

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
**БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
**Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений**

**ВОРОПАЙ**  
**ЕКАТЕРИНЫ ВЛАДИМИРОВНЫ**

**МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ**  
**ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ БРУСНИКИ**  
**ОБЫКНОВЕННОЙ *VACCINIUM VITIS-IDAEA* L. КОЛЛЕКЦИИ**  
**ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ**

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:  
Кандидат биологических наук,  
доцент О.В. Чижик

Допущена к защите

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений  
доцент, к.б.н., И.И. Смолич

Минск, 2021

# ОГЛАВЛЕНИЕ

РЕФЕРАТ .....	3
ВВЕДЕНИЕ .....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	8
1.1 Ботаническая характеристика объекта исследования – брусники обыкновенной.....	8
1.1.1. Систематическое положение, ареал распространения, морфологическое и экологическое описание вида.....	8
1.1.2. Краткая характеристика интродуцированных в Беларуси сортов брусники обыкновенной.....	11
1.1.3 Биохимический состав и лекарственные свойства растений брусники обыкновенной .....	13
1.1.3.1 Биохимический состав растений брусники обыкновенной .....	14
1.1.3.2 Лекарственные свойства растений брусники обыкновенной.....	15
1.2 Молекулярное маркирование .....	16
1.2.1.1 Экстракция ДНК - начало анализа молекулярных маркеров .....	18
1.2.1.2 Методы ДНК-маркирования .....	19
1.2.1.3 ПЦР с использованием произвольных праймеров (RAPD-ПЦР).....	21
1.2.1.4 Современные методы маркирования .....	24
1.2.1.5 Маркерная система ISSR .....	26
1.3. Применение маркерных ДНК-систем для исследования брусники обыкновенной.....	27
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	30
2.1 Растительный материал.....	30
2.2 Растворы и реактивы .....	30
2.3 Методы исследования .....	32
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ .....	36
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	48
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....	49

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 54 страницы, 6 рисунков, 4 таблицы, 59 литературных источников.

*VACCINIUM VITIS-IDAEA* (L.), ДНК-МАРКИРОВАНИЕ, ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ, ИНТРОДУЦИРОВАННЫЕ СОРТА, ISSR, RAPD.

Цель исследования: использование RAPD- и ISSR-анализов для выявления генетического полиморфизма и молекулярного маркирования коллекции сортов брусники обыкновенной ЦБС НАН Беларуси.

Исследование проводилось с использованием 14 интродуцированных сортов Брусники обыкновенной. Суммарную ДНК выделяли из гомогенизированных в жидком азоте листьев и побегов брусники с помощью СТАВ-буфера. Были подобраны праймеры, которые показывают наибольший полиморфизм на различных генотипах брусники обыкновенной. Произвели оценку уровня генетического сходства/различия по рассчитанным коэффициентам генетических дистанций по формуле Nei и Li для ISSR- и RAPD-анализа.

Было выявлено, что наиболее удаленной от сортов брусники обыкновенной оказалась видовая брусника из естественных популяций, генетические дистанции для которой находились в диапазоне 0,398-0,578. Наиболее отличающимися от геномов изученных сортов брусники оказались геномы шведского сорта «Ida» и российского «Костромичка». Наибольший коэффициент генетических различий наблюдался между сортами «Ida» и «Рубин» (0,538). Самым низким уровнем генетического полиморфизма характеризуется группа сортов немецкого происхождения («Ammerland», «Erntedank», «Erntekrone», «Erntesegen»). Наименьшие генетические дистанции выявлены между сортами «Erntekrone» – «Koralle» (0,156), «Erntekrone» – «Sussi» (0,197), «Erntedank» – «Ammerland» (0,191) и «Erntedank» – «Sanna» (0,190).

Анализ полученных данных позволил показать, что использование ISSR-метода для паспортизации сортов брусники обыкновенной обладает более высоким коэффициентом генетических дистанций у исследуемых образцов. Таким образом, подобранные нами две системы праймеров позволили разделить включенные в исследования сорта брусники обыкновенной. Разработанные методики позволяют идентифицировать сорта, характеризующиеся большей генетической изменчивостью и обладающие большим генетическим потенциалом.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 54 старонкі, 6 ілюстрацый, 4 табліцы, 59 літаратурных крыніц.

*VACCINIUM VITIS-IDAEA* (L.), ДНК-МАРКІРАВАННЕ, ГЕНЕТЫЧНЫ ПАЛІМАРФІЗМ, ІНТРАДУЦЫРАВАННЯ ГАТУНКІ, ISSR, RAPD.

