



2. ЛЕСОВОССТАНОВЛЕНИЕ. ЛЕСНАЯ СЕЛЕКЦИЯ, СЕМЕНОВОДСТВО. ЛЕСНАЯ ГЕНЕТИКА

УДК 577.212:632.4

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АННОТАЦИЯ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ГЕНОМЕ *RHOMA* SP 1.

Баранов О.Ю.¹, Пантелеев С.В.¹, Рубель И.Э.¹,
Ярмолович В.А.², Середич М.О.²

¹Институт леса НАН Беларуси
(г. Гомель, Беларусь)

²Белорусский государственный технологический университет
(г. Минск, Беларусь)

Фомоз (сухая гниль) посадочного материала – опасное инфекционное заболевание, вызываемое аскомицетными грибами рода *Rhoma* и поражающее в лесных питомниках преимущественно сеянцы и саженцы *Pinus* и *Picea*. С целью совершенствования методов молекулярно-фитопатологического мониторинга необходима разработка набора генетических маркеров для ранней диагностики данного заболевания. В результате первичной обработки данных получено 5,7 млн. (840 млн. п.н.) высококачественных парноконцевых чтений генома *Rhoma* sp.1, при этом порядка 4% последовательностей являлись высокоповторяющимися. На основании идентифицированных последовательностей высокоповторяющихся регионов ДНК, был проведен генетико-таксономический анализ *Rhoma* sp. 1 с фитопатогенными видами аскомицетных грибов.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы, в связи с интенсивным внедрением технологий секвенирования следующего поколения (NGS) в биологические науки, отмечается экспоненциальный рост числа видов живых организмов, для которых проведена расшифровка их геномов [1]. Несмотря на полученные огромные массивы данных парноконцевых прочтений, полная сборка и аннотация большинства геномов ограничивается возможностями доступной вычислительной техники, разработанными алгоритмами анализов, а также специфической структурной организации наследственного аппарата изученных видов. Одной из особенностей структуры геномов живых организмов является наличие в полинуклеотидной цепи значительного количества повторяющихся последовательностей, величина мотивов которых превышает размеры анализируемых фрагментов геномных библиотек, что делает невозможным определение точных границ сателлитных областей и фланкирующих их регионов, и в свою очередь не позволяет провести полную информационную сборку молекулы ДНК [1].

К повторяющимся последовательностям относят любые регионы ДНК, представленные двумя и более копиями в геноме. В той или иной форме, повторяющиеся последовательности являются общей чертой геномов всех изученных до настоящего времени организмов. По своим структурно-функциональным особенностям повторяющиеся последовательности могут быть разделены на пять основных категорий: диспергированные повторы, тандемные повторы, сегментные дубликации, мультикопийные семейства генов, псевдогены. Различия между типами повторяющихся элементов могут сводиться к характеру расположения в геноме (дисперсно или последовательно-чередующееся), наличию/отсутствию белок-кодирующих регионов, типу транслируемых последовательностей.

Диспергированные повторяющиеся последовательности в основном представлены мобильными генетическими элементами – фрагментами ДНК, способных к перемещению по геному в течение всей жизни организма, и зачастую с увеличением числа их копий. В большом числе литературных материалов мобильные элементы сравнивают или проводят аналогию с агентами вирусной природы. Наиболее изучены транспозоны и ретротранспозоны [1, 2].

Классификация тандемных повторов основана на размере повторяющихся мотивов: микросателлиты – представлены короткими олигонуклеотидными последовательностями (1-9 нуклеотидов), число повторяющихся единиц обычно не превышает 30-40; минисателлиты – включают мотивы размером от 10 до 150 и более нуклеотидов, число повторяющихся единиц может достигать 100 или, реже, несколько десятков тысяч.

Сегментные дубликации образованы повторяющимися и не имеющими абсолютной гомологии (уровень различий может достигать до 10%) регионами размером более 1 тыс. п.н. [3].

Семейства генов – состоят из кластеров дублицированных генов. Данный тип повторяющейся ДНК выявлен, к настоящему времени, у всех из-

вестных организмов. В большинстве случаев гены, входящие в кластер, являются паралогами. Размер семейств генов у разных видов организмов варьирует в широкой степени как по числу (в ряде случаев до 100-150) входящих генов, так и общему размеру [4].

Одним из абберрантных вариантов генных дупликаций являются псевдогены, сходных по структуре с исходными функциональными локусами, но утративших активность, вследствие возникновения внутренних мутаций.

