

бонітетів та близькі динамічні тенденції показника. Деревостани II класу бонітету обох ЕОГ у ТЛУ D₂-D₃ переважають у значеннях абсолютної повноти яличники у ТЛУ C₂-C₃.

5. На підставі опрацювання експериментальних даних методом регресійного аналізу, доведено, що загалом найвищими значеннями загального запасу характеризуються яличники I^b класу бонітету усіх ЕОГ обох груп ТЛУ, причому яличники I ЕОГ у ТЛУ D₂-D₃ переважають за значеннями загального запасу яличники II ЕОГ. Загальні запаси для яличників I^b класу бонітету у віці 120 років змінюються від 782 м³·га⁻¹ до 847 м³·га⁻¹. Найнижчими значеннями характеризуються яличники III класу бонітету I ЕОГ у ТЛУ C₂-C₃, які є на рівні 341 м³·га⁻¹.

Література

1. Генсірук С.А. Ліси України / С.А. Генсірук. – К.: Вид-во "Наук. думка", 1992. – 408 с.
2. Гриник Г.Г. Лісівничо-таксаційна характеристика ялицевих деревостанів Українських Карпат з урахуванням особливостей рельєфу / Г.Г. Гриник // Науковий вісник НЛТУ України. – 2011. – Вип. 21.13. – С. 17-28.
3. Гриник Г.Г. Лісівничо-таксаційні особливості та динаміка складу гірських яличників Українських Карпат / Г.Г. Гриник // Науковий вісник НЛТУ України. – 2012. – Вип. 22.4. – С. 12-27.
4. Гриник Г.Г. Експозиційно-орографічні моделі оптимально-продуктивних місцеположень деревостанів ялиці білої в Українських Карпатах / Г.Г. Гриник // Науковий вісник НЛТУ України. – 2012. – Вип. 22.10. – С. 14-19.
5. Гриник Г.Г. Ялиця біла в Українських Карпатах – експозиційно-орографічні моделі оптимально-продуктивних місцеположень деревостанів / Г.Г. Гриник // II Міжнар. наук.-практ. конф. "Стан природних ресурсів, перспективи їх збереження та відтворення", 11-13 жовт. 2012 р.: матер. конф. – Дрогобич, 2012. – С. 49-51.
6. Гриник Г.Г. Статистичне обґрунтування особливостей виокремлення експозиційно-орографічних груп ялицевих деревостанів Українських Карпат / Гриник Г.Г. // Науковий вісник НЛТУ України. – 2015. – Вип. 25.1. – С. 24-31.
7. Орлов М.М. Лесоустройство / М.М. Орлов // Лесное хозяйство, лесопромышленность и топливо. – Т. 1: Элементы лесного хозяйства. – М.: Изд-во Журнала, 1927. – 428 с.

Гриник Г.Г. Динамика основных таксационных показателей пихтовых древостоев разных экспозиционно-орографических групп Украинских Карпат

Разработанные модели роста в высоту и по диаметру, модели динамики относительной и абсолютной полноты древостоев и общих запасов для модальных пихтовых горных древостоев разных классов бонитета адекватно описывают особенности роста в пределах выделенных экспозиционно-орографических групп (ЕОГ) и в типах лесорастительных условий (ТЛУ) C₂-C₃ и D₂-D₃. Коэффициенты уравнений определены с соответствующей точностью. Для пихтовых древостоев максимальными значениями средней высоты древостоев характеризуются древостои I^b класса бонитета обеих групп типов лесорастительных условий (ТЛУ) I и II ЕОГ. Особенности динамики относительной полноты являются аналогичными – максимальные значения показателя отмечены также для древостоев I^b класса бонитета. Максимальные значения остальных таксационных показателей исследуемых древостоев I и II ЕОГ в ТЛУ C₂-C₃ отмечены в древостоях I^a класса бонитета, а в ТЛУ D₂-D₃ – в древостоях I^b класса.

Ключевые слова: горные модальные пихтовые древостои, экспозиционно-орографические группы, таксационные показатели, динамика таксационных показателей.

Hrynyk H.H. The Dynamics of Assessments Indexes of Silver Fir Forest Stands of Different Exposition-Orographic Groups of the Ukrainian Carpathians

The developed patterns of growth according to height and diameter, models of dynamics of relative and absolute stocking forest stands and general supplies for modal silver fir mountain forest stands of different stand quality classes adequately describe the features of

growth within the limits of the selected exposition-orographic groups (EOG) and in type site conditions (TSC) of C₂-C₃ and in to TSC of D₂-D₃. The equalizations coefficients are determined with the proper preciseness. Forest stands of I^b stand quality class of both groups of TSC on I EOG characterize silver fir forest stands the maximal values of forest stands height. Some features of dynamics of relative stocking are analogical – the maximal values of index are marked similarly for forests stands of I^b stand quality class. Maximal values of other assessments indexes of probed forests stands of I and II EOG in to TSC of C₂-C₃ are similarly marked in forest stands of I^a stand quality class, and in to TSC of D₂-D₃ – in forest stands of I^b stand quality class.

