

Национальная академия наук Беларуси
Центральный ботанический сад

Голубиководство в Беларуси: итоги и перспективы

Материалы Республиканской
научно-практической конференции

Минск
2012

УДК 634.734/.737:634.1-15(476)(082)
ББК 42.358(4Бей)я43
Г62

Редакционная коллегия
д-р биол. наук В.В. Титок (ответственный редактор);
канд. биол. наук Б.Ю. Аношенко; канд. биол. наук А.А. Веевник;
канд. биол. наук Л.В. Гончарова; канд. биол. наук Н.Б. Павловский.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций

© Центральный ботанический сад
Национальной академии наук
Беларуси, 2012

Г62 **«Голубиководство в Беларуси: итоги и перспективы»**; Материалы
Республиканской научно-практической конференции (17 августа 2012 г.,
Минск, Беларусь) /Центральный ботанический сад НАН Беларуси, ред-
коллегия: Титок В.В. / и др. /, Минск, 2012. — 78 с.)

В сборнике представлены материалы Республиканской научно-практической
конференции «Голубиководство в Беларуси: итоги и перспективы». Обсуждаются
результаты внедрения новых сортов голубики, применения методов биотехноло-
гии, защиты растений для решения актуальных вопросов технологии возделыва-
ния разнообразных форм и сортов голубики.

УДК 634.734/.737:634.1-15(476)(082)
ББК 42.358(4Бей)я43

Биотехнологические подходы — основа сохранения и рационального использования растительного биоразнообразия семейства брусничных (*Vaccinium*)

Спиридович Е.В., Фоменко Т.И., Чижик О.В., Филипеня В.Л.,
Решетников В.Н.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: E.Spiridovich@cbg.org.by

Резюме

Комплексное исследование с использованием биохимических и биотехнологических подходов позволяет сохранить и увеличить видовое и сортовое разнообразие коллекции сем. брусничных. Создание документированной коллекции меристемных культур и ДНК коллекции хозяйственно-ценных сортов голубики высокорослой являются основой использования этой культуры при разработке технологии производства посадочного материала для промышленных целей, оздоровленного через культуру *in vitro*, получения новых сортов с заданными качествами. Разрабатываемый прием инокуляции штаммами микоризы служит перспективным этапом в технологии культивирования голубики высокорослой.

В отделе биохимии и биотехнологии растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси (ЦБС) проводится ряд работ по созданию и поддержанию, изучению и практическому использованию коллекционных фондов сем. *Vaccinium* на основе биотехнологических и биохимических способов и приемов:

- сохранение генетических ресурсов путем создания генетических банков депонирования растительного материала в культуре *in vitro*;
- совершенствование методов молекулярного маркирования для повышения эффективности селекционной работы, генетической паспортизации и сертификации растений;
- отработка методов оценки фитосанитарного состояния почв, посадочного материала, маточников и питомников;
- генетическая трансформация для создания новых форм растений с заданными признаками;
- клональное микроразмножение растений (включая соматический эмбриогенез) для ускоренного производства высококачественного посадочного материала;
- использование грибных и бактериальных препаратов в технологии

производства посадочного материала и плантационного выращивания.

Отдельным направлением является создание, поддержание и пополнение коллекции асептических культур хозяйственно-полезных растений ЦБС, коллекции трансгенных и модифицированных растений, ДНК коллекции. Весь введенный в коллекцию материал — уникальный. Такой клеточный материал ценен как для фундаментальных исследований, в которых ткани и клетки *in vitro* являются модельной системой для изучения клеточных процессов, так и для решения прикладных задач в области расширенного воспроизводства оздоровленного и омоложенного материала, создания новых сортов и др. К основным задачам следует отнести массовое промышленное производство востребованных хозяйственно-ценных растений, к которым следует отнести представителей сем. брусничных. Сегодня из 49 сортов голубики высокорослой коллекции ЦБС 15 перспективных для промышленного выращивания сортов введено в коллекции *in vitro*.

Технологии микрклонального размножения стали неотъемлемой частью промышленного плодводства, позволяя интенсифицировать процесс размножения и улучшить качество получаемых растений. В связи с высокой востребованностью и ценностью ягодной продукции сем. брусничные (*Vaccinium*), стоит задача наработки качественного посадочного материала в короткие сроки и в промышленных масштабах. В ЦБС разработаны методики микрклонального размножения голубики высокорослой, клюквы крупноплодной и брусники обыкновенной, которая позволяет получать физиологически однородный, оздоровленный и омоложенный посадочный материал. Произведены опытные партии посадочного материала, заложены маточные плантации размноженного сортового материала. Для этого используются сорта, внесенные в Государственный реестр РБ.

Молекулярные методы на основе ДНК-фингенпринтинга на сегодняшний день занимают лидирующее положение в области идентификации и сертификации сортов, в т.ч. и для видов *Vaccinium*. В мире на основе RAPD-маркеров было произведено дифференцирование сортов и диких форм *Vaccinium*, также опубликована карта сцепления диких диплоидных видов рода. Для голубики высокой были проведены исследования по идентификации сортов с помощью произвольных праймеров, разработаны микросателлитные (SSR) маркеры на основе EST-локусов и проведена SSR-сертификация сортов. Для исследований межсортового полиморфизма сортов голубики высокорослой, занесенных в Государствен-

ный реестр, с целью их дифференцирования был выбран комплексный подход совместного использования двух методик, основанных на RAPD- (Random amplified polymorphic DNA) и ISSR- (Inter simple sequence repeats) ПЦР, на его основе разработаны методы комплексного RAPD+ISSR генотипирования сортов, созданы их генетические паспорта, которые составляют необходимое и весомое приложение при их регистрации.