Идентификация повторяющихся последовательностей в геномах фитопатогенных грибов имеет не только фундаментальную, но и практическую значимость. С одной стороны, повторяющиеся элементы являются удобным инструментом для проведения молекулярной паспортизации, популяционно-генетических и филогенетических исследований [1, 5]. С другой стороны, повторяющиеся элементы патогенов зачастую содержат факторы вирулентности и резистентности, что позволяет использовать их, в качестве специфических маркеров, для проведения диагностики заболеваний, прогноза степени их развития, разработки оптимальных алгоритмов профилактических и защитных мероприятий и пр.

Фомоз – инфекционное заболевание сельскохозяйственных и лесных видов растений, вызываемое аскомицетными грибами рода *Phoma*. Наибольшую степень развития данное заболевание приобретает в дождливые сезоны или в периоды излишней увлажненности почвы. В лесных питомниках вредоносность фомоза может достигать в ряде случаев 100%. Особую опасность данное заболевание представляет для посадочного материала хвойных пород, вызывая поражение и отмирание верхушечной почки [6].

В ходе ранее (2011-2014 гг.) проведенного ДНК-анализа патогенной микрофлоры посадочного материала в лесных питомниках был выявлен широкий спектр видов *Phoma*. Следует отметить, что возбудители фомоза были диагностированы только в посадочном материале хвойных видов растений. При этом, среди всех выявленных инфекционных заболеваний сеянцев и саженцев сосны и ели (в исследуемый период) фомоз характеризовался наибольшей распространенностью и был выявлен у 34% зараженных растений [7].

Несмотря на широкую распространенность по всему миру, фомоз в Беларуси службами лесопатологического мониторинга диагностируется относительно недавно, что по всей видимости может быть связано с отсутствием полноценных методов диагностики инфекционных заболеваний [7]. Также этим может быть обусловлено и ограниченное число литературных данных, посвященные фомозу лесных растений в Беларуси.

Исходя из всего выше сказанного, целью данной работы является изучение особенностей генома нового гриба *Phoma* sp. 1, одного из возбудителей сухой гнили (фомоза) сеянцев и саженцев хвойных пород для последующей разработки методов их ранней диагностики и видовой идентификации. Научная новизна полученных результатов заключается в последующем исследовании и установлении генетических детерминант факторов патогенности и вирулентности данного вида, уточнение его систематического положения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изолят *Phoma* sp. 1 был выделен в культуру *in vitro* из инфицированных 2-летних саженцев ели, выращиваемых на территории лесного питомника Любанского лесхоза Минского ГПЛХО. Предварительное секвенирование региона рДНК, включающего ВТС1 – 5,8S рРНК – ВТС2, показало высокое сходство (98%) нуклеотидной структуры с депонированными в базе данных GeneBank NCBI (США) изолятами *Phoma* spp. [8]. В тоже время выявленный 2%-ый уровень генетических различий рДНК указывал на видовую самостоятельность данного таксона.

Получение препаратов суммарной ДНК из микробиологической культуры было выполнено на основании СТАВ-протокола. Создание ДНК-библиотеки (200 п.н.) и последующее геномное секвенирование было выполнено на базе Ion PGM Torrent (Life Technologies) с использованием коммерческих наборов и протоколов фирмы-производителя для алгоритма *de novo*-анализа.

Первичная сборка и аннотация генома была выполнена с использованием программного пакета Lasergene 12 (DNASTAR, Израиль).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате секвенирования получено 5,7 миллионов парноконцевых чтений генома *Phoma* sp.1 с $Q > 20$ (т. е. вероятность ошибки секвенирования не более 1%) или 840 миллионов пар нуклеотидов, что обеспечивает ≈ 21 -кратное покрытие генома (размер геномов *Phoma* spp., исходя из литературных источников составляет порядка 40 миллионов пар нуклеотидов).

На основании первичной обработки данных получено более 83 тысяч групп фрагментов ДНК, 3,5 тысяч из которых относились к повторяющимся последовательностям. В ходе последующей сборки парноконцевых чтений, представленных в группе повторяющихся последовательностей, был получен 191 консенсусный фрагмент перекрывающихся цепей ДНК (контиг). Последующий сравнительный анализ контигов с депонированными в базе данных GeneBank NCBI образцами позволил выявить гомологию для 41 последовательности, представленной в таблице.

Как видно из таблицы, к мультикопийным последовательностям в геноме *Phoma* sp. 1 можно отнести локусы митохондриона, что связано большим количеством как митохондрий в клетке эукариот, так и копий мтДНК внутри органеллы. Размер кольцевой молекулы мтДНК составил 31916 п.н. и включал в себя по предварительной оценке 3 гена митохондриальной рРНК, 6 генов энергетического обмена (цитохрома, НАДН-дегидрогеназы, АТФ-синтетазы), 23 гена тРНК.

