

По результатам исследований определено, что наиболее подходящими источниками данных для создания высокоточных цифровых карт являются беспилотная съемка, сетевые ресурсы и данные кадастра (ЗИС Республики Беларусь). Для целей точного земледелия необходимо использовать только высокоточные цифровые карты (разрешение от 4 до 10 см/пиксель; точности позиционирования 5–10 см как по вертикали, так и по горизонтали).

1. Точное сельское хозяйство / Е.В. Труфляк, Н. Ю. Курченко, А.А. Тенеков [и др.]; под редакцией Е. В. Труфляк. – 4-е изд., стер. – Санкт-Петербург: Лань, 2024. – 512 с. – ISBN 978-5-507-49080-6. – Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. – URL: <https://e.lanbook.com/book/370976> (дата обращения: 24.10.2024). – Режим доступа: для авториз. пользователей.

2. Торбенко А.Б. Использование беспилотных комплексов как инструмента мониторинга в сфере природопользования / А.Б. Торбенко, Д.В. Буйко, Д.В. Новиков, А.В. Селезнева // Проблемы природопользования и экологическая ситуация в Европейской России и на сопредельных территориях: Материалы X Междунар. науч. конф. (памяти проф. Петина А.Н.) 24–26 октября 2023 г. – Белгород: Изд-во «ПОЛИТЕРРА», 2023. – С. 217–224.

ПРИМЕНЕНИЕ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Серак З.Д.,

студентка 2 курса ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь

Научный руководитель – Держинский Е.А., канд. биол. наук, доцент

Энтомопатогенные грибы (ЭПГ) – это группа грибов, которые паразитируют на насекомых, вызывая их болезни и гибель. Они являются важными регуляторами численности популяций насекомых и используются в качестве борьбы с вредителями сельского хозяйства, лесного хозяйства и в других областях [1]. Поиск новых приемов контроля численности насекомых-вредителей требует изучения их болезней и паразитов в природе. Одной из ключевых задач подобных исследований представляется определение таксономической принадлежности энтомопатогенных микроорганизмов.

ДНК-штрихкодирование (баркодирование ДНК) – метод молекулярной идентификации, позволяющий по коротким генетическим маркерам в ДНК определять принадлежность организма к определённому таксону в уже существующей классификации, что крайне необходимо при эколого-генетических исследованиях [2; 3]. Определение ЭПГ всегда затруднительно. Методы ДНК-штрихкодирования являются надежным способом, который дает возможность быстро и точно идентифицировать вид ЭПГ.

Цель работы: проанализировать данные научных публикаций и интернет-источников с целью изучения возможности применения ДНК-штрихкодирования для определения ЭПГ.

Материал и методы. Работа основана на теоретическом анализе значительного количества литературных источников информации, которые рассматривают применение ДНК-штрихкодирования для определения таксономической принадлежности грибов. В работе использованы аналитический и сравнительный методы исследований.

Результаты и их обсуждение. ДНК-штрихкодирование особенно актуально для грибов из-за их огромного разнообразия, морфологической простоты и недостаточной изученности систематики. В отличие от животных и растений, митохондриальный ген *cox1* не подходит для грибов. Вместо него основным маркером стал ITS (транскрибируемый спейсерный регион рРНК), фланкированный консервативными генами, что облегчает подбор универсальных праймеров и обеспечивает высокую успешность амплификации. Несмотря на некоторые недостатки, ITS признан главным маркером для ДНК-штрихкодирования грибов Международным Консорциумом по ДНК-штрихкодированию грибов [4].

Обычно при ДНК-штрихкодировании явно или неявно применяют так называемый прямой подход: образцы предварительно сортируют по морфологическим признакам, проводится выделение и секвенирование выбранного маркера и сравнение его последовательности с референсной библиотекой. Успех ДНК-штрихкодирования в наибольшей степени зависит от качества обработки выборки и референсной библиотеки. В наилучшем варианте работа будет выглядеть таким образом: несколько исследовательских лабораторий в разных учреждениях работает над определенной группой. Полученные результаты сверяются, и лишь в случае совпадения результаты принимаются. Все морфологические определения проводятся систематиками, специализирующимися по данной группе организмов, причем в качестве референсных используются и типовые образцы [4].

Метабаркодинг подразумевает проведение ДНК-штрихкодирования не одной особи, а целого сообщества. Для этой цели выделяют суммарную ДНК, содержащую фрагменты ДНК множества видов, амплифицируют ее при помощи универсальных праймеров, секвенируют ее и по полученным данным реконструируют состав сообщества. Примерами применения такого подхода являются, например, исследования сообществ протистов, однако данный метод может детектировать и крупные многоклеточные организмы [4].

Метод NGS для ДНК-штрихкодирования включает в себя этапы выделения ДНК, амплификации маркера с добавлением специфической метки и последующего секвенирования. Эта метка позволяет ассоциировать каждую последовательность с исходным образцом. Хотя стоимость секвенирования достаточно велика, она постепенно снижается, что делает данный подход более привлекательным. Высокие затраты на секвенирование компенсируются низкими трудозатратами, что делает метод выгодным для исследования сотен или тысяч образцов [4]. Главное отличие NGS от секвенирования по Сэнгеру заключается в получении десятков тысяч последовательностей, которые объединяются в одну консенсусную. Это позволяет выявлять гетероплазмы, NUMTs, NUPTs и другие контаминирующие последовательности, что уменьшает количество ошибок и увеличивает объем функциональной информации. В ряде случаев (13–28%) ДНК-штрихкоды были получены из реакций ПЦР, не видимых на электрофореграммах, что подчеркивает преимущество NGS по сравнению с традиционными методами [4].

Заключение. ДНК-штрихкодирование предоставляет более точные и надежные методы идентификации ЭПГ по сравнению с традиционными морфологическими методами, что особенно важно для обеспечения качества биоинсектицидов и исследования биоразнообразия. Метод позволяет быстро и эффективно исследовать разнообразие ЭПГ в разных экосистемах, способствует выявлению новых видов и определению их экологических ниш, что является важным этапом для разработки устойчивых стратегий биологической борьбы с вредителями. Основным и наиболее эффективным маркером для ДНК-штрихкодирования грибов в настоящее время является ITS. Он обеспечивает высокий уровень успешной амплификации и достаточную вариабельность, что позволяет эффективно различать виды.

1. Евлахова, А.А. Энтомопатогенные грибы. Систематика, биология, практическое значение / А.А. Евлахова – Л.: «Наука», 1974. – 260 с.

2. Alhawatem, M. Application of using DNA barcoding genes in identification of fungi species, a review / M. Alhawatem, A. Alqudah, Al Tawaha A.R. // Bioscience research. – 2019. –16(2). – P. 1763–1775.

3. Wilson, J.-J. DNA Barcoding: Bioinformatics Workflows for Beginners / J.-J. Wilson, K.-W. Sing, N. Jaturas // Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology. – 2019. – Vol. 3. – P. 985–995

4. Шадрин, Д. М. ДНК-штрихкодирование: области применения / Д. М. Шадрин // Генетика. – 2021. – Т. 57, № 4. – С. 478–488.