

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики**

КАЛАЧЕВА
Алина Эдуардовна

**Изучение действия PGPR на активацию защитных
свойств у *Cucumis sativus* L.**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
ассистент О.В. Лагодич

Минск, 2016

РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 67 страниц, 32 рисунка, 11 таблиц, 57 источников.

ИНДУЦИРОВАННАЯ СИСТЕМНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ, ОГУРЦЫ, *LOX* - ГЕНЫ, ЛИПОКСИГЕНАЗА, PGPR, ISR.

Объект исследования: огурец обыкновенный (*Cucumis sativus* L.).

Цель работы: изучение влияния ризосферных бактерий рода *Pseudomonas* и их метаболитов на активацию защитных свойств *Cucumis sativus* L.

Методы исследования: культивирование бактерий, выделение пигментов фенол-хлороформным методом, спектрофотометрия, выделение РНК, электрофорез, обратная транскрипция, ПЦР в реальном времени, ПЦР.

Было показано, что *P. putida* КМБУ 4308 и *P. aurantiaca* В-162 способны колонизировать поверхность корня растений огурца сорта «Нежинский 12» и расти в прикорневой зоне. Концентрация в ризосфере *P. aurantiaca* составляла $5,8 \times 10^9$ КОЕ/г почвы, а *P. putida* $12,2 \times 10^9$ КОЕ/г.

Показано, что внесение в почву ризосферных бактерий *P. putida* КМБУ 4308 и *P. aurantiaca* В-162 и их внеклеточных метаболитов вызывает снижение поражаемости растений *Cucumis sativus* L. при заражении *B. cinerea* Pers, в то время как у необработанных растений на листьях наблюдались светло-бурые сухие пятна, площадь поражения листьев варьировала от 20 до 60%.

Исследование изменения концентрации РБФК и фотосинтетических пигментов у огурца, при обработке ризосферными бактериями и их культуральной жидкостью с последующим заражении фитопатогеном не позволяет установить зависимость между изменениями концентраций хлорофилла а и b, каротиноидов и РБФК у контрольной и экспериментальной групп. Это не позволяет использовать данные показатели в качестве биохимических маркеров ISR.

Создана коллекция препаратов тотальной РНК контрольной и экспериментальной групп (более 250 образцов), пригодной для молекулярно-генетического тестирования для дальнейшего поиска генетических маркеров ISR.

На основании полученных данных был сделан вывод о том, что регионы 514 п.н. – 535 п.н., 1031 п.н. - 1051 п.н. и 563 п.н. – 590 п.н., 1054 п.н. – 1078 п.н. гена-кандидата *LOX 2* используемые в качестве области гомологии при посадке праймеров, не могут выступать в качестве маркеров ISR у *Cucumis sativus* L.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца, 67 старонак, 32 малюнка, 11 табліц, 57 крыніц.

ИНДУКАВАННАЯ СИСТЕМНАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ, АГУРКИ, *LOX* гены, ЛПОКСИГЕНАЗА, PGPR, ISR.

Аб'ект даследавання: агурок звычайны (*Cucumis sativus* L.).

Мэта працы: вывучэнне ўплыў ризосферных бактэрый роду *Pseudomonas* і іх метабалітаў на актывацыю ахоўных уласцівасцяў *Cucumis sativus* L.

Метады даследавання: культываванне бактэрый, вылучэнне пігментаў фенол-хлараформным метадам, спектрафатометры, вылучэнне РНК, электрофарэз, зваротная транскрыпцыя, ПЛР у рэальным часе, ПЛР.

Было паказана, што *P. putida* КМБУ 4308 і *P. aurantiaca* У-162 здольныя каланізаваць паверхню караня раслін агурка гатунку «Нежынскі 12» і расці ў прыкаранёвай зоне. Канцэнтрацыя ў ризасферы *P. aurantiaca* складала $5,8 \times 10^9$ КУА/г глебы, а *P. putida* $12,2 \times 10^9$ КУА/г.

Паказана, што ўнясенне ў глебу ризасферных бактэрый *P. putida* КМБУ 4308 і *P. aurantiaca* У-162 і іх пазаклеткавых метабалітаў выклікае зніжэнне паражальнасць раслін *Cucumis sativus* L. пры заражэнні *B. cinerea* Pers, у той час як у неапрацаваных раслінах на лісцях назіраліся светла-бурыя сухія плямы, плошча паражэння лісця ў вар'іравала ад 20 да 60%.

Даследаванне змены канцэнтрацыі РБФК і фотасінтэтычных пігментаў у агурка, пры апрацоўцы ризасфернымі бактэрыямі і іх культуральнай вадкасцю з наступным заражэннем фітапатагенам не дазваляе ўсталяваць залежнасць паміж зменамі канцэнтрацый хларафіла а і b, караціноідаў і РБФК у кантрольнай і эксперыментальнай груп, што не дазваляе выкарыстоўваць дадзеныя паказчыкі ў якасці біяхімічных маркераў ISR.

Створана калекцыя прэпаратаў татальнай РНК кантрольнай і эксперыментальнай груп (больш за 250 узораў), прыдатнай для малекулярна-генетычнага тэставання для далейшага пошуку генетычных маркераў ISR.

На падставе атрыманых дадзеных быў зроблены вывад аб тым, што рэгіёны 514 п.н. - 535 п.н., 1031 п.н. - 1051 п.н. і 563 п.н. - 590 п.н., 1054 п.н. - 1078 п.н. гена-кандыдата *LOX 2* выкарыстоўваюцца ў якасці вобласці гамолагі пры пасадцы праймер, не могуць выступаць у якасці маркераў ISR у *Cucumis sativus* L.

ABSTRACT

Thesis, 67 pages, 32 figures, 11 tables, 57 sources.

INDUCED SYSTEMIC RESISTANCE, CUCUMBERS, *LOX* genes, LIPXYGENASE, PGPR RHIZOBACTERIA, ISR.

The object of study: cucumber (*Cucumis sativus* L.).

Objective: To study the effect of rhizosphere bacteria of the genus *Pseudomonas* and their metabolites on the activation of the protective properties of *Cucumis sativus* L.

Methods: culturing the bacteria, separation of pigments phenol-chloroform method, spectrophotometry, RNA isolation, electrophoresis, reverse transcription, Real Time-PCR, PCR.

It was shown that *P. putida* KMBU 4308 and *P. aurantiaca* B-162 are able to colonize the surface "Nezhinskii 12" varieties of cucumber plant root and grow in the root zone. *P. aurantiaca* concentration in the rhizosphere was $5,8 \times 10^9$ CFU / g soil, and *P. putida* $12,2 \times 10^9$ CFU / g.

It is shown that the incorporation into the soil rhizosphere bacteria *P. putida* KMBU 4308 and *P. aurantiaca* B-162 and their extracellular metabolites causes decreased susceptibility plant *Cucumis sativus* L. infection with *B. cinerea* Pers, whereas the untreated plants were observed on the leaves of light-burn dry spots, leaf area ranged from 20 to 60%.

Study changes in the concentration of RBPC and photosynthetic pigments in cucumber, in the processing of rhizosphere bacteria and their culture supernatant, followed by infection of phytopathogen not determined the relationship between the changes in chlorophyll concentrations a and b, carotenoids and RBPC in the control and experimental groups, which does not allow the use of these indicators in ISR as biochemical markers.

The collection of preparations of total RNA control and experimental groups (over 250 samples) suitable for molecular genetic testing for further search ISR genetic markers.

It was concluded on the basis of the data that the regions of 514 bp - 535 bp, 1031 bp - 1051 bp and 563 bp - 590 bp, 1054 bp - 1078 bp *LOX 2* gene used as homology regions landing primer can not serve for the role ISR markers in *Cucumis sativus* L.