Таблица 1 – Список контигов с установленной гомологией в базе данных GeneBank NCBI

Идентификационный номер контига	Структурно-функциональная принадлежность гомологов в GeneBank NCBI
45652	Митохондриальная ДНК грибов
45668	Хеликаза мтДНК (локализована в ядерной ДНК)
45699, 45711, 45721, 45722, 45689, 45858, 45796, 45675, 45667	Регион ядерной ДНК грибов с неустановленной функцией
45731, 45817, 45665, 45803, 45727, 45816, 45736, 45820, 45819, 45811, 45841, 45767, 45837	Регион ядерной ДНК, содержащий мобильные генетические элементы
45705	Регион ядерной ДНК, содержащий локусы большой и малой субъединицы рРНК
45706	Основной мотив рДНК, включающий межгенный спейсер, ген 18S рРНК, внутренние транскрибируемые спейсеры 1 и 2, ген 5.8S рРНК, 28S рРНК
45656	Ядерная ДНК, содержащая ретротранспозон – аналог ретровирусных <i>gag</i> , <i>pol</i> и <i>env</i> генов
45688	Кластер генов, детерминирующих биосинтез АF-токсина
45695	Кластер генов, детерминирующих биосинтез АС-токсина
45690	Ген Zn(II)2Cys6 – регулятор транскрипции, биосинтеза АМ-токсина
45718, 45859, 45784, 45807, 45869	Кластер генов, детерминирующих биосинтез АМ-токсина
45737, 45852	Кластер генов, детерминирующих биосинтез АF-токсина. Включает псевдоген TLS-S2-2 транспозазы
45868	Кластер генов АСТТR, АСТТЗ регулятор транскрипции факторов биосинтеза АС-токсина
45747	Ген, детерминирующий поликетидсинтазу PKS1. Содержит мобильный генетический элемент
45848	Ген мембранной Ca ²⁺ -транспортирующей АТФазы Р-типа
45666	Ген нерибосомальной пептидсинтазы Аси, детерминирующей биосинтез пептидных токсинов
45885	Кластер генов, детерминирующих биосинтез АК-токсина. Содержит мобильный генетический элемент
45883	Участок гена, кодирующего GTP-связывающий белок
45889	Ген хитинсинтазы
45893	АТФ-зависимая пермеаза

Размер основного мотива оперона ядерной рРНК составил 7524 п.н., и включал в себя межгенный спейсер (1932 п.н.), ген 18S РНК (1798 п.н.), внутренний транскрибируемый спейсер 1 (139 п.н.), ген 5,8S РНК (158 п.н.), внутренний транскрибируемый спейсер 2 (148 п.н.), ген 26S РНК (3349 п.н.). Интересной особенностью структуры межгенного спейсера являлось наличие уникальной повторяющейся минисателлитной последовательности, пред-

ставленной шестью копиями мотива AGTAGGTTAAGGACTATGTTGGACC, четырьмя копиями мотива AGTAGGTTAGAGAGGTTGATTAGACC и его одиночного фрагмента AGTAGGTTAGA.

Среди идентифицированных мультикопийных генов основного метаболизма следует отметить локус детерминирующий хитиназу – фермент, катализирующий деградацию хитина, и действующего наиболее часто как эндофермент, отщепляя хитоолигосахариды длиной в 2-6 N-ацетилглюкозаминовых остатков. Необходимость интенсивной продукции хитиназы у грибов (и как следствие мультикопийность данного гена), по литературным данным, обусловлена постоянным морфогенезом клеточной стенки. Кроме того, фермент хитиназа является важным защитным фактором против воздействия других грибных микроорганизмов.

Как видно из таблицы 1 большое количество повторяющихся последовательностей представлено регионами, содержащими мобильные генетические элементы (МГЭ) различных групп, включая транспозоны и ретротранспозоны. При этом, значительное число МГЭ ассоциировано с факторами патогенности – генами, детерминирующими биосинтез видоспецифичных токсинов (HST): AM, AK, AC и AF. Данные токсины химически являются сходными и имеют в своей структуре остаток 9,10-эпокси-8-гидрокси-9-метилдекатриеновой кислоты. Главными мишенями перечисленных токсинов являются ферменты основных метаболических путей растений-хозяев.

Среди генов, детерминирующих биосинтез токсинов идентифицированы и локусы поликетидсинтаз. Поликетиды – вторичные метаболиты, по химическому составу являющихся полимерами ацетильных и пропиловых групп, и их производных. Структурно к поликетидам относятся соединения естественного происхождения с различными функциональными характеристиками: антибиотики (макролиды, тетрациклины и др.), токсины (афлатоксин), статины. Филогенетически поликетидсинтазы наиболее близки с синтазами жирных кислот. Гены, детерминирующие поликетидсинтазы, по литературным данным, в большинстве случаев у патогенных грибов локализованы в отдельных кластерах.

