

Использование культур *in vitro* для сохранения генетического разнообразия при создании насаждений дуба черешчатого в Беларуси

Кулагин Д.В.*, Константинов А.В., Падутов В.Е.

Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь. *Email: aqua32@mail.ru

Применение методов *ex situ* и *in situ* для сохранения генетического разнообразия является наиболее эффективным при их совместной реализации. Использование результатов селекционного семеноводства для получения побеговых культур *in vitro* и клональное микроразмножение материала различных генотипов с высокими наследственными свойствами позволяет выращивать посадочный материал для создания устойчивых насаждений. Исходным материалом служили побеги двух-трехмесячных сеянцев дуба, которые разрезали на фрагменты размером 5–10 см, промывали 30 минут в 2%-ном растворе «Domestos» и ополаскивали водопроводной водой. Стерилизация в ламинар-боксе включала обработку 70% этиловым спиртом (3 минуты) и 0,1% сулемой (HgCl_2) с добавлением детергента «Твин-20» (6 минут) с трехкратным промыванием стерильной дистиллированной водой. Фрагменты стеблей разделяли на экспланты, содержащие, по крайней мере, один узел и помещали на питательную среду WPM, содержащую 6-BAР в концентрации 0,2–0,5 мг·л⁻¹. Верхушечные и пазушные побеги отделяли от эксплантов по мере развития и субкультивировали на среды аналогичного состава (этап мультипликации). Укоренение проводили на среде ½WPM, дополненной 0,3 мг·л⁻¹ ИВА и 0,1 мг·л⁻¹ NAA. Адаптацию микрорастений осуществляли на торфо-перлитном субстрате (соотношение 3:1 по объёму). Продолжительность пассажа 1 месяц. Общее количество использованных эксплантов во всех сериях опытов – 684 шт. Указанная схема стерилизации обеспечила достаточно низкий уровень микробной контаминации материала, по истечении трёх недель он составил 7,8–22,4%. Доля жизнеспособных эксплантов (с развивающимися почками) составила 74,5–90,2%. Значительное влияние на жизнеспособность вновь образованных побегов оказывали время их отделения от исходных эксплантов и отсутствие признаков некротических процессов на них. Наибольшей приживаемостью отличались микропобеги, прекратившие рост в длину. Средний коэффициент мультипликации составлял 2,2–4,5 в зависимости от генотипа. На этапе укоренения ризогенез наблюдали на 15–75% эксплантов. Формирование корней происходило на 7–25 сутки культивирования. Отмечен интенсивный рост главного корня (до 5–7 см в течение 3–7 дней), приживаемость микрорастений *ex vitro* составляла 80–90%. Таким образом, нами была разработана технология микрклонального размножения ювенильного (происходящего от сеянцев) материала дуба черешчатого и установлены некоторые его морфогенетические особенности на различных этапах культивирования *in vitro*.

Выявление генов, ассоциированных с устойчивостью к фитопатогенным микроорганизмам у проростков сосны обыкновенной, на основании данных высокопроизводительного секвенирования

Можаровская Л.В.

ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Беларусь

*Email: milamozh@yandex.ru

Одним из негативных факторов, оказывающим влияние на морфометрические и физиологические показатели выращиваемых в лесных питомниках сеянцев сосны обыкновенной, являются инфекционные болезни. Исходя из литературных данных,

возбудителями фитозаболеваний, в подавляющем большинстве, выступают грибные организмы (более 96%), реже бактерии и вирусы. Для противодействия патогенной инвазии у растения, в ходе эволюции, была сформирована сложная и многоуровневая система прямых и косвенных защитных механизмов, индуцируемая посредством веществ белковой природы: рецепторных белков, распознающих эффекторные молекулы паразита; белков, связанных с образованием сигнальных молекул; а также белков ассоциированных с процессами патогенеза. Эффективность реализации защитных механизмов во многом определяется способностью растительного организма изменять уровень экспрессионной активности генов, детерминирующих ответные реакции по отношению к фитопатогенным микроорганизмам. Исходя из всего вышесказанного, целью данной работы являлся анализ экспрессионной активности генов ассоциированных с устойчивостью к возбудителям инфекционных заболеваний семян сосны обыкновенной. Объектом исследований являлись проростки сосны обыкновенной ($n=14$), выращенные в лабораторных условиях при температуре воздуха 22 °C и фотопериоде 10 ч в течение 14 суток. Препараты мРНК получали из корня и гипокотыля проростков *P. sylvestris*. Высокопроизводительное секвенирование препаратов двухцепочечной кДНК выполнялось на полногеномном анализаторе Ion PGM Torrent (Thermo Scientific, США). В результате проведенного высокопроизводительного секвенирования транскриптов проростков сосны обыкновенной были отобраны EST-маркеры, характеризующиеся наибольшим уровнем экспрессионной активности. Последующий анализ полученных результатов в базе данных GenBank NCBI позволил идентифицировать в транскриптоме семейства генов, ассоциированных с устойчивостью к фитопатогенным микроорганизмам: гликозилгидролазы (GH19), белков теплового шока Hsp70 и Hsp90, антимикробных полипептидов (AMP), кальций-связывающих белков (CBP); ингибиторов альфа-амилазы, липид-транспортирующих белков, запасных белков семян (AAI-LTSS). Также, были идентифицированы два EST-маркера с неустановленной функцией, характеризующиеся высоким уровнем сходства с последовательностями ранее описанных генов устойчивости PsACRE и полипептидов, обладающих антигрибковой активностью (SS/AF). На основе полученных данных разработан набор праймеров для проведения скрининга экспрессии локусов, ассоциированных с устойчивостью к инфекционным заболеваниям семян сосны обыкновенной.

Разработка метода анализа системы скрещивания на лесосеменных плантациях второго порядка сосны обыкновенной

Падутов А.В.*, Падутов В.Е.

ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Беларусь. *Email: apadutov@yandex.by
При разработке и осуществлении комплексных программ по сохранению и воспроизводству лесных ресурсов с использованием в качестве лесосеменной базы клоновых лесосеменных плантаций (ЛСП), необходимым условием является наличие информации о генетических и селекционных параметрах семенного материала, получаемого на данных объектах. Это связано как с необходимостью введения генетического мониторинга на начальных этапах мероприятий по лесовосстановлению с целью формирования генетической структуры насаждений, в наибольшей степени соответствующей актуализированным эколого-климатическим условиям, так и получением и накоплением экспериментальных данных для