Keywords: mountain modal silver fir forest stands, exposition-orographic groups, assessments indexes, dynamics.

УДК 630*232.3

Eng. N.I. Hrunyk; researcher Yu.M. Yusypovych, PhD; senior researcher V.A. Kovaleva, PhD; prof. R.T. Gout, Dr. Sci. – Ukrainian National Forestry University, Lviv

HETEROBASIDION ANNOSUM ROOT ROT INFECTION DEVELOPMENT IN SCOTS PINE AND EVALUATION OF THE EXPRESSION LEVELS OF LIPID TRANSFER PROTEIN AND DEFENSINS IN INFECTED TISSUES

Heterobasidion annosum is a causative agent of the root and butt rot and appears to be one of the most economically important conifer pathogens, which causes havoc in boreal forests at northern hemisphere. Despite biology and genetics of this fungus is well studied, the mechanisms of defense responses and resistance of pine trees are still unclear. Recent advances in transcript profiling and molecular characterization of pathogenicity factors approached us in our understanding of this system. In this study we showed features of the development of pathological process in Scots pine saplings caused with *annosum* root rot at different periods of their growth and changes in expression levels of a lipid transfer protein and defensins by semi QRT-PCR

Keywords: Scots pine, defensin, lipid transfer protein, expression, *annosum* root rot

Introduction. Conifer trees in Ukraine make up 23 % of total forest area, and in Polissya that area is 64.5 % making them very important tree species in Ukrainian forestry [1]. Maintenance of healthy stands is a guarantee of quality forest preservation, but in nature is impossible to reach such state, as a lot of factors are contributed to the forests formation, which positively or either negatively affect the stands quality. Among those factors the disease management is one that can be improved by a human. Thus development of the effective methods of disease management is very important by mean to prevent significant losses in boreal forests.

The root and butt rot caused by *Heterobasidion annosum* is one of the most destructive diseases of conifers in the northern hemisphere [2]. Despite biology and genetics of this fungus are well studied, the mechanisms of defense responses and resistance of pine trees are still unclear. Plant-pathogen interactions are well documented in crops, giving us the knowledge about gene regulation in those systems [3]. Evolutionary gymnosperm and angiosperm are quite distinct groups that separated from each other several hundred million years ago [4]. Despite their separation, main mechanisms and defense strategies towards pathogen invasion in both groups should be conserved [5]. Generally, in woody plants, plant defense mechanisms, comprise preformed and inducible physical and chemical barriers [5]. Preformed barriers are repre-

sented by bark and cuticular waxes and chemical defenses comprise a range of antimicrobial compounds [6]. Recognition of potential pathogen triggers a cascade of biochemical reactions from primary and secondary metabolism [7]. Important place in defense response belongs also to the antimicrobial peptides which directly or indirectly involved in plant protection. Those proteins are widespread through the plant kingdom and are well studied in crops [8, 9]. Recently a lot of attention was attracted to role of those proteins in coniferous trees [10, 11, 12]. As few of them are well characterized in conifers, including Scots pine, functions of the rest remain uncertain. In this study we describe the development of the infection in pine saplings caused by *H. annosum* and evaluate the changes in transcription level of two groups of antimicrobial peptides: Scots pine lipid transfer protein (*PsLTP1*) and defensins (*PsDef1-PsDef4*).

Materials and methods. Sapling inoculation. Experiments were carried out from August 2011 to August 2012 using 3 years old Scots pine seedlings, grown on research field of UNFU Botanical garden. The *H. annosum* strain 1-10 was inoculated into the stem at 8 cm above the ground by cutting a 5mm small bark flap using a scalpel. A small amount of potato-dextrose agar ($5 \times 5 \times 2 \text{ mm}^3$) containing actively growing mycelium was placed underneath the bark flap, pressed firmly against the stem, and sealed with parafilm. The control was made in the same way but without mycelia. Both, control and experimental groups contained 10 seedlings. The infection was monitored in a few time periods: 1 month, half a year and one year after inoculation. After the experiment was over, the samples were collected and the cuts were made from inoculation zone, 2 cm above and 2 cm below the place of contact, to evaluate the development of the infection using light microscopy. The samples were examined at binocular and later the pictures were taken.

