

Национальная академия наук Беларуси  
Центральный ботанический сад  
Отдел биохимии и биотехнологии растений

# **Биологически активные вещества растений – изучение и использование**

Материалы международной научной конференции  
(29–31 мая 2013 г., г. Минск)

Минск  
2013

УДК 58(476-25)(082)  
ББК 28.5(4Бел)я43  
О-81

**Научный редактор**  
академик НАН Беларуси В.Н. Решетников.

**Редакционная коллегия:**

к.б.н. Е.В. Спиридович;  
к.б.н. И.И. Паромчик;  
к.б.н. Т.И. Фоменко.

О-81 Биологически активные вещества растений — изучение и использование: материалы международной научной конференции 29–31 мая 2013 г., г. Минск. – Минск : ГНУ «Центральный ботанический сад Академии наук Беларуси», 2013. – 356 с.

Изложены материалы Международной научной конференции, посвященной обсуждению актуальных проблем по изучению и использованию биологически активных веществ растений, в том числе биотехнологических аспектов в растениеводстве с участием ученых из Беларуси, России, Украины, Молдовы, Казахстана, Кыргызтана, Венгрии.

На молекулярном, клеточном и организменном уровнях рассмотрены имеющие важное научное и практическое значение вопросы, в числе которых состав, структура, биосинтез и использование веществ вторичного метаболизма растений, антиоксидантная и антирадикальная активность и лечебно-профилактические препараты из растений, сырьевые источники БАВ, биотехнологии в растениеводстве.

**УДК 58(476-25)(082)**  
**ББК 28.5(4Бел)я43**

# ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ АГРОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ПЛОДОВО-ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР

Чижик О.В., Филипня В.Л., Решетников В.Н.

ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь  
e-mail: alisa67@hotmail.ru

Генно-инженерные методы позволяют создавать новые формы растений гораздо быстрее, чем классические методы селекции. Однако у большинства древесных плодово-ягодных культур частота трансформации посредством *Agrobacterium* остается очень низкой, что значительно тормозит получение растений с заданными характеристиками. Длительные генеративные циклы, особенности генетики, биохимии и физиологии, проблемы адвентивной регенерации *in vitro*, избирательная вирулентность различных штаммов *Agrobacterium spp.* – основные причины, не позволяющие применить трансгенные технологии для улучшения важных для сельского хозяйства характеристик ягодных культур.

При разработке технологий генетической трансформации очень важно выделить и дать оценку различным критическим факторам, каждый из которых оказывает влияние на частоту трансформации и нуждается в оптимизации – время кокультивирования с агробактерией, влияние моносахаров, антиоксидантов, *vir*-индуцирующих соединений. При выборе и модификации протоколов селекции важно также учитывать физиологию антибиотического действия, а именно – влияние селективного агента на последующую способность трансформированных клеток к регенерации. Поэтому изучение факторов, оказывающих влияние на перенос, встраивание и дальнейшую экспрессию чужеродных генов, является основой для оптимизации условий трансформации.

Оптимизацию условий инфицирования эксплантов брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis idaea* L.), голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) и клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) проводили на основе анализа транзientной экспрессии репортерного гена GUS. В работе использовали супервирулентный штамм *Agrobacterium tumefaciens* СВЕ21, содержащий бинарный вектор рВ1121 с геном  $\beta$ -глюкуронидазы. Изучено влияние

времени кокультивирования, индукторов *vir*-генов (ацетосирингона, мочасахаров и антиоксидантов) и селективного антибиотика канамицина на эффективность транзientной экспрессии GUS.

С целью установления оптимальной продолжительности периода кокультивирования с агробактерией, необходимого для максимального инфицирования эксплантов, проводили анализ уровня транзientной экспрессии GUS при инфицировании эксплантов. Максимальную частоту трансформации для брусники наблюдали на 6-й день кокультивирования с агробактерией. Она составила 13,6% и 47,4% для сортов «*red pearl*» и «*koralle*», соответственно. В эксплантах голубики сорта «*concord*» максимальный уровень транзientной экспрессии (60%) наблюдали после 5-ти дней кокультивирования, для сорта «*atlantic*» – на 6-й день (30%), в эксплантах клюквы – после 6-ти дней (57%).

Добавление ацетосирингона в среду для инокуляции повысило уровень транзientной экспрессии GUS в листовых эксплантах брусники обыкновенной сорта «*red pearl*» – до 21,3%, сорта «*koralle*» – до 49,2%. Использование ацетосирингона не только при инокуляции, но и при кокультивировании позволило добиться 45,6% частоты трансформации для сорта «*red pearl*» и 70,3% – для сорта «*koralle*». Уровень транзientной экспрессии GUS после 6-ти дней кокультивирования эксплантов клюквы на среде, содержащей ацетосирингон, составил 68%. Использование ацетосирингона на этапе кокультивирования эксплантов для голубики высокой с агробактерией оказалось неэффективным.

Добавление моносахаров и антиоксидантов в среду для кокультивирования повышало частоту транзientной экспрессии GUS.

Анализ полученных данных позволил предложить эффективные методики генетической трансформации для брусники обыкновенной, голубики высокорослой и клюквы крупноплодной.