

Комплексы паразитоидов-наездников (Hymenoptera) считаются важным фактором регуляции численности грацилляриид (Paiva, Yamamoto, 2015). Стремительный набор численности *Ph. issikii* в регионах инвазии и затяжные очаги массового размножения могут объясняться уходом вредителя из-под пресса естественных врагов. Действительно, в регионах инвазии в популяциях моли уровень паразитизма невелик; комплексы паразитоидов состоят из видов, перешедших на инвайдера с местных молей-пестрянок *Phyllonorycter* spp. (Szócs et al., 2015; Ермаев, Рублева, 2017). Насколько эффективны комплексы паразитоидов липовой моли-пестрянки на РДВ, какие аборигенные виды играют при этом значимую роль и есть ли среди них узкие специалисты, перспективные для биоконтроля инвазионных популяций *Ph. issikii* – вопросы, на которые мы намерены получить ответы в ближайшее время.

Исследования выполнены при поддержке РФФИ, № гранта 19-04-01029а.

**РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПОДХОДОВ К ДИАГНОСТИКЕ
ИЗМЕНЧИВОСТИ ПРОМОТОРА ГЕНА PALAR ЕЛИ
ЕВРОПЕЙСКОЙ, АССОЦИИРОВАННОГО
С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К *HETEROBASIDION PARVIPORUM***

Кириянов П.С., Можаровская Л.В.
Институт леса НАН Беларуси, PKitjanov@yandex.ru

**DEVELOPMENT OF NEW APPROACHES TO DIAGNOSTICS
OF THE VARIABILITY OF THE PALAR GENE PROMOTOR
OF NORWAY SPRUCE ASSOCIATED WITH RESISTANCE
TO *HETEROBASIDION PARVIPORUM***

Kiryaynov P.S., Mozharovskaya L.V.

The paper discusses promising loci of resistance of Norway spruce to *Heterobasidion parviporum* infection. Based on the data obtained, primers were developed to diagnose the variability of the leucoanthocyanidin reductase gene promoter. Of the 48 analyzed plants, 5 trees had increased resistance, 22 more trees had intermediate level, 21 trees were susceptible.

За последние десятилетия, на основании проведенных широкомасштабных научных исследований, сформирован ряд селекционных и лесоводческих подходов к выращиванию древесного сырья с заданными

параметрами по ряду технологических характеристик. В связи с этим на данный момент важной задачей для лесного хозяйства является сохранение созданных объектов, выращенных в соответствии с разработанными подходами, и улучшение их продуктивности. В первую очередь это связано с наблюдаемыми и прогнозируемыми в дальнейшем глобальными климатическими изменениями, выражающимися в уменьшении общего уровня осадков и увеличении суммарного температурного режима в период вегетации, что обуславливает стрессовое состояние и ослабление древесных растений, потерю ими биологической устойчивости, что в свою очередь создает предпосылки для поражения лесных пород различными типами фитопатогенных организмов.

Следует отметить, что среди главных лесообразующих пород Беларуси, наибольшие негативные тенденции, связанные с сокращением удельных площадей произрастания и запаса древесины, отмечены для еловых насаждений. Так, за текущий десятилетний период, суммарная площадь ельников сократилась на 40%, что в дальнейшем может вызывать появление дефицита в ресурсах еловой древесины и исчезновение еловой формации в лесном фонде страны. Комплексная селекция хемотипов ели европейской, позволит не только получить сырье с необходимыми технологическими характеристиками, но и обеспечить устойчивое воспроизводство данной породы, сохранить уровень биологической продуктивности еловых насаждений. Одними из актуализированных химических компонентов древесины ели европейской, в данном аспекте, выступают ряд соединений флавоноидной природы и терпеновые масла. Селекционная значимость указанных соединений обусловлена их важной ролью в формировании устойчивости деревьев по отношению к повреждению гнилевыми болезнями и насекомыми-вредителями. Так, проведенный биохимический анализ тканей ели европейской показал, что одним из механизмов формирования резистентности к корневой губке является выработка катехинов – соединений флавоноидной природы, и в частности лейкоантоцианидина [1, 2]. Следует отметить, что сверхэкспрессия редкого аллеля (LAR-промотор В) отвечающего за синтез лейкоантоцианидинредуктазы достоверно накапливали более высокие уровни катехинов, при проникновении гриба *Heterobasidion parviporum* в анатомические структуры деревьев, что не наблюдалось у восприимчивых деревьев, несущих альтернативную последовательность протомотора (LAR-промотор А) [2]. Разработка удобной системы анализа аллельных вариантов гена лейкоантоцианидинредуктазы даст возможность отбора перспективных генотипов деревьев ели европейской и их использования в селекционном-семеноводстве и при закладке лесных культур. Согласно работе Немессио-Горщ М. с соавторами, различить продуктивные деревья по данному признаку можно с помощью амплификации

видоспецифической маркерной области и последующего визуализации продуктов реакции [2].