semiQRT-PCR. To measure the expression patterns of LTP and defensins, the samples were taken from infected and healthy saplings, as well as from the roots of 80 years old Scots pine trees, healthy and naturally infected. The levels of gene expression were checked on the mRNA level using a PCR technique. mRNA was obtained using modified method of lithium-chloride precipitation by Chang [13]. Primer pairs were picked up according to the sequences recently deposited by us in Gen-Bank: *PsLTP1* (Acc.No. JN980402.1), *PsDef1* (Acc.No. EF455616.1), *PsDef2* (Acc.No. EF455617.1), *PsDef3* (Acc.No. JN980401.1) and *PsDef4* (Acc.No. KJ601732.1). As a control for the reaction, we chose the house-keeping gene *RPL44* (Acc.No. EL342388.1), which also was used for the calculation of the relative values of the expression level. PCR was run for 35 cycles in a thermal cycler using the program: 95°C, 1 min; 54°C, 1 min; 72°C, 1 min. The PCR products were electrophoresized on a 1.5 % agarose gel and visualized with ethidium bromide staining and photographed. Densitometric analysis was run with Software GelProAnalyzed 4.0.

Results. Anatomical response of Scots pine stem tissues to fungus infected inoculation. Development of the pathological process causing inoculation with *H. annosum* at different time points was monitored by cross-sections (Fig.1). One month after inoculation (August-September) was observed formation of cone-like necrotic zones (brown) traced to the pith. The inoculation site was abundantly soaked with resin.

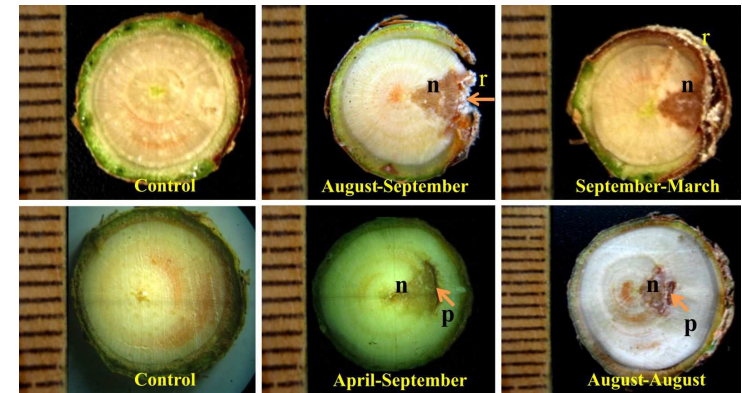


Fig 1. Development of pathological process in the pine stems, infected with *H. annosum* mycelia at different periods. Cross sections of the pine stems infected at different time points and non-infected saplings n) necrotic zone; p) resin pocket; r) resin. Cut thickness 1-1.5 mm (Magnification 32 x. Division 1 = 0.5 mm)

The way of mycelia spreading, depends on the season, in which the pathological process takes place. During inoculation started on April till September, necrotic zone was localized on the pith with cone-like structure and primary sapwood has grown on the place of contact. Due to intensive cambium cells proliferation, the new wood layer with increased number of resin ducts was formed. In turn, this led to pitch-resin pocket formation, filled with resin inhibiting the spreading of mycelia into primary wood of current year. On pine seedlings crosscuts, where infection was developed at dormancy period, (end of September – March) extensive resin production was observed on damage areas as well as formation of a cone-like necrotic zone from bark to pith. In case, when infection was developed during a year starting from August, necrotic zone reached the pith stem and spread in wood of previous year. On the edge of annual rings the resin pocket was formed and dark pigmented spots appeared in the wood. Due to intensive proliferation of the cambium, the layer of sapwood with increased quantity of the resinoids filled with resin was formed, restricting the spreading of the mycelium onto the wood of the current year. In the sapwood of control plants, which were only wounded, formation of resinoids wasn't detected.

Analysis of the pathological process development in various seedlings showed variability in the resistance degree towards pathogenic fungi. On the Fig 2 is illustrated that the less resistant sapling (A1-A3) didn't have well-defined necrotic cone, its tissue accumulated a large amount of the resin and formed brown spots at some distance from inoculation point. On the contrary, the more resistant sapling (B1-B3) formed a clear conical area bounded by the core rays. No pigmented areas were observed at a distance of 2 cm.

