



**Филиал ФБУ «Рослесозащита» – «ЦЗЛ
Воронежской области**

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФИТОПАТОГЕНОВ В ЛЕСНЫХ НАСАЖДЕНИЯХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

***Белякова Н.В.**, инженер 1 категории отдела МЛГР, к.х.н.*

***Воробьева Е.А.**, начальник отдела МЛГР*

***Сиволапов В.А.**, Директор филиала ФБУ «Рослесозащита» - «ЦЗЛ Воронежской области»,
Россия, Воронеж*

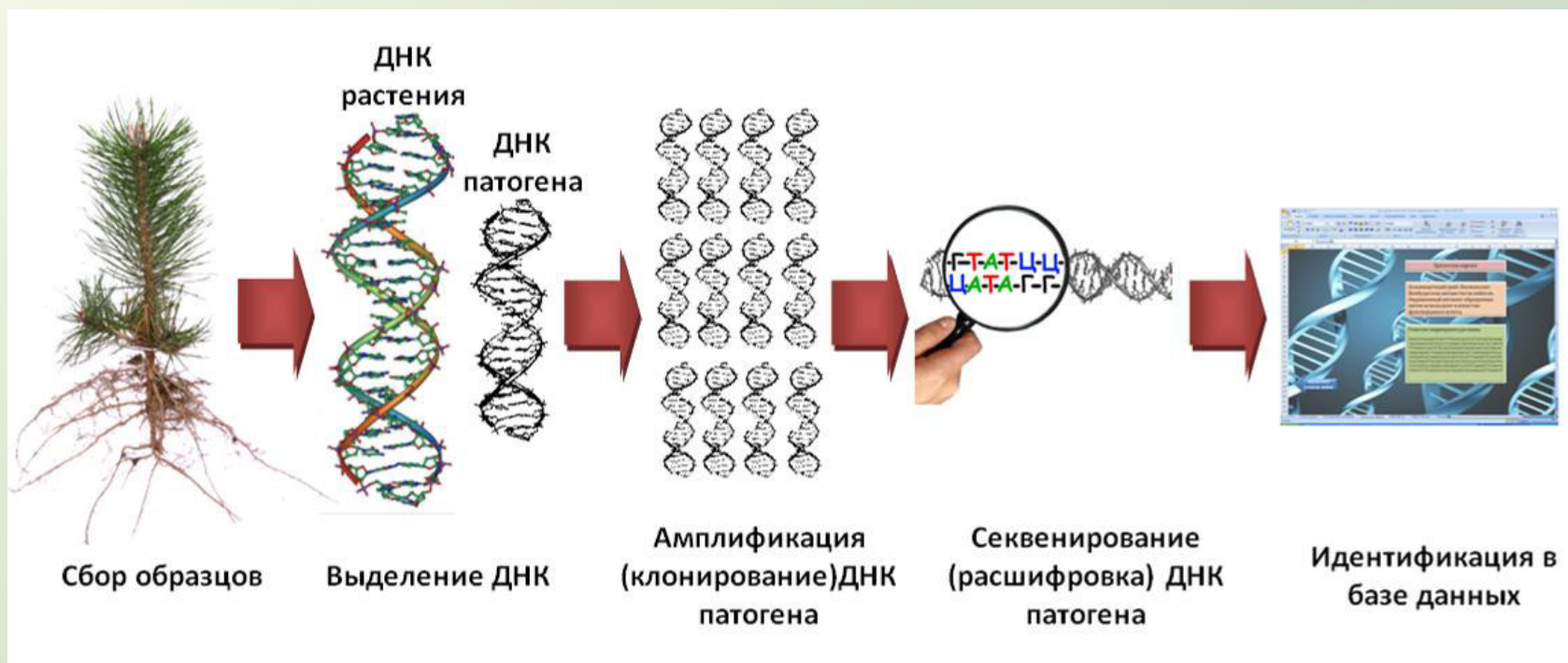


Рисунок 1 – Стадии молекулярно-генетической диагностики патогенов в лесном посадочном материале