К основным структурно-функциональным единицам локуса PKS1, на основании изучения продуктов трансляции, можно отнести консервативные домены, включающие: АСТ-домен, ответственный за образование комплекса с ферментом ацил-трансферазой; активный центр поликетидсинтазы, определяющий каталитическую функцию; АСР-домен, ответственный за образование комплекса с ферментом дегидратазой ацил-несущего белка; РР-b-домен, ответственный за образования комплекса с фосфопантеином и ELIP-домен, характеризующийся эстеразно-липазной активностью (рисунок 1).

Сопоставление структуры гена PKS1 (референсный вид *Alt. alternata*) с гомологичными локусами различных видов микромицетов выявило существенные различия в уровне сходства полинуклеотидных цепей – 59-84% (таблица 2). При этом следует отметить, что видоспецифические SNP были дисперсно распределены по всему гену и затрагивали все ранее перечисленные домены (рисунок 2). В тоже время, в ходе детального изучения у типов фило-

генетических изменений было выявлено отсутствие существенных перестроек структуры доменов, что указывает на сохранении сходной функциональной активности фермента PKS1 у различных таксономических групп. Частота встречаемости синонимичных кодонов для референсных микромицетов составила от 16 до 24%, что и обусловило более высокий уровень сходства полипептидных цепей (72-98%), по сравнению с исходной ДНК-матрицей.

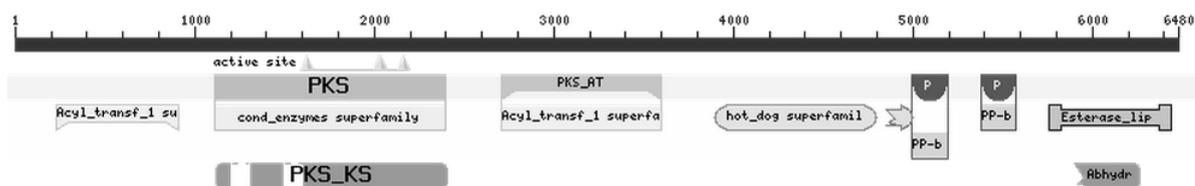


Рисунок 1 – Схематическое отображение структурно-функциональной организации анализируемой последовательности фрагмента локуса PKS1

На основании результатов сопоставления нуклеотидных последовательностей гена PKS1 у различных видов микромицетов, были рассчитаны коэффициенты генетической дифференциации, и построена дендрограмма, иллюстрирующая генетико-таксономические взаимоотношения среди проанализированных патогенов (рисунок 3). Как видно из структуры дендрограммы, результаты кластеризации для большинства представленных видов соответствуют существующей систематике грибов, что указывает на ортологичный характер происхождения данного локуса и относительно равной скорости эволюции последовательностей генетических макромолекул среди исследованных таксономических единиц.

Таблица 2 – Сравнительный анализ структуры фрагмента гена PKS1 референсных геномов микромицетов (GeneBank NCBI)

Название вида	Степень перекрытия нуклеотидных последовательностей	Степень сходства нуклеотидных последовательностей
<i>Bipolaris oryzae</i>	99%	83%
<i>Bipolaris zeicola</i>	99%	82%
<i>Setosphaeria turcica</i>	99%	82%
<i>Cochliobolus sativus</i>	99%	82%
<i>Pyrenophora teres</i>	99%	82%
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	99%	83%
<i>Cochliobolus sativus</i>	99%	82%
<i>Cochliobolus heterostrophus</i>	96%	82%
<i>Leptosphaeria bialobosa</i>	92%	78%
<i>Phaeosphaeria nodorum</i>	76%	78%
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	96%	83%
<i>Leptosphaeria maculans</i>	74%	77%
<i>Phoma sp. 1</i>	74%	76%