AMP gene expression. During infection process was investigated the expression pattern of two groups of antimicrobial peptides, which supposedly are involved with plant defense reactions – lipid transfer protein and defensins, the last one included 4 genes (*PsDef1*, *PsDef2*, *PsDef3* and *PsDef4*). To measure the changes in the expression pattern of defensins in three years old pine saplings infected with *anno-*

sum root rot, the total RNA was extracted from the radial cuts of control and experimental samples, 5 of each. Infection in the stem has evolved over a month. Results are presented on a Fig.3.

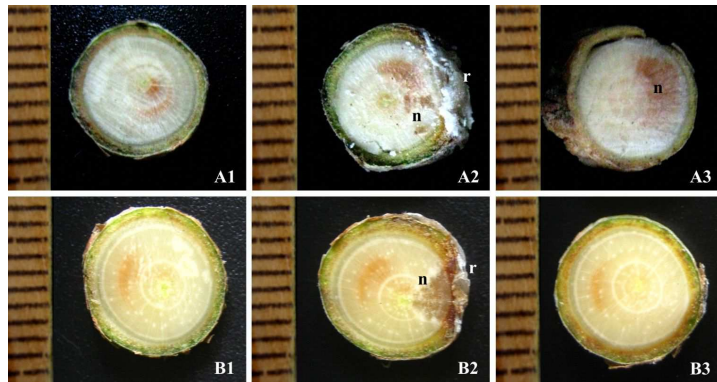


Fig 2. Spreading of the root rot mycelium in the stem of 3 years old pine sapling one month post inoculation. A and B – independent samples. A1, B1 – stem cross-cuts made 2 cm above the inoculation zone; A2, B2 – stem cross-cuts from the inoculation zone; A3, B3 – stem cross-cuts made 2 cm below the inoculation zone (n – necrotic zone, r – resin)

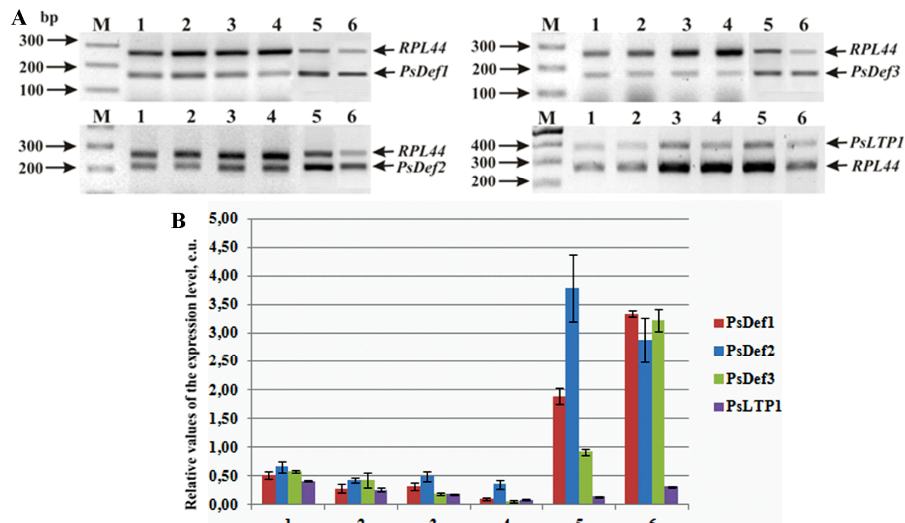


Fig.3. Analysis of PsLTP1 and defensins expression in the Scots pine tissues of saplings (1-4) and adult trees (5, 6). A) electrophoregram of the RT-PCR products obtained from RNA of 3 years old pine saplings inoculated with mycelia of *H. annosum* (2) from the zone of inoculation and 4- 2 cm above), and the control saplings inoculated without mycelium (1) from the zone of inoculation and 3-2 cm above); 5-6) expression patterns of samples obtained from roots of 80 years old Scots pine healthy trees (5) and naturally infected with root sponge (6). M) GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas). Right arrows indicate the PCR-products: PsLTP1, PsDef1, PsDef2, PsDef3 and "house-keeping" gene RPL44. B) the values of the expression level of PsLTP1 calculated relative to RPL44.

