

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии

Аннотация к дипломной работе

ПРОХОРЧИК
ПОЛИНА ОЛЕГОВНА

ИЗУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БИОРАЗНООБРАