

С. В. Пантелеев¹, И. А. Хархасова¹, А. В. Константинов¹, М. Я. Острикова¹,
Л. О. Иващенко², В. А. Ярмолович², О. Ю. Баранов¹

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОРИЗООБРАЗУЮЩЕЙ МИКРОФЛОРЫ СОСНЫ И ЕЛИ В ЛЕСНЫХ ПИТОМНИКАХ И КУЛЬТУРАХ

¹Институт леса НАН Беларуси

Республика Беларусь, 246050, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: pukidesu@gmail.com

²Белорусский государственный технологический университет

Республика Беларусь, 220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13А
e-mail: lyba281997@mail.ru

Экспериментальный растительный материал сосны и ели (корни, 264 образца) был собран в лесных питомниках и культурах 4–6-летнего возраста на территории Корневской, Двинской экспериментальных лесных баз Института леса НАН Беларуси и шести лесхозов Минлесхоза: Речичский опытный, Быховский, Воложинский, Минский лесхозы, Негорельский и Полоцкий учебно-опытные лесхозы.

Для выделения ДНК отбирались корневые окончания размером 1–5 мм и промывались дистиллированной водой. Получение препаратов ДНК осуществлялось с использованием СТАВ-метода (Падутов и др., 2007). Этап нагревания гомогенизированных образцов при температуре 65 °С не проводился во избежание экстракции веществ, ингибирующих ПЦР. ПЦР проводилась с применением набора DreamTaq Green PCR Master Mix (2X) и праймеров ITS1F (5'→3') CTTGGTCAATTTAGAGGAAGTAA / ITS2*FAM (5'→3') GCTGCGTTCTTCATCGATGC (White et al, 1990; Gardes & Bruns, 1993) для амплификации региона ВТС1 грибной рДНК. Фрагментный анализ и секвенирование ампликонов проводились на базе генетического анализатора ABI3500 Applied Biosystems.

В результате анализа секвенированных последовательностей ВТС1 в NCBI BLAST выявлено 24 вида из отдела Basidiomycota, 10 — из отдела Ascomycota, а также 3 гриба, не имеющих таксономического статуса (98–100% сходство по нуклеотидной последовательности ВТС1 с депозитами NCBI — uncultured fungus).

В лесных питомниках на 2-х летних сеянцах сосны и ели доминировали эктомикоризные аскомицеты *Wilcoxina mikolae*, *Wilcoxina* sp. и эндомикоризные грибы *Phialocephala fortinii* и *P. uotiloensis*. *Wilcoxina* sp. — вид, характеризующийся 8% различием с *W. mikolae* по маркерному региону ВТС1. В меньшей степени встречались микоризные грибы *Suillus luteus*, *Tuber maculatum*, *Pustularia* sp. и *Peziza* sp. (MH794939.1). В единичных случаях доминировали ассоциированные с корнями аскомицеты *Tetracladium furcatum*, *Exophiala equina*, *Oidiodendron maius* и 3 неизвестных гриба, один из которых характеризовался идентичностью по ВТС1-локусу с депозитом NCBI MW215033.1, выявленным в лесном питомнике Литвы в ризосфере сеянцев.

В исследованных лесных культурах 4–6-летнего возраста на корнях сосны и ели доминировали микоризные грибы *Amanita rubescens*, *A. citrina*, *Boletus edulis*, *Coprinellus domesticus*, *Elaphomyces granulatus*, *Imleria badia*, *Lactarius tabidus*, *L. glyciosmus*, *L. torminosus*, *L. rufus*, *Russula turci*, *R. vesca*, *Suillus luteus*, *S. bovinus*, *Thelephora terrestris*, *Tuber maculatum*, *Tuber* sp.1 (uncultured), *Tuber* sp.2 (uncultured), *Trechisporales* sp. (описание более низких таксономических рангов отсутствует), *Phialocephala fortinii*, *Tomentella lateritia*, *Tomentella* sp. 1 DK-2015 (KT182920.1), *Tylospora* sp. (uncultured), *T. asterophora*, *Xerocomus ferrugineus*, а также эндофиты *Trichoderma* spp. Данные секвенирования согласованы с электрофоретическими спектрами фрагментного анализа с целью дальнейшей диагностики поливидовой микобиоты корней.