On the figure 3 is pointed out that expression levels of all investigated genes in control samples from the zone of inoculation and above the damage area show different expression patterns. In inoculation site was observed decreasing of the expression level of *PsLTP1* by 63 % compared to the corresponding control sample. The similar pattern was followed by defensins: the levels of *PsDef1*, *PsDef2* and *PsDef3* transcripts in the infected stems were significantly lower than in control sample. When measurements were taken above the inoculation area, the expression levels of *PsLTP1*, *PsDef1*, *PsDef3* were 2.3-, 2.9-, 2.7-times lower respectively, while compared with control. *PsDef2* transcripts level was on 70 % lower in sapwood of infected saplings than in corresponding control sample. Totally opposite results was obtained while checking the expression levels of *PsLTP1* and *PsDef* in roots of 80 years old pine. Three of four genes showed strong overexpression: levels of *PsLTP1*, *PsDef1* and *PsDef3* transcripts were 2.2, 1.8 and 3.5 times higher in infected organs in comparison with non infected. As for *PsDef2*, the expression level in the root superficial parts of infected trees was lower by 75 % comparing with control. Besides defensin genes mentioned above, semi QRT-PCR was run also for another gene *PsDef4*, for which the same set of experiments was performed but no transcripts of this gene were present in examined plants.

Discussion. In wood trees the first line of defense towards different pathogens is presented by bark. Mechanical barrier of the strong lignified walls together with chemical properties of the phenolic compounds create multifunctional blockage for pathogens. But even tiny lesions on the bark can serve as a doorway for infection, especially if the last one is caused by aggressive decaying fungi such as root sponge, which appears to be very invasive wood destroyer. As we know, the spreading rate of the infection depends on many factors: stand type and history, forest composition, soil properties, including pH and the temperature [16]. As known the infection process in pine caused by *annosum* root rot is well documented we decide to use that knowledge in our study. Using pure mycelia of the pathogen and applying it under the bark, we monitored the development of the pathologic process in young pine saplings. Previously Skipars used the method of the inoculation under the bark to estimate the resistance of individual adult trees to the *annosum* root rot. Mean length of the pigmented areas, above and below the inoculation zone, which developed in the phloem 30-40 days after inoculation, served as a criterion for estimation of plant resistance [17]. Our investigation show, that to measure resistance rate of the individual stands, it is necessary to estimate the spreading of the sponge rot not only on the vertical but also on the horizontal planes, as different tissues have different resistance rates.

Since infected samples were grown at the same edaphic conditions, equal in age and by morphometric criteria, and infected in the same way, obtained results show different resistance rates in each individual case towards *annosum* root rot. This can be explained by the differences in their genotypes, either it depends on physiology of each individual plant. Defense mechanism is very complex, so for it proper functioning well coordinated work of each link is a necessity.

At artificial infection, all protective mechanical barriers were destroyed, so the rest of the defense were passed to next level of the protection, in particular to the antimicrobial compounds involved in secondary metabolism, which are synthesized

due to the activation of the specific genes expression [18]. Using transcriptomic analysis was shown that plant infection is followed with both over- and down regulation of a variety of genes involved into many key processes in plant physiology. Up-regulation revealed for genes involved into oxidative processes and in secondary metabolism, including phenylpropanoid pathway and down regulated genes mainly were linked to photosynthesis [19]. Dealing with the infection includes positive as well as negative regulatory mechanisms. Supposedly gene repression is associated with down regulation of non essential activities in cell and mobilization of all resources to deal with the challenge [7].

Defensins and LTP, examined in this study belong to different families of antimicrobial peptides: PR-12 and PR-14 respectively [20, 21]. There are a lot of data available about their role in wide range of cellular activities, including cell signaling, growth, development and plant defense [22, 23]. Previously we revealed that both defensin and LTP extracted from Scots pine seedlings show strong antifungal activity [11]. Thus evaluation of the expression pattern of those genes during advanced stages of *annosum* rot infection was very interesting by mean of finding correlation between genes expression and their possible role in defense. *Annosum* root rot inhibits expression of the *PsDef1*, *PsDef2*, *PsDef3* and *PsLTP* in the sapwood of infected saplings in the place of inoculation as well as 2 cm above the inoculation area, which indicates that mentioned above genes aren't key elements in sapwood defense towards infection. Compared to young pines, in intact roots of adult tree infected with *annosum* rot the expression of *PsDef1*, *PsDef3* and *PsLTP* is very high in contrast to healthy plant. Probably the natural infection in adult pine is hitting the effective defense barriers, but as we don't know the period when infection occurred and how long it was developing, it is hard to say if such high level of AMP transcripts is a result of strong immunity reaction or either the reason lies in the tree genotype.