Процедура выделения ДНК :

- разрушение клеток
- удаление мембранных липидов
- удаление вторичных метаболитов и запасных веществ
- удаление белков
- удаление РНК
- осаждение ДНК

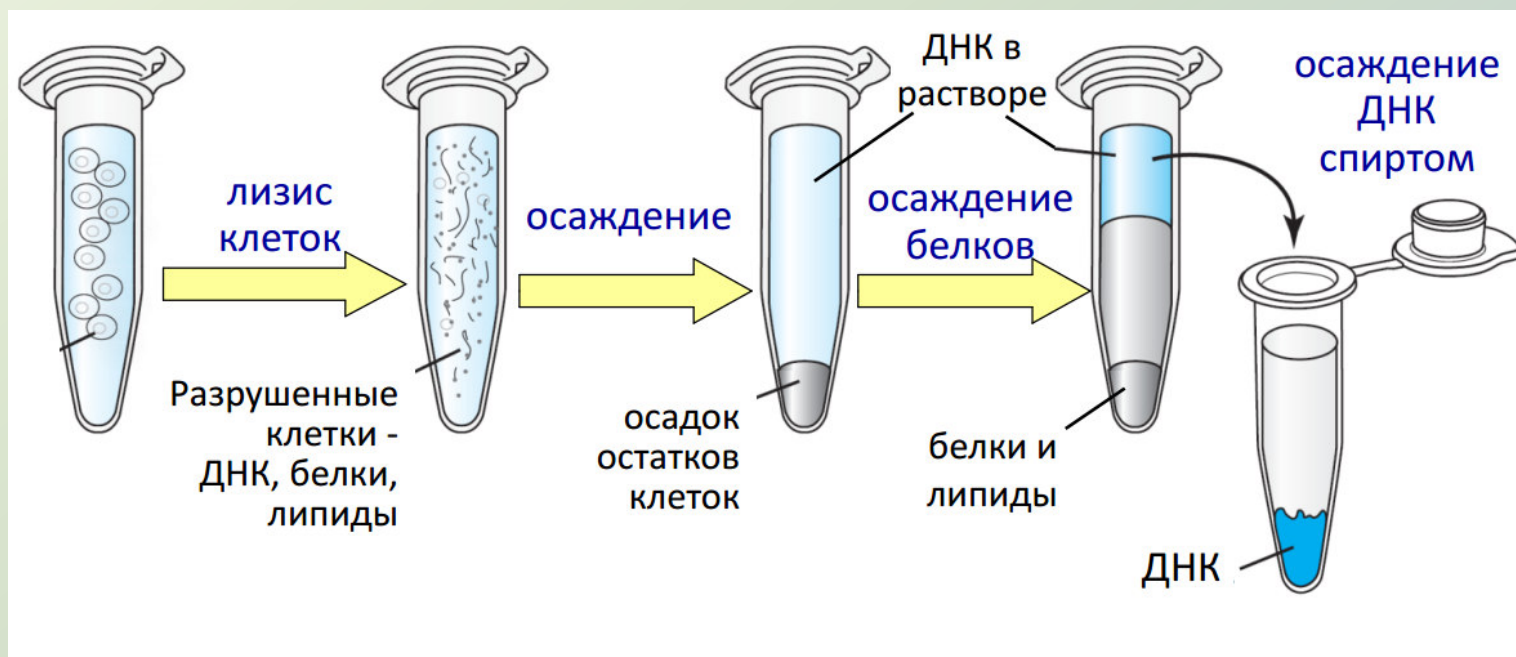


Рисунок 2 – Этапы выделения ДНК из хвои и листьев



Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — метод молекулярной биологии, основанный на многократном избирательном копировании определённого участка (локуса) ДНК (нуклеиновых кислот) при помощи ферментов в лабораторных условиях.