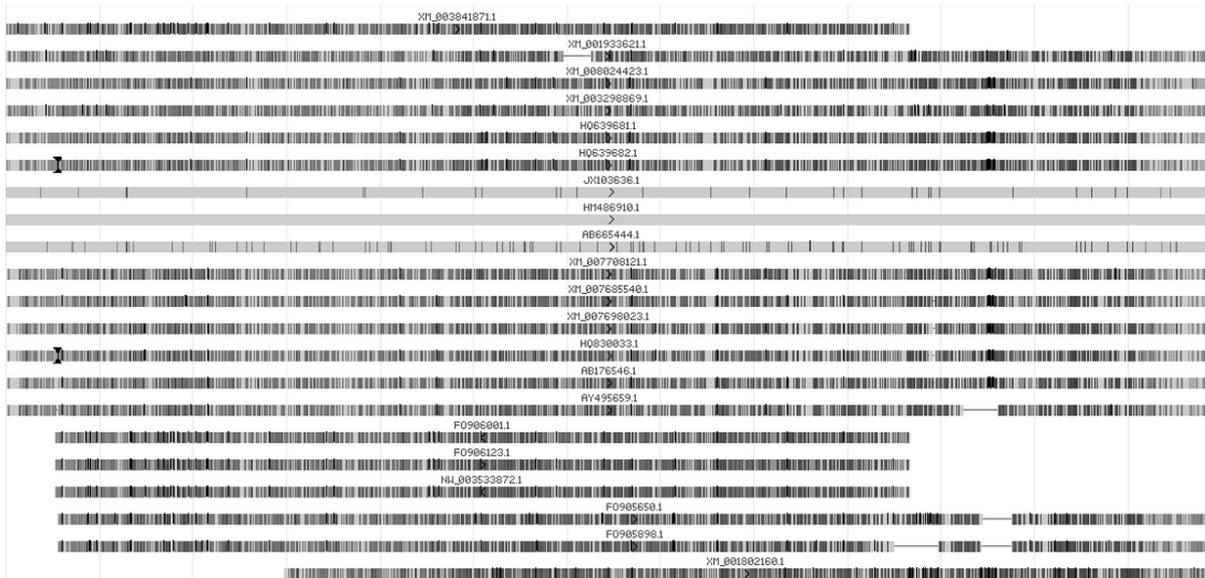


Рисунок 2 –Сопоставление нуклеотидных последовательностей фрагмента гена PKS1 исследованных видов микромицетов (светлым цветом обозначены консервативные области, темным – видоспецифические)

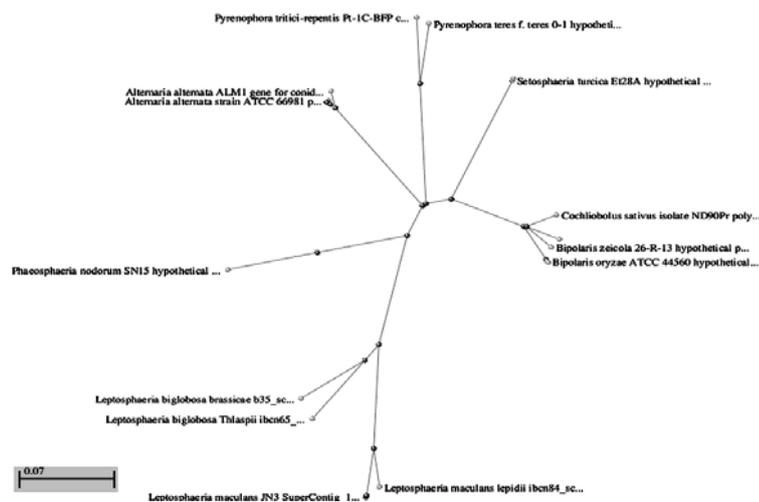


Рисунок 3 – Дендрограмма, иллюстрирующая степень генетической дифференциации среди изученных видов микромицетов на основании анализа нуклеотидной последовательности гена PKS1

Кроме токсинов липидной природы, в геноме *Phoma sp.* 1 идентифицированы локусы нерибосомальных пептидсинтаз (контиг 45666). Особенно-стью ферментов данного типа, является способность к биосинтезу пептидных молекул без участия мРНК. Каждая вид ферментов может синтезировать только один тип пептидов. Нерибосомные пептиды часто имеют циклические или разветвленные структуры, содержат непротеиногенные аминокислоты, и характеризуются антибиотическим, цитостатическим и токсическим действием на клетки высших растений. Гены, детерминирующие синтетазы нерибосомных пептидов в большинстве случаев у патогенных грибов локализованы в отдельных кластерах.

Одним из аннотированных генов кластера нерибосомальных пептид синтаз явился локус NRPS6. Среди основных структурно-функциональных единиц NRPS6, на основании изучения продуктов трансляции, идентифицированы консервативные домены: ATPBind – участвующий в связывании и расщеплении АТФ; и консервативный мотив ацил-активирующих ферментов, представленный консенсусной аминокислотной последовательностью PROSITE PS00455: [LIVMFY]-X-X-[STG]-[STAG]-G-[ST]-[STEI]-[SG]-X-[PASLIVM]-[KR] (рисунок 4). Сравнительное изучение консервативных регионов гена NRPS6 выявило высокий уровень сходства нуклеотидной структуры генов среди представителей различных родов доминирующих фитопатогенов лесных древесных растений (95~98%).

