

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ПАВЛОВЕЦ
Юлиана Юрьевна

АКТИВАЦИЯ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ У *SOLANUM*
***LYCOPERSICUM* L. РИЗОСФЕРНЫМИ БАКТЕРИЯМИ РОДА**
PSEUDOMONAS

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
ассистент О.В. Лагодич

Минск, 2017

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 50 страниц, 8 рисунков, 9 таблиц, 59 источника.

Ключевые слова: ИНДУЦИРОВАННАЯ СИСТЕМНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ, РИЗОСФЕРНЫЕ БАКТЕРИИ, ЛИПОКСИГЕНАЗЫ, СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ, ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ.

Объекты исследования: растения томата сорта «Перемога 165»; ризосферные бактерии *P. aurantiaca* В-162 и *P. putida* КМБУ 4308, а также их мутанты *P. aurantiaca* phz⁻ и *P. putida* pvd⁻.

Предмет исследования: индуцируемая системная устойчивость томатов, возникающая под действием ризосферных бактерий.

Цель дипломной работы: изучить влияние ризосферных бактерий *Pseudomonas putida* и *Pseudomonas aurantiaca* и их внеклеточных метаболитов на защиту растений томата от фитопатогенного гриба *Botrytis cinerea in vitro*.

Задачи дипломной работы: подобрать условия стерилизации и проращивания семян и культивирования растений томатов *in vitro*; изучить влияние внеклеточных метаболитов штаммов *P. putida* КМБУ 4308 и *P. aurantiaca* В-162 на томаты при их заражении грибом *Botrytis cinerea in vitro*; подобрать гены-кандидаты на роль генетических маркеров ISR и получить биологический материал; подобрать оптимальные условия для проведения ПЦР; провести качественный анализ продуктов амплификации с помощью гель-электрофореза

Методы исследования: культивирование томатов *in vitro*, культивирование микроорганизмов на твердых и жидких питательных средах, выделение РНК фенол-хлороформным методом, электрофорез, синтез кДНК с помощью обратной транскрипции на матрице РНК, проведение ПЦР и ПЦР в режиме реального времени.

Полученные результаты: подобраны оптимальные условия для стерилизации и проращивания семян и дальнейшего культивирования томатов *in vitro*. Было установлено, что с помощью внеклеточных метаболитов штаммов *P. putida* КМБУ 4308 и *P. aurantiaca* В-162, можно защитить растения томатов сорта «Перемога 165» от поражения фитопатогенным грибом *B. cinerea (in vitro)*, что свидетельствует о запуске ISR. Был проведен анализ подбора праймеров и условий их функционирования для постановки ПЦР. В результате было показано, по качеству полученных продуктов наиболее удачными являются праймеры к TomLoxF, и первая пара праймеров к TomLoxD. Выявить наличие экспрессии генов липоксигеназ в тканях листьев у томатов удалось не у всех исследуемых образцов растений.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца: 50 старонак, 8 малюнкаў, 9 табліц, 59 крыніц.

Ключавыя словы: ІНДУКАВАНАЯ СІСТЭМНАЯ СТАБІЛЬНАСЦЬ, РЫЗАСФЕРНЫЯ БАКТЭРЫІ, ЛІПОКСІГЕНАЗЫ, СІГНАЛЬНАЯ МАЛЕКУЛА, АХОЎНЫЯ МЕХАНІЗМЫ.

Аб'екты даследавання: расліны тамата гатунку «Перамога 165»; рызасферныя бактэрыі *P. aurantiaca* В-162 і *P. putida* КМБУ 4308, а таксама іх мутанты *P. aurantiaca* phz- і *P. putida* pvd-.

Прадмет даследавання: індукаваная сістэмная ўстойлівасць таматаў, якая ўзнікае пад дзеяннем рызасферных бактэрыяў.

Мэта дыпломнай працы: вывучыць уплыў рызасферных бактэрыяў *Pseudomonas putida* і *Pseudomonas aurantiaca* і іх пазаклеткавых метабалітаў на абарону раслін тамата ад фітапатагеннага грыба *Botrytis cinerea* in vitro.