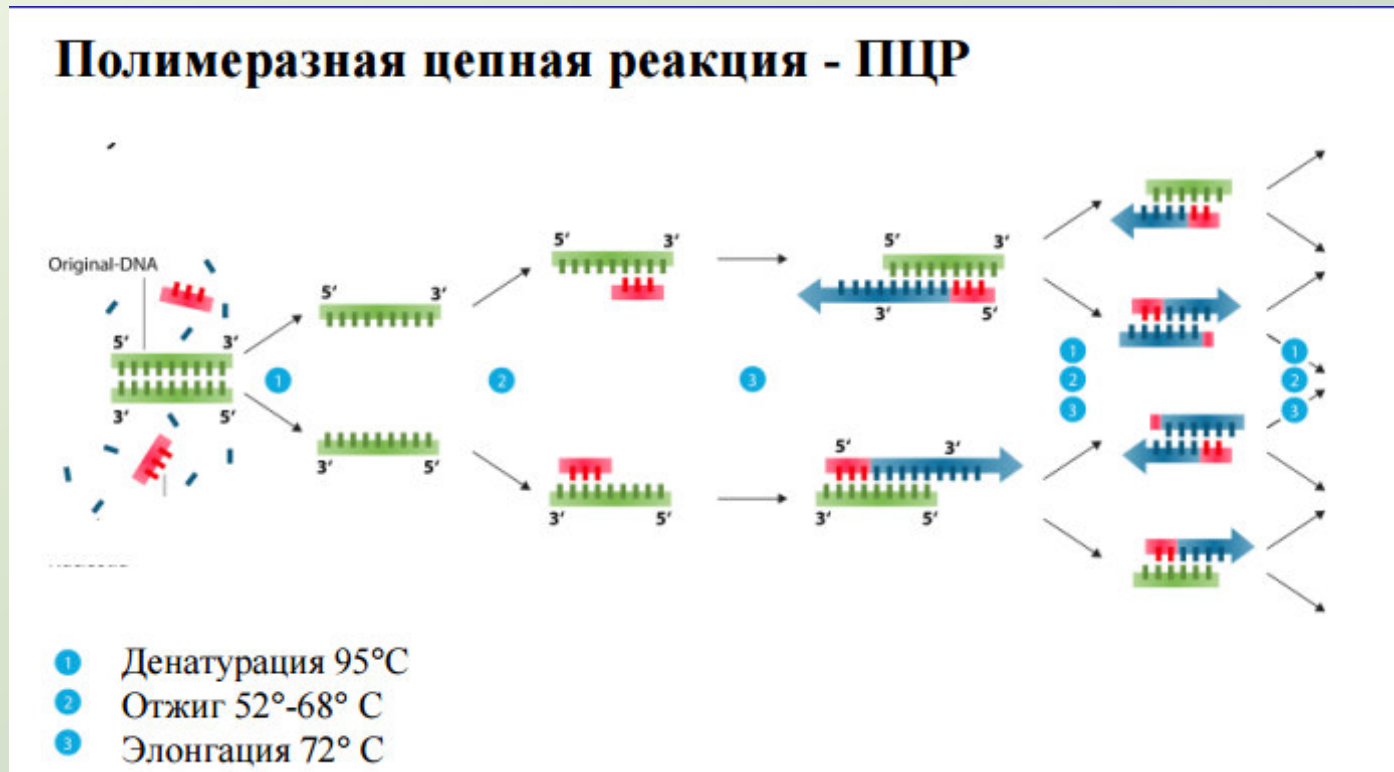