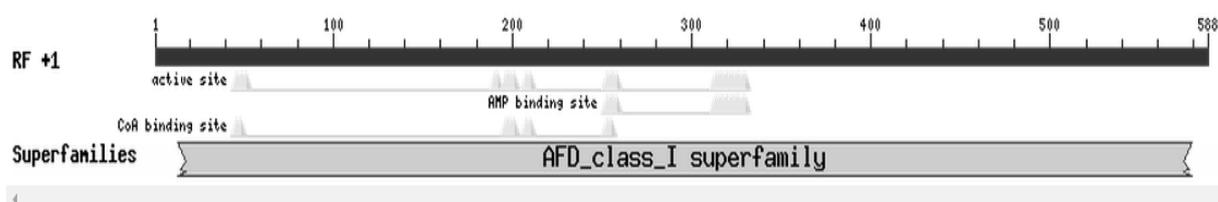


Рисунок 4 – Схематическое отображение структурно-функциональной организации анализированной последовательности фрагмента гена NRPS6

Проведенный сравнительный анализ полного фрагмента гена NRPS6 некротрофных фитопатогенов выявил существенные различия в уровне сходства нуклеотидной структуры генов среди видов микромицетов – 66-75% (таблица 3). При этом, как видно из таблицы, для всех видов фитопатогенов сходство аминокислотных последовательностей превысило аналогичный показатель, рассчитанный (с учетом неперекрывающихся областей) для нуклеотидных цепей, что по всей видимости объясняется присутствия значительной доли синонимичных замен в общем количестве диагностируемых межвидовых вариаций. Кроме того, в структуре полипептидной цепи от 15 до 25% аминокислотных замен характеризовались сходным общим зарядом молекул, что в свою очередь, также обусловило низкий уровень межвидовых особенностей на уровня вторичной и третичной организации структуры фермента NRPS6, и как следствие отсутствие существенных изменений в каталитических свойствах и функциях, несмотря на высокую степень различий на уровне ДНК-матриц.

Таблица 3 – Сравнительный анализ сходства структуры фрагмента гена NRPS6 среди некротрофных грибов

Название вида	Степень перекрытия нуклеотидных последовательностей	Степень сходства нуклеотидных последовательностей	Степень сходства аминокислотных последовательностей
<i>Setosphaeria turcica</i>	96%	75%	82%
<i>Alternaria alternata</i>	96%	75%	83%
<i>Leptosphaeria maculans</i>	96%	74%	81%
<i>Leptosphaeria bialobosa</i>	96%	73%	81%
<i>Alternaria brassicicola</i>	96%	73%	76%
<i>Phaeosphaeria nodorum</i>	96%	68%	74%
<i>Cochliobolus sativus</i>	94%	76%	82%
<i>Bipolaris zeicola</i>	94%	75%	82%
<i>Cochliobolus carbonum</i>	94%	75%	81%
<i>Bipolaris oryzae</i>	94%	75%	81%
<i>Cochliobolus nivabeanus</i>	94%	75%	82%
<i>Cochliobolus heterostrophus</i>	94%	75%	82%
<i>Cochliobolus lunatus</i>	94%	75%	81%
<i>Pestalotiopsis fici</i>	93%	63%	81%
<i>Pyrenophora teres</i>	93%	75%	81%
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	93%	73%	81%
<i>Capronia epimyces</i>	90%	64%	68%
<i>Neofusicoccum narvum</i>	90%	64%	68%
<i>Fusarium araminearum</i>	89%	66%	62%
<i>Gibberella zeae</i>	89%	66%	62%

Полученные данные сравнительного анализа гена NRPS6 для 20 видов некротрофных грибов позволили с помощью программного обеспечения BLAST TREE рассчитать коэффициенты генетической дифференциации и, на основании метода кластеризации – минимальной эволюции, построить дендрограмму, иллюстрирующую степень генетической дифференциации среди изученных микромицетов (рисунок 5).

Как видно из структуры дендрограммы, результаты кластеризации (на основании анализа фрагмента гена NRPS6) для большинства представленных видов соответствуют существующей систематике грибов, что указывает на ортологичный характер происхождения данного локуса и относительно равной скорости эволюции последовательностей генетических макромолекул среди исследованных таксономических единиц.

Детальный анализ нуклеотидных последовательностей позволил выявить консервативные и переменные области гена NRPS6. Схематическое отображение результатов сопоставления нуклеотидных последовательностей представлено на рисунке 6.