Задачы дыпломнай працы: падабраць ўмовы стэрылізацыі і прарошчвання насення і культывавання раслін таматаў in vitro; вывучыць уплыў пазаклеткавых метабалітаў штамаў *P. putida* КМБУ 4308 і *P. aurantiaca* В-162 на таматы пры іх заражэнні грыбом *Botrytis cinerea* in vitro; падабраць гены-кандыдаты на ролю генетычных маркераў ISR і атрымаць біялагічны матэрыял; падабраць аптымальныя ўмовы для правядзення ПЦР; правесці якасны аналіз прадуктаў ампліфікацыі з дапамогай геля-электрафарэзу.

Метады даследавання: культываванне таматаў in vitro, культываванне мікраарганізмаў на цвёрдых і вадкіх пажыўных асяроддзях, вылучэнне РНК фенол-хлараформным метадам, электрафарэз, сінтэз кДНК з дапамогай зваротнай транскрыпцыі на матрыцы РНК, правядзенне ПЦР і ПЦР ў рэжыме рэальнага часу.

Атрыманыя вынікі: падабраны аптымальныя ўмовы для стэрылізацыі і прарошчвання насення і далейшага культывавання таматаў in vitro. Было ўстаноўлена, што з дапамогай пазаклеткавай метабалітаў штамаў *P. putida* КМБУ 4308 і *P. aurantiaca* В-162, можна абараніць расліны таматаў гатунку «Перамога 165» ад паразы фітапатагенным грыбам *B. cinerea* (in vitro), што сведчыць аб запуску ISR. Быў праведзены аналіз падбору праймераў і ўмоў іх функцыянавання для пастаноўкі ПЦР. У выніку было паказана, па якасці атрыманых прадуктаў найбольш ўдалымі з'яўляюцца праймер да TomLoxF, і першая пара праймер да TomLoxD. Выявіць наяўнасць экспрэсіі генаў ліпоксігеназ ў тканінах лісця у таматаў атрымалася не ва ўсіх доследных узораў раслін.

RÉSUMÉ

Thèse: 50 pages, 8 images, 9 tables, 59 la source.

Mots-clés: RESISTANCE SYSTEMIQUE INDUITE, LES BACTERIES DE LA RHIZOSPHERE, LIPOXYGENASE, UNE MOLECULE DE SIGNALISATION, UN MECANISME DE DEFENSE.

Objets de recherche: variétés végétales de tomate «Peramoga 165»; rhizosphère bactéries *P. aurantiaca* B-162 et *P. putida* KMBU 4308, et leurs mutants *P. aurantiaca* phz- et *P. putida* pvd-.

Le sujet de la recherche: tomate résistance systémique induite, due à l'action des bactéries de la rhizosphère.

Thèse objectif: étudier l'influence des bactéries de la rhizosphère *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas aurantiaca* et métabolites extracellulaire pour protéger les plants de tomates contre une plante champignon pathogène *Botrytis cinerea* in vitro.

Objectifs de la thèse: de choisir les conditions de la stérilisation et la germination et la culture des plants de tomates in vitro; examiner l'effet de *P. putida* KMBU 4308 et *P. aurantiaca* B-162 souches métabolites extracellulaires sur les tomates à leur infection par le champignon *Botrytis cinerea* in vitro; choisir les gènes candidats sur le rôle des marqueurs génétiques et ISR obtenir une matière biologique; Des conditions optimales pour la PCR; effectuer une analyse qualitative des produits d'amplification par électrophorèse sur gel

Méthodes de recherche: en culture in vitro en cultivant des micro-organismes de tomates sur des milieux nutritifs solides et liquides, l'isolement de l'ARN par la méthode au phénol-chloroforme, l'électrophorèse, la synthèse d'ADNc par transcription inverse de l'ARN à la matrice, et la conduite en temps réel par PCR PCR.

Résultats: Les conditions optimales pour la stérilisation et la germination des graines et en outre la culture in vitro de tomates. Il a été constaté que l'utilisation des métabolites extracellulaires *P. putida* souches KMBU 4308 et *P. aurantiaca* B-162 peut protéger les plants de tomates variété «Peramoga 165» d'une attaque par un champignon phytopathogène *B. cinerea* (in vitro), qui indique la ISR de départ. Nous avons analysé la sélection des amorces et des conditions de leur fonctionnement pour le réglage PCR. Le résultat a été montré dans la qualité des produits résultants sont des amorces les plus efficaces pour TomLoxF, et la première paire d'amorces à TomLoxD. Révéler la présence de l'expression du gène de lipoxigénase dans les tissus foliaires dans les tomates ne pouvait pas avoir tous les spécimens de plantes étudiés.