Мэта даследавання: выкарыстанне RAPD - і ISSR-аналізаў для выяўлення генетычнага палімарфізму і малекулярнага маркіравання калекцыі гатункаў брусніцы звычайнай ЦБС НАН Беларусі.

Даследаванне праводзілася з выкарыстаннем 14 інтрадукаваных гатункаў брусніцы звычайнай. Сумарную ДНК вылучалі з гамагенізаваных ў вадкім азоце лісця і ўцэкаў брусніцы з дапамогай СТАВ-буфера. Былі падабраныя праймеры, якія паказваюць найбольшы палімарфізм на розных генатыпах брусніцы звычайнай. Вырабілі ацэнку ўзроўню генетычнага падабенства/адрознення па разлічаных каэфіцыентах генетычных дыстанцый па формуле  $Nei$  і  $Li$  для ISSR - і RAPD-аналізу.

Было выяўлена, што найбольш выдаленай ад гатункаў брусніцы звычайнай апынулася краявідная брусніца з натуральных папуляцый, генетычныя дыстанцыі для якой знаходзіліся ў дыяпазоне 0,398-0,578. Найбольш адрознымі ад геномаў вывучаных гатункаў брусніц апынуліся геномы шведскага гатунку «*Ida*» і расійскага «*Костромичка*». Найбольшы каэфіцыент генетычных адрозненняў назіраўся паміж гатункамі «*Ida*» і «*Рубін*» (0,538). Самым нізкім узроўнем генетычнага палімарфізму характарызуецца група гатункаў нямецкага паходжання («*Ammerland*», «*Erntedank*», «*Erntekrone*», «*Erntesegen*»). Найменшыя генетычныя дыстанцыі выяўлены паміж гатункамі «*Erntekrone*» — «*Koralle*» (0,156), «*Erntekrone*» — «*Sussi*» (0,197), «*Erntedank*» — «*Ammerland*» (0,191) і «*Erntedank*» — «*Sanna*» (0,190).

Аналіз атрыманых даных дазволіў паказаць, што выкарыстанне ISSR-метаду для пашпартызацыі гатункаў брусніцы звычайнай валодае больш высокім каэфіцыентам генетычных дыстанцый у доследных узораў. Такім чынам, падабраныя намі дзве сістэмы праймер дазволілі падзяліць уключаныя ў даследаванні гатунку брусніцы звычайнай. Распрацаваныя метадыкі дазваляюць ідэнтыфікаваць гатункі, якія характарызуюцца большай генетычнай зменлівасцю і якія валодаюць вялікім генетычным патэнцыялам.

## ABSTRACT

Diploma work: 54 pages, 6 illustrations, 4 tables, 59 referensec.

*VACCINIUM VITIS-IDAEA* (L.), DNA-LABELING, GENETIC POLYMORPHISM, INTRODUCED VARIETIES, ISSR, RAPD.

Purpose of the study: the use of RAPD and ISSR analyzes to identify genetic polymorphism and molecular labeling of the collection of common lingonberry varieties of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus.

The study was carried out using 14 introduced varieties of Lingonberry vulgaris. Total DNA was isolated from lingonberry leaves and shoots homogenized in liquid nitrogen using CTAB buffer. Primers were selected that show the greatest polymorphism in various genotypes of common lingonberry. The level of genetic similarity / difference was assessed by the calculated coefficients of genetic distances using the formula Nei and Li for ISSR and RAPD analysis.

It was revealed that the species lingonberry from natural populations was the most distant from the common lingonberry varieties, the genetic distances for which were in the range of 0.398-0.578. The genomes of the Swedish cultivar «Ida» and the Russian cultivar «Kostromichka» turned out to be the most different from the genomes of the studied lingonberry cultivars. The highest coefficient of genetic differences was observed between varieties «Ida» and «Rubin» (0.538). The group of varieties of German origin («Ammerland», «Erntedank», «Erntekrone», «Erntesege») is characterized by the lowest level of genetic polymorphism. The smallest genetic distances were found between the varieties «Erntekrone» - «Koralle» (0.156), «Erntekrone» - «Sussi» (0.197), «Erntedank» - «Ammerland» (0.191), and «Erntedank» – «Sanna» (0.190).

The analysis of the data obtained made it possible to show that the use of the ISSR-method for the certification of common lingonberry varieties has a higher coefficient of genetic distances in the studied samples. Thus, the two systems of primers we selected made it possible to separate the lingonberry varieties included in the studies. The developed methods make it possible to identify varieties that are characterized by greater genetic variability and have a large genetic potential.