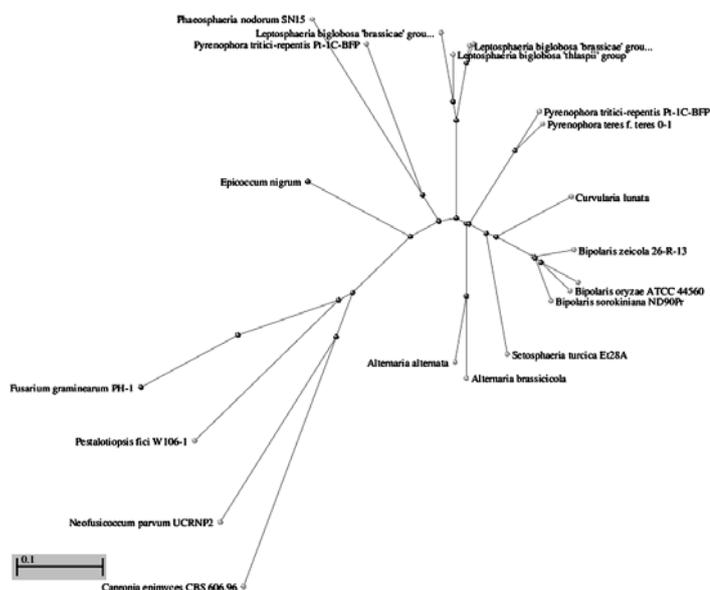


Рисунок 5 – Дендрограмма, иллюстрирующая степень генетической дифференциации среди изученных видов микромицетов на основании анализа нуклеотидной последовательности фрагмента гена NRPS6

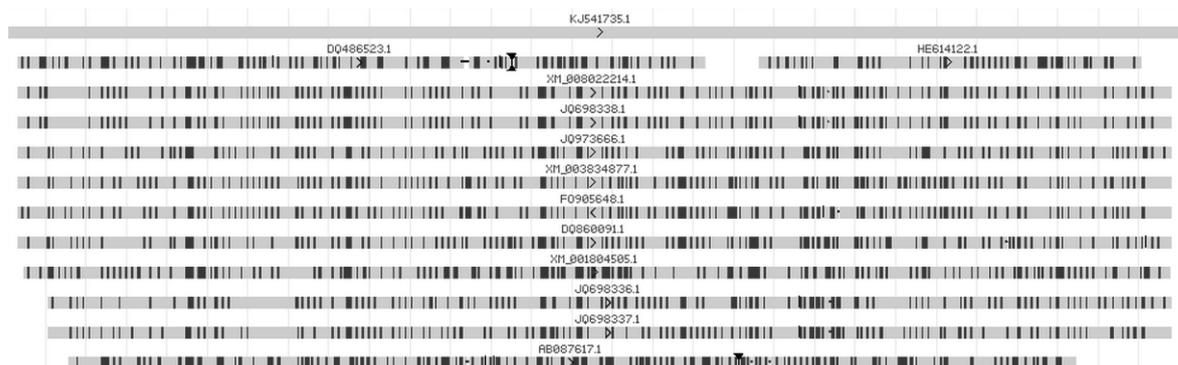


Рисунок 6 – Сопоставление нуклеотидных последовательностей фрагмента гена NRPS6 исследованных видов микромицетов (светлым цветом обозначены консервативные области, темным – видоспецифические)

Кроме гена NRPS6, в ходе исследования был аннотирован также и другой представитель семейства нерибосомальных пептидсинтаз – *HC*-локус, детерминирующий ключевые этапы синтеза *HC*-токсина. *HC*-токсин представляет собой циклический тетрапептид следующей структуры: D-Пролин-L-Аланин-D-Аланин-L-АЭОК (2-амино-9,10-эпокси-8-оксодекановая кислота). *HC*-токсин ингибирует фермент деацетилазу гистонов (HDACs) у большого числа эукариотических организмов, включая и высшие растения.

Проведенный сравнительный анализ фрагмента *HC*-гена некротрофных фитопатогенов выявил более существенные различия, по сравнению с локусом NRPS6, в степени сходства нуклеотидной структуры генов среди представителей изученных видов микромицетов – 44-96%. При этом, как и в предыдущем случае, для всех видов степень сходства аминокислотных последо-

вательностей превысила аналогичные значения, рассчитанные (с учетом неперекрывающихся областей) для нуклеотидных цепей, что по всей видимости также объясняется присутствием значительной доли синонимичных замен в общем числе диагностируемых межвидовых вариаций. Аналогичные результаты (16-22%) были выявлены и по количеству аминокислотных замен, характеризующихся сходным зарядом молекул.

На основании полученных данных сравнительного анализа фрагмента *HC*-гена среди некротрофных грибов, была построена дендрограмма, представленная на рисунке 7, иллюстрирующая степень генетической дифференциации среди изученных видов микромицетов. Как видно из структуры дендрограммы, результаты кластеризации (на основании анализа гена *HC*-токсина) для ряда грибов порядка Плеоспоровые и Хелотиевые не в полной мере соответствуют существующей систематике грибов, что по всей видимости указывает на паралогичный характер изученных локусов, или наличие горизонтального переноса генетического материала в ходе филогенеза.