References

1. Hensiruk S.A. Forests of Ukraine / S.A. Hensiruk. Lviv: Shenchenko Scientific society, Ukrainian State university of Forestry and Wood Technology. – 2002. – 496 p.
2. Asiegbu F. Conifer Root and Butt Rot Caused by *Heterobasidion Annosum* / F. Asiegbu, A. Adomas, J. Stenlid. // Molecular Plant Pathology. – 2005. – Vol. 6, № 4. – Pp. 395-409.
3. Dangi J. Plant Pathogens and Integrated Defence Responses to Infection / J. Dangi, D. Jones. // Nature. – 2001. – Vol. 411, № 6839. – Pp. 826-833.
4. Chloroplast and nuclear gene sequences indicate late Pennsylvanian time for the last common ancestor of extant seed plants / L. Savard, P. Li, S. Strauss та ін.]. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1994. – Vol. 91, № 11. – Pp. 5163-5167.
5. Pearce R. Antimicrobial defences in the wood of living trees / R. Pearce // New Phytologist. – 1996. – Vol. 132, № 2. – Pp. 203-233.
6. Osbourn A. Preformed Antimicrobial Compounds and Plant Defense against Fungal Attack / A. Osbourn. // The Plant Cell. – 1996. – Vol. 8, № 10. – Pp. 1821-1831.
7. Somssich I. Pathogen defence in plants – a paradigm of biological complexity / I. Somssich, K. Hahlbrock. // Trends in Plant Science. – 1998. – Vol. 3, № 3. – Pp. 86-90.
8. Marion D. Plant lipid binding proteins: properties and applications / D. Marion, B. Bakan, K. Elmorjani. // Biotechnol Adv. – 2007. – Vol. 25, № 2. – Pp. 195-197.
9. Thomma B. Plant defensins / B. Thomma, B. Cammue, K. Thevissen. // Planta. – 2002. – Vol. 216, № 2. – Pp. 193-202.
10. The putative gymnosperm plant defensin polypeptide (SPII) accumulates after seed germination, is not readily released, and the SPII levels are reduced in *Pythium dimorphum*-infected spruce roots / Fossdal, N. Nagy, P. Sharma, A. Lönneborg. // Plant Molecular Biology Reporter. – 2003. – № 52. – Pp. 291-302.

11. Purification and molecular cloning of antimicrobial peptides from Scots pine seedlings / V. Kovaleva, R. Kiyamova, R. Cramer та ін.]. // Peptides. – 2009. – № 30. – Pp. 2136-2143.
12. Kovaleva V. Production of recombinant Scots pine defensin 1 and characterization of its antifungal activity / V. Kovaleva, R. Gout, I. Gout // Biopolymers and cell. – 2008. – Vol. 24, № 5. – Pp. 377-384.
13. Chang S. A Simple and Efficient Method for Isolating Rna from Pine Trees / S. Chang, J. Puryear, J. Cairney. // Plant Molecular Biology Reporter. – 1993. – Vol. 11, № 2. – Pp. 113-116.
14. Hrunyk N. Patterns of expression of lipid-transfer protein gene in organs of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) / N. Hrunyk, V. Kovaleva, R. Gout. // Studia Biologica. – 2012. – Vol. 6, № 2. – Pp. 151-160.
15. The effect of phytohormones on expression of defensin gene in Scots pine / Y. Shalovylo, Y. Yusyovych, V. Kovaleva, R. Gout. // Studia Biologica. – 2015. – Vol. 9, № 1. – Pp. 15-24.
16. Stenlid J. Controlling and predicting the spread of *Heterobasidion annosum* from infected stumps and trees of picea abies / J. Stenlid. // Scandinavian Journal of Forest Research. – 1987. – Vol. 2, № 1. – Pp. 187-198.
17. Šķipars V. Metodikas aprobācija *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. izraisītās pigmentācijas novērtēšanai parastās priedes koksnē / V. Šķipars, T. Gaitnieks, D. Ruņģis. // Mežzinātne. – 2011. – Vol. 24, № 57. – Pp. 65-77.
18. Dixon A. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism / A. Dixon, N. Paiva // The Plant Cell. – 1995. – Vol. 7, № 7. – Pp. 1085-1097.
19. Transcript Profiling of a Conifer Pathosystem: Response of *Pinus Sylvestris* Root Tissues to Pathogen (*Heterobasidion Annosum*) Invasion / A. Adomas, G. Heller, G. Li та ін.]. // Tree Physiology. – 2007. – № 27. – Pp. 1441-1458.
20. Kader J. Lipid transfer proteins in plants / J.C. Kader // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1996. – № 47. – Pp. 627-654.
21. Primary structure and inhibition of protein synthesis in eukaryotic cell-free system of a novel thionin, gamma-hordothionin, from barley endosperm / E. Mendez, A. Moreno, F. Colilla та ін.]. // Eur J Biochem. – 1990. – Vol. 194, № 2. – Pp. 533-539.
22. Stotz H. A defensin from tomato with dual function in defense and development / H. Stotz, B. Spence, W. Wang. // Plant Mol Biol. – 2009. – Vol. 71, № 1. – Pp. 131-143.
23. A putative lipid transfer protein involved in systemic resistance signalling in *Arabidopsis* / A. Maldonado, P. Doerner, R. Dixon та ін.]. // Nature. – 2002. – Vol. 419, № 6905. – Pp. 399-403.