Постоянно проводится анализ растений голубики высокорослой и образцов почв с плантации ЦБС на зараженность фитопатогенной инфекцией. Составлены детальные описательные базы данных для потенциально вредоносных в условиях РБ вирусных патогенов для культуры *Vaccinium corymbosum* — 10 вирусов и фитоплазма карликовости (вызываемые симптомы, распространение, биология развития, морфология, и др.). Разработанная ранее методика диагностики возбудителей грибной инфекции голубики высокой на основании использования методов электрофоретического фракционирования и сайт-специфической рестрикции оптимизирована для «Биоанализатора «Agilent 2100».

Одним из методов молекулярной селекции является генетическая трансформация растений, которая предполагает генетическое улучшение ряда показателей и, таким образом, дополняет классические методы селекции растений. Основным препятствием на пути совершенствования представителей древесно-кустарниковых видов генно-инженерными методами являлось отсутствие эффективной методики трансформации. Недостаточные знания физиологии, биохимии, генетики, а также проблемы в индукции адвентивной регенерации из соматических тканей *in vitro* делают их трудным объектом для генетической трансформации. Именно поэтому длительное время попытки применить технологию переноса генов при помощи *Agrobacterium spp.* в эти растения были безуспешны.

Получены новые результаты по разработке технологии трансформации интродуцированных в Беларуси сортов брусники обыкновенной и клюквы крупноплодной. Оптимизированы условия агробактериальной трансформации на основе анализа транзientной экспрессии репортерного гена GUS. Исследовано влияние моносахаридов, индукторов *vir*-генов на эффективность получения устойчивых к канамицину регенерантов. Проведены серии трансформаций с целью установления влияния антиоксидантов на эффективность агробактериальной трансформации. Отобраны и размножены устойчивые к канамицину регенеранты (линии). Получены линии трансгенных растений с повышенной резистентностью к фито-

патогенам и максимальным соответствием исходному сорто типу.

Разработаны протоколы эффективной методики агробактериальной трансформации брусники обыкновенной и клюквы крупноплодной. Подтверждено, что разработанная система регенерации может применяться для получения генетически однородных побегов широкого спектра генотипов клюквы крупноплодной.

Отличительной особенностью всех представителей рода *Vaccinium* является строение их корневой системы, а именно отсутствие корневых волосков, обычно выполняющих функции всасывания питательных элементов и воды. Недостаток питательных веществ в отсутствии микоризации при переносе клонированных стерильных растений *ex vitro* и последующем выращивании в условиях закрытого и открытого грунта значительно снижает их адаптивные способности, увеличивает время адаптации, замедляет рост и развитие, что в конечном итоге отрицательно сказывается на качестве посадочного материала и дальнейшей продуктивности растения. Особенно важными для решения этих задач являются микробиологические подходы и приемы, которые основаны на использовании потенциала растений и почвенных микроорганизмов, и биологических механизмов взаимодействия компонентов растительно-микробных систем.

Применение бактериальных препаратов на основе ассоциативной микрофлоры — один из экологически безопасных методов биологического земледелия. Перспективным и экономически целесообразным направлением в микробных технологиях в последние годы признано создание двухкомпонентных биопрепаратов, характеризующихся комплексом положительных свойств, синергическим взаимодействием продуцентов, их высокой выживаемостью и конкурентоспособностью в природных экосистемах. Следует также иметь в виду, что возникает тенденция исчезновения полезных групп микроорганизмов и в то же время повышение численности и разнообразия патогенных видов, что вызывает резкое и часто необратимое падение почвенного плодородия.

Совместно с Институтом микробиологии НАН Беларуси начаты работы по созданию и исследованию комплексного микробного препарата. Основу его составят ризобактерии и арбускулярные микоризные грибы, которые будут использованы в технологии выращивания клонированного посадочного материала перспективных сортов древесно-кустарниковых видов рода *Vaccinium*.

Преимуществом разрабатываемой технологии является комплексный

подход и использование специально подобранных микроорганизмов, которые обеспечат выживание клонированного посадочного материала в неблагоприятных условиях окружающей среды. Искусственный консорциум микроорганизмов, иммобилизованных на субстрате-носителе, будет характеризоваться ростостимулирующим и фитозащитным действием, устойчивостью к воздействию внешней среды и аборигенных микроорганизмов, что позволит использовать его для стимуляции развития клонированного посадочного материала.

Результаты успешной интродукции этой культуры в Беларуси, осуществленной ЦБС, опытно-производственные испытания заложенных плантаций на экспериментальной базе ЦБС (г. Ганцевичи), опыт хозяйств разной формы собственности показали перспективность и выгодность культивирования голубики высокорослой, поэтому использование биотехнологических приемов для интенсификации любого этапа технологии возделывания этой культуры является полезным и востребованным.