

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-генетическая диагностика и идентификация таксонов нетрадиционных ягодных культур

**В. Н. Решетников¹, Е. В. Спиридович¹, О. В. Чижик¹,
А. Н. Юхимук¹, В. Л. Филипня¹, Е. Д. Агабалаева¹, Н. В. Водчиц²**

¹Беларусь, Минск, Центральный ботанический сад НАН Беларуси

²Беларусь, Пинск, Полесский государственный университет

Для ботанических учреждений и биологических подразделений ВУЗов постоянно актуальными являются цели сохранения и использования редких таксонов, сортов, *ex situ* консервация редких видов и их документирование. На всех этапах сохранения, начиная с гербаризирования, воспроизведения, сохранения, реинтродукции и др., необходимо осуществлять строгое документирование и сертификацию образцов. Активное использование сертификации образцов/коллекций на основе молекулярных методов является неотъемлемым этапом сохранения и поддержания коллекций с необходимой точностью [1–3].

Работы такой направленности с использованием нетрадиционных для производства ягодных культур осуществляются в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси (голубика высокорослая, клюква крупноплодная, брусника сортовая, жимолость съедобная и др.), Институте леса НАН Беларуси (клюква, голубика топяная, и др.), Институте плодоводства НАН Беларуси (жимолость и др.), Полесском государственном университете (голубика высокорослая и др.) и некоторых других учреждениях и организациях.

Работы с каждой культурой проводятся с целью разработки набора уникальных генетических маркеров, позволяющих

с наименьшими временными и финансовыми затратами выполнять точную молекулярно-генетическую паспортизацию и идентификацию генотипов этих хозяйственно ценных видов. Для исследования межсортового полиморфизма, выявления генетического сходства/отдаленности генотипов сортов с целью их дифференцирования используется комплексный подход совместного использования методик, основанных на RAPD- (random amplified polymorphic DNA) и ISSR- (inter simple sequence repeats) ПЦР. Это продиктовано очевидным преимуществами данных методов, а также возможностью значительно расширить зоны покрытия, получить генетические маркеры в двух независимых срезах при совместном использовании этих маркерных систем.

Из списка перечисленных нетрадиционных ягодных культур голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.) в настоящее время является наиболее востребованной, и в связи с этим возникло новое направление в производстве ягодных культур — промышленное голубиководство. Соответственно возникла задача строгой сертификации сортности коллекционного и посадочного материала и коллекций *in vitro* на основе современных молекулярно-биологических и генетических методов, разработки методологии проведения анализа и его стандартизации. Создание генетического паспорта сорта является стратегической необходимостью при оценке качества растительного материала: подтверждения сортности и стабильности генотипа при микроклональном размножении. Пример мультилокусного генетического паспорта голубики высокорослой сорта 'Bluescop' представлена на рисунке 1 (разработчик — Юхимук А. Н.).

В целом следует отметить, что в настоящее время в значительной степени разработаны и оптимизированы протоколы выделения ДНК голубики высокой, подобраны праймеры, позволяющие дифференцировать все исследованные генотипы, оптимизированы условия проведения реакций амплификации с произвольными и микросателлитными праймерами. Использование прибора Bioanalyzer позволяет стандартизировать получение и обработку результатов, повысить разрешающую способность и сопостави-

Молекулярно-генетический паспорт голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.)

Генотип	Bluecrop (Блюкросп)	
Тип коллекции	ex vitro	
Держатель сорта	Полесский государственный университет (г. Пинск, РБ)	
Маркерная система	Микросателлиты (SSR — simple sequence repeats)	
Источник ДНК	Свежая растительная ткань	
Тип образца	Индивидуальный образец	
Тип препарата ДНК	Тотальная ДНК	
Метод выделения ДНК	СТАВ-метод с модификациями (Dempster, 1999)	
Качественный и количественный анализ препаратов ДНК	Спектрофотометрический метод	
Полимеразная цепная реакция (ПЦР)	Стандартная ПЦР с модифицированными флуоресцентной меткой праймерами. Состав амплификационной смеси и режим ПЦР согласно Bassil, 2020.	
Пробоподготовка	Качественный и количественный анализ амплификата — горизонтальный электрофорез в агарозном геле. Визуализация в имидж-системе VersaDoc (Bio-Rad). Очистка продуктов амплификации — в спин-колонках.	
Фрагментный анализ и визуализация	Разделение и визуализация продуктов амплификации — капиллярный электрофорез (генетический анализатор Applied Biosystems 3500)	
Анализ и обработка данных	Программное обеспечение GeneMarker V2.7.0 (Demo)	
Характеристика аллельных состояний локусов (Молекулярно-генетический паспорт)		
Локус SA421F		
Ожидаемые аллели (Boches, 2005)	166, 170, 182, 198	Наблюдаемые количество и размер аллелей СООТВЕТСТВУЮТ ожидаемым значениям
Наблюдаемые аллели	166, 170, 182, 198	
Локус NA1040		
Ожидаемые аллели (Boches, 2005)	184, 192, 210, 216	Наблюдаемые количество и размер аллелей СООТВЕТСТВУЮТ ожидаемым значениям
Наблюдаемые аллели	184, 192, 210, 216	
Локус VCC1K4		
Ожидаемые аллели (Boches, 2005)	182, 203, 236	Наблюдаемые количество и размер аллелей СООТВЕТСТВУЮТ ожидаемым значениям
Наблюдаемые аллели	182, 203, 236	
Заключение	Соответствие исследованного генотипа голубики высокорослой (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.) сорту Bluecrop (Блюкросп) ПОДТВЕРЖДЕНО	

Рисунок 1 — Генетический паспорт голубики высокой сорта Bluecrop

мость данных, что важно при поточной сертификации образцов голубики высокой.

Всего было разработано 46 RAPD- и 40 ISSR-маркеров. Получены уникальные спектры для каждого сорта, на основании разработанных маркеров составлены RAPD+ISSR сертификаты, которые можно использовать как эталоны для проведения иден-

тификации образцов и подтверждения сортности культуры. Все использованные RAPD- и ISSR- праймеры позволили разработать уникальные для генотипов маркеры, которые можно рассматривать как потенциальные SCAR-маркеры.

Получены данные, позволяющие оценить примененный метод RAPD+ISSR генотипирования, как достоверный и точный для дифференциации сортов голубики высокой, внесенных в государственный реестр Республики Беларусь, и подтверждающие стабильность генотипов при микроклональном размножении голубики высокой, а также однородность размножаемого материала.

Список использованной литературы

1. Спиридович Е. В., Власова А. Б., Юхимук А. Н., Гончарова Л. В., Агабалаева Е. Д., Решетников В. Н. Молекулярные маркеры в таксономии, метаболом-направленной селекции и сохранении генетических ресурсов ЦБС НАН Беларуси // Генетические основы селекции. Т. 4. Биотехнология в селекции растений. Геномика и генетическая инженерия. — Минск: Беларуская навука, 2014. — С. 507–535.
2. Чижик О. В. Протеомные методы в биотехнологии растений // Биотехнология: достижения и перспективы развития. — Пинск: Полесский ГУ, 2018. — С. 47–50.
3. Пасовец М. В., Водчиц Н. В., Волкова Е. М. Сравнение методик выделения ДНК голубики высокой из агарозного геля // Биотехнология: достижения и перспективы развития. — Пинск: Полесский ГУ, 2018. — С. 26–28.