Груник Н.І., Юсипович Ю.М., Ковальова В.А., Гум Р.Т. Розвиток кореневої гнилі та оцінювання рівнів експресії ліпідтрансферного протеїну та дефензинів у сосни звичайної під впливом *Heterobasidion annosum*

Збудник кореневої та комлевої гнилизни – *Heterobasidion annosum* – є одним із найнебезпечніших патогенів хвойних порід, який спричиняє масове висихання бореальних лісів у північній півкулі. Незважаючи на те, що біологію та генетику цього гриба вивчено достатньо добре, механізми захисту та стійкості соснових дерев залишаються нез'ясованими. Останні досягнення у вивченні транскриптому системи коренева губка-сосна та молекулярній характеристиці факторів патогенності наблизили нас до розуміння цієї патосистеми. Досліджено особливості розвитку патологічного процесу в сіянцях сосни звичайної, інфікованих кореневою губкою у різні періоди їхнього росту, а також, за допомогою напівкількісної ЗТ-ПЛІР, встановлено профілі експресії ліпідтрансферного протеїну та дефензинів у здорових та інфікованих рослин.

Ключові слова: сосна звичайна, дефензин, ліпідтрансферний протеїн, експресія, коренева гнилизна.

Груник Н.И., Юсипович Ю.М., Ковалева В.А., Гум Р.Т. Развитие корневой гнили и оценка уровней экспрессии липидтрансферного протеина и дефензинов у сосны обыкновенной под влиянием *Heterobasidion annosum*

Возбудитель корневой и комлевой гнилей – *Heterobasidion annosum* – является одним из наиболее опасных патогенов хвойных пород, который вызывает массовое усыхание бореальных лесов в северном полушарии. Несмотря на то, что биология и генетика этого гриба изучены достаточно хорошо, механизмы защиты и стойкости сосновых деревьев остаются невыясненными. Последние достижения в изучении транскриптома системы корневая губка-сосна и молекулярной характеристике факторов патогенности наблизили нас к пониманию этой патосистемы. Изучены особенности развития пато-

логического процесса в сеянцах сосны обыкновенной, инфицированных корневой губкой в разные периоды их роста, а также установлены профили экспрессии липидпереносящего белка и дефензинов у здоровых и инфицированных растений с помощью полуквантитативной ОТ-ПЦР

Ключевые слова: сосна обыкновенная, дефензин, липидпереносящий белок, экспрессия, корневая гниль.

УДК 630.284.2 Доц. Л.С. Осадчук, д-р с.-г. наук – НЛТУ України, м. Львів

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ МІКРОПОРАНЕННЯ ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ СМОЛОПРОДУКТИВНОСТІ ДЕРЕВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ

Виявлено пряmlinійний достовірний сильної тісноти зв'язок між виходом живиці з мікропоранення та з каропідновки. Визначення смолопродуктивності методом мікропоранення дає змогу встановити категорію смолопродуктивності дерев, а через рівняння залежності оцінювати смолопродуктивність окремих дерев та їх сукупності з достатнім ступенем точності. Практично всі дерева, що належать до певної категорії смолопродуктивності за виходом живиці, потрапляють в ту ж категорію і за мікропораненням. Помилки в розподілі виявлено у 8 % дерев низької, 68 % середньої та 5 % високої категорій смолопродуктивності, які за виходом живиці переважно знаходяться на межі сусідньої категорії.

Ключові слова: метод мікропоранення, смолопродуктивність, сосна звичайна.

Вступ. Світове виробництво каніфолі та скипидару та ринки їх збуту на сьогодні пов'язані з Китаєм, який є найбільшим у світі виробником, споживачем й експортером продуктів підсочного виробництва – це приблизно 70 % від світового виробництва. На сьогодні зростає попит у світі і в Європі на екологічно чисті продукти з живиці, зокрема, у виробництві біопалива, у медицині, у харчовій промисловості та парфумерії, що веде до стимуляції виробництва у цій галузі загалом [8-11]. Позитивним фактором є також нові розробки з механізації та системи заготівлі живиці з метою підтримки і розширення цього виробництва [4, 12, 13].