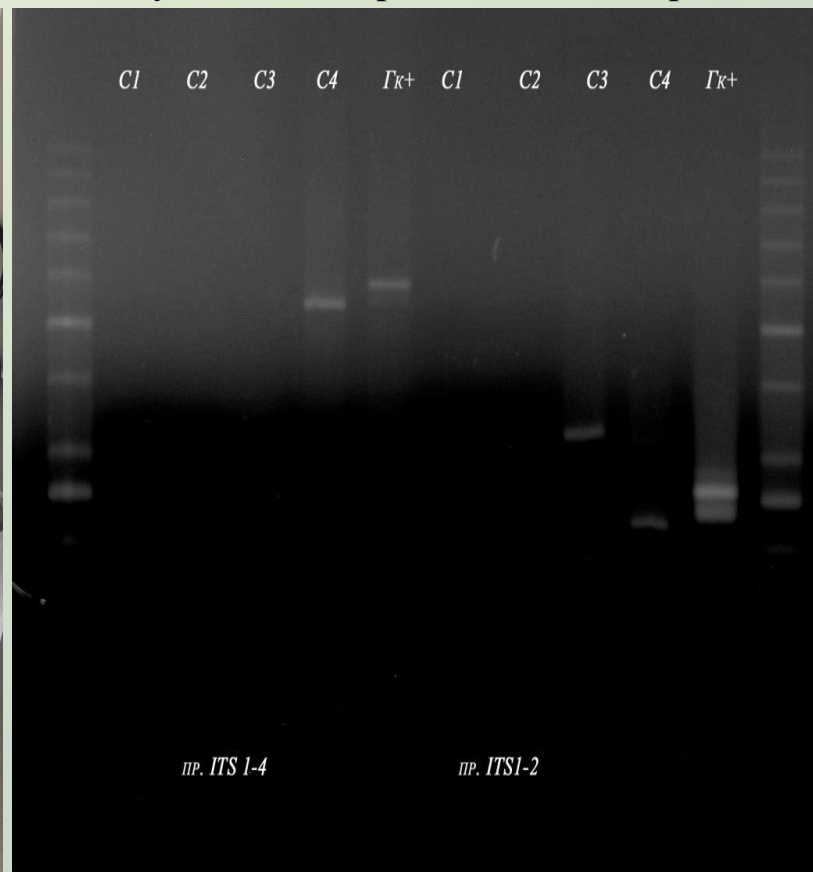


