены из Института общей генетики РАН г. Москва и высажены на доращивание 30 сортов сирени микроклонального размножения – *Память о Вавилоне, Мулатка, Партизанка, Заря коммунизма, Полина Осипенко, Индия, Эксилент, Русская песня, Фирманент, Лебедушка, Жилбер, Гастелло, Аукубофоллия, Свит Хардинг, Генрал Першинг, Мадам Антуан Бюхнер, Рочестер, Дрезден Чайна, Константин Заслонов, Мирабо, Ипполит Менеджер, Ами Шотт, Великая победа, Франк Патерсон, А.Мересьев, Жанна д'Арк Моник Лемуан, Память о Кирове, Век, Роял Перпл.*

В отделе биохимии и физиологии растений ЦБС НАН Беларуси с 2006 года совместно с отделом новых технологий размножения растений Главного ботанического сада РАН (г Москва) создается банк коллекция сирени *in vitro* более 30 сортов. в том числе. 15 сортов высажены на адаптацию. Проводится биохимическое и генетическое тестирование сортов и видов сирени.

Принятые меры позволили не только сохранить и увеличить сортовое разнообразие коллекции сирени ЦБС НАН Беларуси, но уже заменить четвертую часть коллекции на корнесобственные, которые имеют преимущество перед привитыми растениями в виде естественного сортового возобновления.

Собранная коллекция *in vivo* 220 таксонов и *in vitro* 33 преследует многие цели: показать разнообразие рода, иметь фонд для селекционной работы, служить источником для дальнейшего изучения и массового размножения.

УДК: 582.542.1:576.12

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ: ОТ ПРОБИРКИ ДО ПОЛЯ

**Мирошниченко Д.Н., Филиппов М.В., Долгов С.В.**

Станция искусственного климата «Биотрон», Филиал Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, ул. Институтская 6, г. Пущино, Московской обл., 142290.  
E-mail: miroshnichenko@fibkh.serpukhov.su

Пшеница (*Triticum aestivum* L.) является важнейшей продовольственной и кормовой культурой в мире. Несмотря на огромную потребность в сортах пшеницы устойчивых к различным стрессовым факторам внешней среды, в настоящий момент получить желаемые формы не всегда удается вследствие сложной генетической природы большинства признаков. Методы генетической инженерии открывают новые возможности для получения нового поколения сортов пшеницы с улучшенными характеристиками. В течение последних десяти лет на станции искусственного климата «Биотрон», Филиал Института биоорганической химии РАН, г. Пущино, Россия, ведутся работы по разработке эффективной системы соматического эмбриогенеза/генетической трансформации различных яровых и озимых сортов Российской селекции.

Результатом этой работы стало создание эффективной методика генетической трансформации российских сортов пшеницы, позволяющей сократить до минимума формирование нетрансгенных растений-регенерантов, широко распространенного при трансформации злаковых. Нами исследованы различные аспекты, определяющие эффективность генетической трансформации на всех этапах исследований от соматического эмбриогенеза до полевых испытаний трансгенных линий. Предложенный нами метод баллистического переноса генов основан на двойной селекции трансгенной ткани пшеницы, по экспрессии двух генов-селективных маркеров - *gfp* и *bar* Оптимизированная двойная система отбора трансгенной ткани пшеницы позволила нам получить более пятидесяти независимых трансгенных линий пшеницы сортов Андрос и Норрис.

Успешное наследование и стабильная экспрессия перенесенных генов являются важным условием генетической трансформации злаковых культур. Мы провели анализ наследования интродуцированных генов *gus*, *gfp* и *bar* в семенном потомстве T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> и T<sub>3</sub>, полученном в результате самоопыления первичных трансгенных растений T<sub>0</sub>. Нами разработана методика ускоренного скрининга семенного потомства, позволившая в ко-

роткий срок выделить более 100 гомозиготных семей со стабильным наследованием и высокой экспрессией гетерологичных генов.

Одним из важнейших этапов при трансформации злаковых культур являются полевые испытания, призванные выявить реальный эффект от применения методов генетической инженерии. Впервые в России мы осуществили полевые испытания гомозиготных растений пшеницы, полученных от семи независимых трансгенных линий двух сортов Андрос и Норрис. Полевые испытания семи линий трансгенной пшеницы на устойчивость к гербициду (на основе действующего вещества фосфинотрицина) показали эффективность экспрессия гена *bar* для придания устойчивости, а также подтвердили соответствие трансгенных форм исходным сортам.

Сегодня, одной из важных проблем современного зернопроизводства является засоление почв. Хотя засоление существовало задолго до появления человека, в результате развития интенсивного орошаемого земледелия засоленность почвы вышла на первый план во многих областях сельскохозяйственного производства, поскольку около 20% всех культивируемых площадей в мире и около половины орошаемых земель подвержены засолению. Получение растений устойчивых к высокому содержанию солей в почве позволит увеличить урожайность пшеницы, а также расширит ареал её возделывания. Для создания новых форм пшеницы, устойчивых к солевому стрессу нами осуществлена генетическая трансформация пшеницы генами вакуолярных  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  антипортеров. В последние годы показано, что данные гены могут приводить к увеличению устойчивости трансгенных растений разных видов к высоким концентрациям солей. В настоящий момент мы проводим исследования по получению солеустойчивых трансгенных растений пшеницы путем суперэкспрессии гена вакуолярного  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  антипортера *hvnhx2*, клонированного из генома ячменя, а также гена *agnhx*, клонированного из галофита *Atriplex*. В результате баллистической трансформации нами получены трансгенные растения сорта Андрос с генами вакуолярного антипортера, результаты анализа полученных трансгенных форм на устойчивость к абиотическим стрессам будут представлены на конференции.

### Summary

Genetic improvement of cereals has traditionally been achieved through sexual hybridization between related species, but conventional plant breeding can not supply needs of growing mankind. Biotechnology, which includes cell and molecular biology techniques, opens new ways to overcome difficulties which encountered plant breeding. Cereal crops such as bread wheat (*Triticum aestivum* L.) were the prime targets for improvement by genetic transformation.

The transformation protocol allowing generating a large number of independent transgenic plants of elite Russian wheat cultivars has been worked out. Several wheat cultivars were transformed by *gus*, *gfp* and *bar* genes using biolistic transformation approach. The identification of *gfp*-expressing wheat cells enabled visual selection on all step of culture and allowed for elimination of high number of 'escapes'. Seed progeny from self-pollinated T<sub>0</sub>, as well as from T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub> wheat plants showed different patterns of segregation of the *gus* and *gfp* genes.. We have performed field evaluation of the efficiency of T<sub>3</sub> homozygous plants from seven transgenic wheat lines for resistance to herbicide ('Basta') treatment. The effective expression of transgenes from majority lines in field environment was shown. Currently we are working on the on the production of salt- resistant wheat plants using Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter genes isolated from different plants species.