Потенційні можливості підсочки хвойних насаджень України, передусім у соснових лісах, є значними. Одним із можливих і економічно виправданих напрямків подальшого удосконалення заготівлі соснової живиці, пониження її собівартості та росту продуктивності праці під час її заготівлі є відбір високосмолопродуктивних дерев [3, 7].

Матеріали і методика досліджень. Для досягнення достатньої точності дослідів проведено порівняння смолопродуктивності у 100 дерев. На одній стороні стовбура смолопродуктивність визначали за звичайної підсочки з каропідновки за кількістю живиці у приймачі [5]. Смолопродуктивність на одну каропідновку визначено за 10 обходів з паузою 3,5 днів і кроком підновки 12 мм. Вихід живиці вираховували індивідуально в кожного дерева з точністю до 1 г. Пізніше розраховували коефіцієнти смолопродуктивності для кожного дерева. На іншій стороні стовбура для визначення смолопродуктивності застосовували метод мікропоранення: на висоті 1,3 м спеціальним свердлом наносили поранення глибиною і діаметром у деревині 5 мм. Вихід живиці методом мікропоранення встановлювали за добу, вимірюючи довжину трубки, заповненої жи-

вицею з точністю до 0,1 см з подальшим переводом у масові одиниці. Отримані дані обробляли за допомогою методів варіаційної статистики.

Результати дослідження. Найприйнятнішим для оцінення біологічної смолопродуктивності сосни звичайної є коефіцієнт смолопродуктивності. Цей показник показує вихід живиці, який зумовлений не тільки фізіологічною функцією деревного організму, але й не залежить від розміру стовбура, технології підсочки й інших кількісних показників. Коефіцієнт смолопродуктивності прийнято визначати як відношення виходу живиці в грамах до діаметра стовбура у сантиметрах [2]. Цей спосіб дає найточніші результати під час визначення смолопродуктивності як окремих дерев, так і насаджень. Однак, у зв'язку з труднощістю, великими затратами часу, потребою в підсочних інструментах та обладнанні і впливом на життєдіяльність дерев, застосування цього методу недоцільне. Менш трудомістким методом визначення смолопродуктивності є метод мікропоранень, який дає змогу визначити лише відносну смолопродуктивність. Однак, коли потрібно провести лише порівняльну характеристику смолопродуктивності досліджуваних дерев, цей метод є найефективнішим. Визначення смолопродуктивності мікропоранень, які здійснюють шляхом свердління отворів або насічок, рекомендують застосовувати для визначення смолопродуктивності й інші автори [1, 2, 6]. При цьому відзначено, що визначення смолопродуктивності дерев методом мікропоранень не чинить негативного впливу на їх життєдіяльність і стан.

Усі дерева за фактичним виходом живиці у варіантах з каропідновки і мікропоранення було поділено на три категорії смолопродуктивності: низької (менше 80 % від середнього у насаджень), середньої (80-120 %) та високої (понад 121 %). Смолопродуктивність дерев сосни звичайної, яка визначена методом мікропоранення, характеризується дещо вищою варіабельністю порівняно із виходом живиці із каропідновки (табл.).

Табл. Статистичні показники виходу живиці з каропідновки та з мікропоранення у дерев різних категорій смолопродуктивності

| Категорія смолопродуктивності | Вихід живиці | | | | | |
|-------------------------------|--------------|---------|--------------|------------------------|---------|--------------|
| | КПД, г | | | мікропоранення, г/добу | | |
| | <i>M</i> | $\pm m$ | <i>V</i> , % | <i>M</i> | $\pm m$ | <i>V</i> , % |
| Низька | 38,22 | 0,80 | 10,43 | 4,33 | 0,19 | 23,30 |
| Середня | 56,39 | 0,85 | 10,96 | 7,45 | 0,11 | 10,49 |
| Висока | 74,20 | 1,66 | 10,50 | 10,44 | 0,28 | 12,63 |

Аналіз отриманих даних показав, що практично всі дерева, які належать до певної категорії смолопродуктивності за виходом живиці, потрапляють в ту ж категорію і за мікропораненням (рис. 1).

Помилки в розподілі виявлено у дерев низької смолопродуктивності на 1,9 %, а у дерев середньої та високої смолопродуктивності – на 3,0 і 1,1 % відповідно. Це становить 7,9 % від кількості дерев з низьким виходом живиці, а з середнім та високим виходом – 5,6 та 4,9 % відповідно, які знаходились на межах категорій. Встановлено, що між виходом живиці з мікропоранення і з каропідновки є достовірний сильної тісноти зв'язок, який, за даними пробних площ, становить $r = 0,88$. За фактичними даними виходу живиці з мікропоранення і вихо-