

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра молекулярной биологии

Аннотация к дипломной работе

Козырицкий

АдрианДмитриевич

**ОЦЕНКА РЕАКЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМ
ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ НА ЗАРАЖЕНИЕ
*PHYTOPHTHORA INFESTANS***

Научный руководитель: кандидат

биологических наук,

доцента А.М. Ходосовская

Минск, 2019

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 43 с., 12 рис., 19 источников литературы.

Ключевые слова: растения картофеля (*Solanum tuberosum*), *Phytophthora infestans*, РТ-ПЦР, иммунитет растений, экспрессия *PR*-генов.

Объекты исследования: растения картофеля (*Solanum tuberosum*), зараженные *Phytophthora infestans*.

Цель исследования: оценка экспрессии некоторых *PR*-генов картофеля при заражении возбудителем фитофтороза.

Методы исследования: микробиологические и молекулярно-генетические (выделение РНК, синтез кДНК, полимеразная цепная реакция, количественная ПЦР в реальном времени).

Результаты работы:

Осуществлен эксперимент по заражению срезанных листьев картофеля относительно устойчивого к фитофторозу сорта Скарб спорами *P.infestans* и взятию проб растительного материала спустя 0, 3 и 6 суток после инфицирования.

Проведено выделение препаратов РНК и синтез на их основе кДНК из образцов инфицированных и контрольных листьев картофеля, соответствующих трем временным точкам эксперимента.

С помощью количественной ПЦР установлено, что спустя 3 суток после заражения уровень экспрессии гена *PR1a* в опытном растении снижен и составляет 61,6% от уровня активности этого гена в контрольном растении. Для гена *PR5* наблюдается более значительное падение транскрипционной активности при заражении картофеля *P.infestans*, степень экспрессии этого гена составляет лишь 3,1% от уровня в контроле.

Через 6 суток после заражения в тканях, окружающих места первоначального нанесения спор патогена на листья и не имеющих признаков спороношения, активность исследованных генов *PR5*, *PR3* и *PR1a* повышается: для относительного уровня экспрессии гена *PR5* это превышение составляет 1,74 раза над уровнем в контроле, для гена *PR3* – 2,64 раза, а активность гена *PR1a* в 39,4 раза выше такового уровня в контрольном растении.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что первоначально патоген подавляет систему иммунитета растений, а спустя 6 суток в пораженных тканях, не имеющих еще видимых проявлений микробной инфекции, наблюдается усиление экспрессии генов *PR5*, *PR3* и *PR1a* по сравнению с незараженным растением.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 43 старонак, 12 малюнкаў, 19 крыніц літэратуры.

Ключавыя словы: расліны бульбы (*Solanum tuberosum*), *Phytophthora infestans*, РТ-ПЦР, імунітэт раслін, экспрэсія *PR*-генаў.

Аб'екты даследвання: расліны бульбы (*Solanum tuberosum*), заражаныя *Phytophthora infestans*.

Мэтады даследвання: адзнака экспрэсіі некаторых *PR*-генаў бульбы пры заражэнні ўзбуджальнікам фітафтарозу.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя і малекулярна-генетычныя (вылучэнне РНК, сінтэз кДНК, палімеразная ланцуговая рэакцыя, колькасная ПЦР ў рэальным часе).

Вынікі працы:

Ажыццёўлены эксперымент па заражэнню зрэзаных лісцяў бульбы адносна ўстойлівага да фітафтарозу гатунка Скарб спорами *P. infestans* і ўзяцця проб расліннага матэрыялу праз 0, 3 і 6 сутак пасля інфіцыравання.

Праведзена вылучэнне прэпаратаў РНК і сінтэз на іх аснове кДНК з узораў інфіцыраваных і кантрольных лісцяў бульбы, адпаведных тром часовым кропкам эксперыменту.

З дапамогай колькаснай ПЦР ўстаноўлена, што праз 3 сутак пасля заражэння ўзровень экспрэсіі гена *PR1a* ў дасведчаных раслінах паніжаны і складае 61,6% ад узроўню актыўнасці гэтага гена у кантрольных раслінах. Для гена *PR5* назіраецца больш значнае падзенне транскрыпцыйнай актыўнасці пры заражэнні бульбы *P. infestans*, ступень экспрэсіі гэтага гена складае толькі 3,1% ад узроўню ў кантролі.

Праз 6 сутак пасля заражэння ў тканінах, навакол месца першапачатковага нанясення спор патагена на лісце і якія не маюць прыкмет споранаення, актыўнасць даследваных генаў *PR5*, *PR3* і *PR1a* павышаецца: для адноснага ўзроўню экспрэсіі гена *PR5* гэта перавышэнне складае 1,74 разу над узроўнем у кантролі, для гена *PR3* - 2,64 разы, а актыўнасць гена *PR1a* ў 39,4 разы вышэй такога ўзроўню ў кантрольнай расліне.

Атрыманыя вынікі дазваляюць зрабіць выснову аб тым, што першапачаткова патаген аслабляе сістэму імунітэту раслін, а праз 6 сутак у пашкоджаных тканінах, яшчэ не маючых бачных праяў мікробнай інфекцыі, назіраецца ўзмацненне экспрэсіі генаў *PR5*, *PR3* і *PR1a* у параўнанні з незаражанай раслінай.

ABSTRACT

Diploma project 43: p., 12 fig., 19 sources

Keywords: potato plants (*Solanum tuberosum*), *Phytophthora infestans*, RT-PCR, plant immunity, expression of *PR* -genes.

Research objects: potato plants (*Solanum tuberosum*) infected with *Phytophthora infestans*.

Purpose of research: to evaluate the expression of some *PR*-genes of potato infected with late blight pathogen.

Research methods: microbiological and molecular genetic methods (RNA extraction, cDNA synthesis, polymerase chain reaction, quantitative real-time PCR).

Following results were obtained:

An experiment was carried out on the infection of cut potato leaves with relatively resistant to late blight of the Scarb variety with *P. infestans* spores and sampling of plant material after 0, 3 and 6 days after infection.

The isolation of RNA preparations and the synthesis of cDNA on their basis from samples of infected and control potato leaves corresponding to the three time points of the experiment was carried out.

Using quantitative PCR, it was found that 3 days after infection, the expression level of the *PR1a* gene in the experimental plant was reduced to 61.6% of the activity level of this gene in the control plant. For the *PR5* gene, a more significant decrease in transcriptional activity is observed when potato is infected by *P. infestans*, the expression level of this gene is only 3.1% of the level in the control.

6 days after infection in the tissues surrounding the site of the initial application of the spores of the pathogen to the leaves and having no signs of sporulation, the activity of the *PR5*, *PR3* and *PR1a* genes is increased: for the relative level of expression of the *PR5* gene, this excess is 1.74 times above control, for the *PR3* gene - 2.64 times, and the activity of the *PR1a* gene is 39.4 times higher than that in the control plant.

The obtained results allow us to conclude that initially the pathogen suppresses the immune system of plants, and after 6 days in the affected tissues that do not yet have visible manifestations of microbial infection, an increase in the expression of the *PR5*, *PR3* and *PR1a* genes is observed compared to an uninfected plant.