Рисунок 3 – Схема амплификации локуса ДНК



Предварительный анализ продуктов амплификации проводился с помощью электрофоретического фракционирования в 2% агарозном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией трансиллюминаторе.



**Рисунок 4 –а) Электрофорез в агарозном геле
б) Электрофореграмма амплифицированных локусов фитопатогенов
в образцах сосны с использованием праймеров ITS1-ITS4**



Определение нуклеотидной последовательности проводилось с помощью генетического анализатора ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США). Для установления видовой принадлежности выявленных фитопатогенов их нуклеотидная структура была проанализирована с помощью программы BLAST в БД GenBank NCBI.

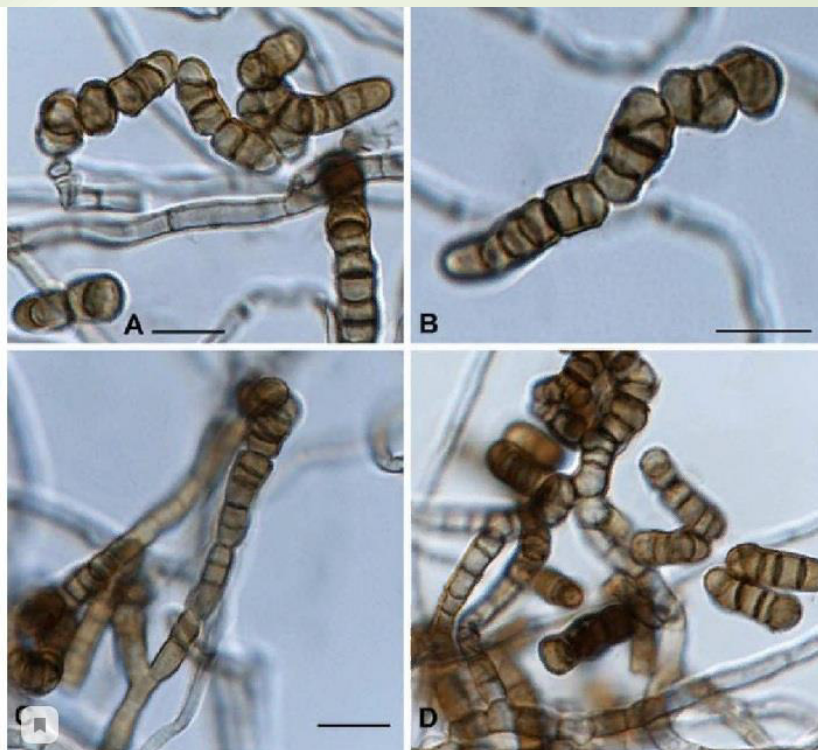


Рисунок 5 – Генетический анализатор нуклеиновых кислот BIOSYSTEMS ABI PRISM 310

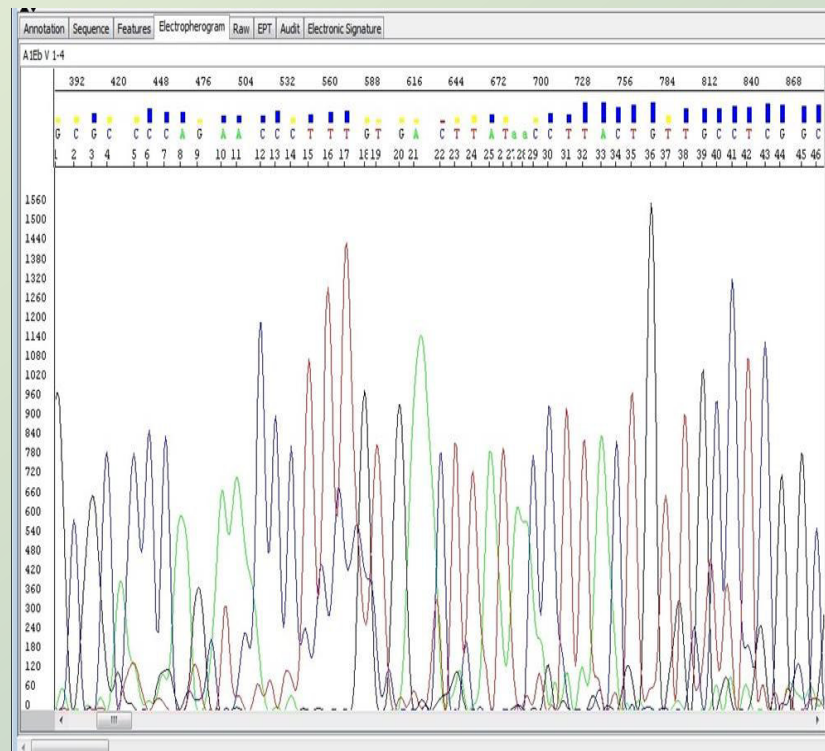


Рисунок 5 – Диплоидоз, вызванный микроскопическим грибом *Sphaeropsis sapinea*

Также в исследуемых образцах были выявлены грибы *Rhizoctonia solani*, *Cladosporium herbarum*, которые поражают в корни и зеленые части растений



а)



б)

Рисунок 6 – а) *Neocatenulostroma* , масштаб 10 μm
б) Сиквенсовый профиль патогена *Neocatenulostroma*



Заключение

Применение методов молекулярно-генетического анализа позволяет с высокой точностью выявить патогенные организмы, поражающие лесные насаждения, на ранней стадии, тем самым предупреждая их распространение.

Данные меры являются более экономически выгодными по сравнению с проведением лесовосстановительных работ на обширной территории лесных плантаций.



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