Таким образом, исходя из всего вышесказанного, целью работы явилась разработка молекулярно-генетического подхода к диагностике изменчивости промотора гена выработки лейкоантоцианидинредуктазы у ели европейской в Беларуси.

Для эксперимента были отобраны образцы хвои 48 плюсовых деревьев ели европейской (*Picea abies* L.), для последующей экстракции ДНК, выполнения анализа методом ПЦР и разделением фракций амплифицируемой области в агарозном геле методом горизонтального электрофореза.

На полученных электрофореграммах были отмечены слаборазличимые специфические зоны продуктов реакции амплификации практически у всех анализируемых деревьев по двум аллелям, что говорит о наличии полиморфизма в зоне отжига праймеров и затрудняет идентификацию маркерной области, что в дальнейшем привело бы к неверной интерпретации результатов анализа. Тем не менее, в нуклеотидной последовательности локуса устойчивости была обнаружена обширная делеция, которая может являться основой для детектирования присутствия того или иного аллеля на электрофореграмме. В связи с этим нами были разработаны синтетические олигонуклеотиды, фланкирующие регион с обширной делецией универсального состава, для одновременной амплификации обоих аллельных вариантов гена. Праймеры имели следующий нуклеотидный состав: PaPrLAR F: AGGAAGGCAAAATAGGACTG, PaPrLAR R: TTTTGGCGGTTTGTTTTA.



Рисунок 1 – Фрагмент электрофоретического спектра LAR гена *Picea abies* (М-маркер молекулярных масс)

В результате были получены хорошо различимые зоны амплификации обоих аллельных вариантов, на основании которых проведен отбор перспективных деревьев, обладающих исключительной устойчивостью по анализируемому локусу. Среди 48 проанализированных деревьев гомозиготное состояние по аллелю А (восприимчивость)

имело 21 дерево, гетерозиготное состояние имели 22 дерева и 5 деревьев характеризовались носителем устойчивого генотипа. Описанные в литературе заражённые фитопатогеном гетерозиготные и гомозиготные устойчивые растения по локусу синтеза лейкоантоцианидинредуктазы имели схожие значения сопротивляемости инфекции [2]. Такие данные свидетельствуют о том, что признак устойчивости к заражению ели европейской корневой губкой является доминантным, а растения являющиеся гетерозиготными по локусу устойчивости так же могут быть отобраны для дальнейшей селекционной работы.

В ходе выполнения работы была проанализирована видоспецифическая зона синтеза лейкоантоцианидинредуктазы и разработаны праймеры для амплификации маркерного участка ДНК. Получены данные об аллельном разнообразии у деревьев ели европейской. Среди изученных растений повышенной устойчивостью обладали 5 деревьев, еще 22 дерева имели оба аллельных варианта, 21 дерево характеризовалось восприимчивостью по данному признаку.

Литература

1. Flavan-3-ols in Norway Spruce: Biosynthesis, Accumulation, and Function in Response to Attack by the Bark Beetle-Associated Fungus *Ceratocystis polonica* / A. Hammerbacher [et al.] // *Plant Physiology*. – 2014. – Vol. 164, №4. – P. 2107–2122.

2. Different alleles of a gene encoding leucoanthocyanidin reductase (PaLAR3) influence resistance against the fungus *Heterobasidion parviporum* in *Picea abies* / M. Nemesio Gorriz [et al.] // *Plant Physiology*. – 2016. – Vol. 171, №4. – P. 2671–2681.

МИКОЦИТОСФЕРНОЕ СРАВНЕНИЕ ЭНДОАССОЦИАЦИЙ

Колмаков П.Ю., Антонова Е.В.

Витебский государственный университет
имени П.М. Машерова,
e-mail: pavel_kolmakov@list.ru

ENDOASSOCIATION MYCOCYTOSPHERE COMPARISON

Kolmakov P.Yu., Antonova E.V.

Fungi and Plant influence on each other takes place on different levels: biosphere, biogeocoenocyte, phytocoenocyte, mycophytosphere, mycocytosphere. Stability on each level has been achieved by various ways. On the basis of our