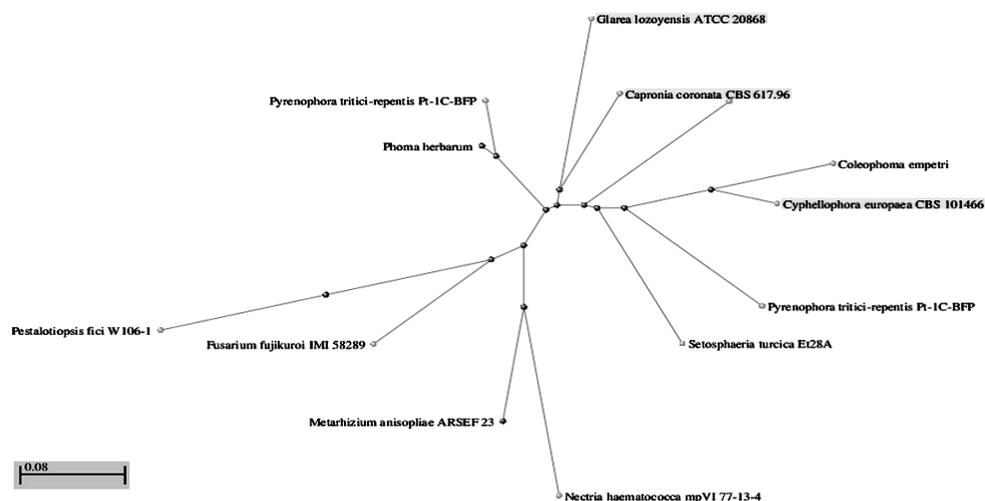


Рисунок 7 – Дендрограмма, иллюстрирующая степень генетической дифференциации среди изученных видов микромицетов на основании анализа нуклеотидной последовательности фрагмента гена *HC*-токсина

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования проведен первичный анализ структурно-функциональных характеристик повторяющихся последовательностей в геноме *Phoma* sp. 1. Показано, что значительное число повторяющейся ДНК представлено регионами, содержащими мигрирующие генетические элементы и генные кластеры, детерминирующие факторы патогенности и вирулентности. Полученные данные будут использованы для последующего изучения биологических особенностей и механизмов патогенеза *Phoma* sp. 1, разработки системы ранней диагностики, оценки вирулентности, агрессивности и вредоносности изолятов возбудителей фомоза посадочного материала лесных видов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jin-Rong Xu Burton H. Bluhm (eds.), Fungal Genomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, Springer Science+Business Media, LLC 2011 V. 285 p.
2. Картель Н.А. Генетика: Энциклопедический словарь / Н.А. Картель, Е.Н. Макеева, А.М. Мезенко. – Минск: Технология, 1999. – 448 с.
3. Kumar S. Evolutionary relationships of eukaryotic kingdoms / S. Kumar, A. Rzhetsky // J. Mol. Evol. – 1996. – V. 42. – P. 183-193.
4. Charles T. Metagenomics: Theory, Methods and Applications.– Caister Academic Press, 2010. – 212 p.
5. Падутов В.Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В.Е. Падутов, О.Ю. Баранов, Е.В. Воропаев. – Мн.: Юнипол, 2007. – 176 с.
6. Гарибова Л.В. Основы микологии: Морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. Учебное пособие / Л.В. Гарибова, С.Н. Лекомцева. – Москва: Товарищество научных изданий, 2005. – 220 с.
7. Молекулярно-генетическая диагностика грибных болезней в лесных питомниках / О.Ю. Баранов [и др.] // Лесное и охотничье хозяйство. – 2012. – № 6. – С. 21-29.
8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>

IDENTIFICATION AND ANNOTATION OF REPEATING SEQUENCES IN THE GENOME OF *PHOMA* SP 1.

*Baranov O.Yu., Panteleev S.V., Rubel I.E.,
Yarmolovich V.A., Seredich M.O.*

Phoma blight (Dry rot) of the planting material – the dangerous infectious disease, caused by fungi of the Phoma genus (Ascomycetes), affects mainly in forest nurseries seedlings of Pinus and Picea. With a view to improve the methods of molecular-phytopathological monitoring is necessary to develop a set of genetic markers for early diagnosis of the disease. As a result, primary data obtained by 5,7 million (840 MBp) paired-quality readings of Phoma sp.1 genome, while about 4% of the sequences are highly repetitive. On the basis of the identified sequences of repetitive DNA regions, taxonomic analysis of Phoma sp. 1 and other phytopathogenic ascomycetic fungi was carried out.

Статья поступила в редколлегию 12.03.2015 г.

