

УДК 577.212:632.4

Л.О. Иващенко, стажер мл. науч. сотр., магистрант (БГТУ, г. Минск);

О.Ю. Баранов, д-р биол. наук, зав. лаб.;

С.В. Пантелеев, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.

(Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель);

Г.Б. Колганихина, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. (Институт лесоведения

РАН, Московская обл., н.п. Успенское, Российская Федерация);

А.А. Сазонов, канд. биол. наук (РУП «Белгослес», БГТУ, г. Минск);

М.О. Романенко, канд. с.-х. наук, ст. преп.;

В.А. Ярмолевич, канд. биол. наук, декан ЛХ факультета

(БГТУ, г. Минск)

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕТАГЕНОМОВ МИКОМОВ НАСЕКОМЫХ-ФИТОФАГОВ ЛИСТВЕННЫХ ПОРОД БЕЛАРУСИ

Грибные заболевания являются одним из ведущих негативных биотических факторов, определяющих снижение продуктивности и устойчивости лесных древесных растений на различных стадиях их развития. Как правило, в растениях с симптомами инфекционных заболеваний диагностируются не отдельные виды патогенов, а выявляются их комплексы [1]. При этом, структура патобиомов в значительной степени зависит не только от типа болезни и видовой принадлежности растения-хозяина, но и от стадии развития патологического процесса. Одними из менее изученных стадий патогенеза, являются процессы инфицирования, связанные с проникновением возбудителей заболеваний через систему защиты в живые ткани растительных организмов. Этому может способствовать действие как различных абиотических факторов, приводящих к нарушению механических барьеров или отрицательно влияющих на формирование защитных реакций, так и широким спектром насекомых-фитофагов, осуществляющих перенос патогенов от больных растений к здоровым, или вызывающих нарушение покровных тканей, что также обуславливает проникновение возбудителей фитозаболеваний извне [2].

Изучение микомов (микобиомов) насекомых-фитофагов позволяет установить их ассоциацию с теми или иными видами фитопатогенов, а также определить механизмы передачи заболеваний, что позволяет оптимизировать протоколы проведения санитарно-профилактических и защитных мероприятий [3].

Исходя из всего вышесказанного, целью данной работы явилось изучение микомов насекомых-фитофагов лиственных пород Беларуси, на основании использования метагеномного анализа.

Объектами исследования явились различные виды насекомых-фитофагов (отрядов Полужесткокрылые (Hemiptera), Чешуекрылые (Lepidoptera), Жесткокрылые (жуки) (Coleoptera)) лиственных пород (дуба черешчатого, ольхи черной, осины, березы повислой), собранных в лесных насаждениях лесхозов Минского и Гомельского ГПЛХО. Предметом исследований явилась структура метагеномов микомов насекомых-фитофагов.

Получение препаратов суммарной ДНК производилось из целостных образцов насекомых, без разделения на экзогенный и эндогенный миком. В качестве маркерного локуса для проведения метагеномного анализа микомы был использован внутренний транскрибируемый спейсер ITS1 рДНК. Полимеразную цепную реакцию осуществляли с применением набора ArtMix Форез (2X) (АртБиоТех, Беларусь) дополненного праймерами ITS1F и ITS2, последний из которых был мечен флуоресцентным красителем FAM. Фрагментный анализ ампликонов ITS1 микромицетов осуществлялись на базе генетического анализатора Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколов фирмы-производителя. Интерпретация получаемых данных выполнялась с использованием программного обеспечения GeneMapper v. 4.1 (Thermo Fisher Scientific, США). Обозначение видов микромицетов при проведении метагеномного анализа производилось на основании использования значения молекулярного размера соответствующего им маркерного региона ITS1. Доминирующие (по удельному содержанию в электрофоретическом спектре) варианты ампликонов были секвенированы и проанализированы в базе данных NCBI GenBank (Национальный центр биотехнологической информации, США) для установления видовой принадлежности микромицетов.

В ходе проведенного молекулярно-генетического анализа были описаны структуры метагеномов микомов изученных образцов насекомых-фитофагов. Среди основных параметров, характеризующих особенности структуры метагеномов явились: видовой состав микромицетов, частота представленности тех или иных видов микромицетов в метагеноме, индексы видовой разнообразия, степень ассоциации определенных видов микромицетов с насекомым-фитофагом.

В ходе оценки видовой разнообразия микомов было установлено, что данный параметр варьирует в широкой степени для различных насекомых. Так, число выявляемых оперативных таксономических единиц микромицетов (с долевым участием $\geq 1\%$) изменялось от 2 до 22, составляя в среднем 9,86. В то же время, в случае нередких видов (с долевым участием $\geq 5\%$), значение данного параметра было не-

сколько ниже и колебалось в пределах от 1 до 10, при средней величине 5,43. Наиболее представленные виды (долевое участие в метагеноме $\geq 10\%$) могли доминировать в спектрах или образовывать сообщества до 6 оперативных таксономических единиц.

В целом, наибольшим уровнем видовой разнообразия характеризовались микомы представителей отряда жесткокрылые, что может быть объяснено их повышенным уровнем мобильности и биологическими особенностями формирования имаго. В то же время, детальный анализ микомы жесткокрылых показал, что их видовое разнообразие главным образом определяется за счет микомицетов с низкой частотой встречаемости, и распространяющихся, по всей видимости, неспецифическим путем.

В то же время, на основании результатов корреляционного анализа, установлено, что ряд видов микромицетов приурочен как к тому или иному таксону Insecta, так и древесной породе на которой он встречался. Так, например, у насекомых, собранных с симптоматичных деревьев дуба черешчатого, зачастую выявлялись следующие идентифицированные микромицеты: *Filobasidium wieringae*, *Phoma* sp., *Cladosporium* sp., *Geosmithia pallida*, *Phomopsis* sp., *Bjerkandera adusta*, *Ophiostoma* sp.

Кроме того, при детальном рассмотрении структуры микомов отдельных видов фитофагов, были выявлены определенные закономерности в формировании сообществ микромицетов, при которых замещение одних доминирующих видов происходило только за счет определенных других таксонов.

Исследование выполнено при поддержке гранта БРФФИ Б20Р-175.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федоров, Н. И. Лесная фитопатология: учебник для вузов / Н. И. Федоров. – Минск: БГТУ, 2004. – 462 с.
2. Черпаков В. В. Дендрофильные насекомые-переносчики и симбионты возбудителей болезней древесных растений // VII Чтения памяти ОА Катаева. Вредители и болезни древесных растений России. – 2013. – С. 97–98.
3. Linnakoski R. et al. Fungi, including *Ophiostoma karelicum* sp. nov., associated with *Scolytus ratzeburgi* infesting birch in Finland and Russia // Mycological Research. – 2008. – Т. 112. – №. 12. – P. 1475–1488.