

**ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО МАТЕРИАЛА БРУСНИКИ  
ОБЫКНОВЕННОЙ (*VACCINIUM VITIS-IDAEA* L.)**

**И.В. Василевич, А.М. Бриштен, 3 курс**

Научный руководитель – **Н.В. Водчиц**, зав. отраслевой лабораторией  
"ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве"  
**Полесский государственный университет**

**Введение.** К роду *Vaccinium* относится множество полезных для человека видов растений, одним из которых является брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.). Данная культура входит в государственный реестр сортов Республики Беларусь, что позволяет использовать ее в промышленности. Брусника включает в свой состав органические полезные кислоты, углеводы, каротин, пектин, витамины. В ягодах содержится до 15% сахара в виде глюкозы и фруктозы, а также фосфор, железо, магний, калий. Листья кустарника богаты на дубильные вещества, карбоновые кислоты, гидрохинон [3, с. 40].

Выделение и очистка нуклеиновых кислот из брусники является определяющим этапом для дальнейшей идентификации сортов, паспортизации, а также для определения генов, ответственных за различные необходимые признаки, например, синтез вторичных метаболитов, холодоустойчивость [1, с. 3]. Внедрение ДНК-паспортов в практику сельского хозяйства позволяет повысить эффективность контроля за вновь создаваемыми в республике сортами и качеством селекционного процесса в селекционных учреждениях, вести контроль качества семян, закупаемых за рубежом, сэкономить государственные средства [4, с. 34].

Основной проблемой при выделении ДНК из растительного материала является наличие различных загрязняющих веществ, например полисахаридов и фенольных соединений. Для того чтобы получить очищенные от примесей нуклеиновые кислоты необходимо использовать подходящие методы выделения [5, с. 3].

Из литературы известно, что протокол "ЦТАБ-PVP-меркаптоэтанол" подходит для выделения ДНК из растений голубики и черники [2]. Брусника, как и предыдущие культуры, является представителем рода *Vaccinium*, поэтому есть основания предполагать, что данный протокол подходит для выделения ДНК из растительных тканей *Vacciniumvitis-idaea* L.

Целью данной работы являлась возможность использовать протокол "ЦТАБ-PVP-меркаптоэтанол" для выделения ДНК из брусники обыкновенной.

**Методика и объекты исследования.** Исследования были проведены на базе отраслевой лаборатории "ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве" биотехнологического факультета учреждения образования "Полесский государственный университет" (далее ОЛ ДНКиКТРиЖ БТФ ПолесГУ). В качестве объектов использовали ткани разных органов (стебель и лист) из однолетних побегов интродуцированных сортов брусники обыкновенной "Коралл" и "Мазовия", произведенных методом зеленого черенкования на базе фермерском хозяйстве "Доктор Шарец" (д. Стрелово, Барановичский район).

Для сравнения были использованы растительные ткани адаптантов голубики сортов "Элизабет", "Река", "Кэролин блю", "Хардиблю", произведенных методом клонального микроразмножения *in vitro* на базе ОЛ ДНКиКТРиЖ БТФ ПолесГУ.

ДНК выделяли протоколом "ЦТАБ-PVP-меркаптоэтанол" [2, с. 26]. Оценку эффективности выделения ДНК из листьев и стеблей растений проводили, используя электрофоретическое разделение полученного продукта в агарозном геле и спектрофотометрическое определение концентрации и чистоты образцов по стандартной методике [2, с. 26].

Визуализация результатов электрофореза проводилась в приборе гель-документирования Quantum ST4.

**Результаты и их обсуждение.** В таблице приведены спектрофотометрические данные исследования чистоты и концентрации ДНК образцов голубики и брусники.

Таблица – Спектрофотометрические характеристики образцов ДНК брусники и голубики

№ образца	Сорт брусники	Концентрация ДНК, нг/мкл	$\lambda_{260}/\lambda_{280}$	Сорт голубики	Концентрация ДНК, нг/мкл	$\lambda_{260}/\lambda_{280}$
1	Коралл (лист)	84.7	1.99	Элизабет (стебель)	75.8	1.96
2	Коралл (стебель)	84.5	2.00	Река (стебель)	81.7	2.02
3	Мазовия (лист)	36.0	1.59	Кэролин блю (стебель)	64.3	1.90
4	Мазовия (стебель)	150.6	2.04	Хардиблю (стебель)	38.3	1.89
Среднее		89.0	1.91	Среднее	65.03	1.94

Анализ препаратов ДНК брусники обыкновенной показал, что соотношение поглощения при  $\lambda=260/280$  нм, в среднем, было равно 1.91. Это свидетельствует о том, что полученные образцы ДНК имеют высокую степень очистки.

Самая высокая концентрация выделенной ДНК брусники равнялась 150.6 нг/мкл (из стебля), голубики – 81.7 нг/мкл (из стебля); минимальная концентрация полученной ДНК брусники – 36.0 нг/мкл (из листа), голубики – 38.3 нг/мкл (из стебля).

Наилучшие показатели были получены при выделении ДНК брусники из стеблей. Это является преимуществом, так как брусника представляет собой многолетний кустарник и выделить ДНК из стеблей можно в любое время года.

Для выявления степени деградации молекул в препарате дезоксирибонуклеиновой кислоты использовали электрофоретический анализ.

Выделенная ДНК всех исследуемых образцов брусники при визуализации в агарозном геле светилась в виде яркой компактной полосы высокой молекулярной массы (Рисунок).

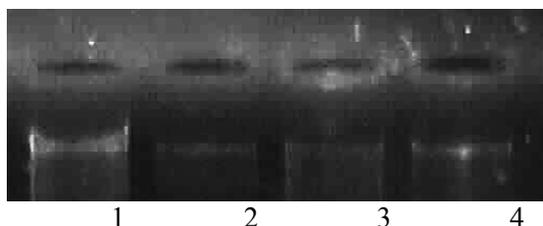


Рисунок – Электрофореграмма образцов ДНК, выделенных из брусники. Сорта: 1 – Коралл (лист); 2 – Коралл (стебель); 3 – Мазовия (лист); 4 – Мазовия (стебель)

**Выводы.** Методика экстракции "ЦТАБ-РVP-меркаптоэтанол" обеспечивает достаточный выход ДНК с хорошей степенью очистки из растительного материала брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.). Наибольший выход нуклеиновых кислот наблюдался из стеблей, наименьший – из зеленых листьев. Это является преимуществом, так как зеленые листья по ряду причин, не всегда доступны, а после хранения в замороженном состоянии они часто мало пригодны для дальнейшей работы.

#### Список использованных источников

1. Антонова, О. С. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии (обзор) / О. С. Антонова [и др.] // Научное приборостроение. – 2010. – Т. 20, № 1. – С. 3–9.

2. Водчиц, Н.В. Сравнительный анализ методов экстракции общей геномной ДНК голубики высокорослой / Н. В. Водчиц [и др.] // Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук. – 2014. – № 2. – С. 25–30.

3. Горбунова, Т.А. Атлас лекарственных растений / Т. А. Горбунова. – М.: Аргументы и факты, 1995. – 352 с.

4. Падутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Падутов [и др.]. – Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.

5. Рябушкина, Н. А. Специфика выделения ДНК из растительных объектов / Н. А. Рябушкина [и др.] // Биотехнология. Теория и практика. – 2012. – № 2. – С. 9–26.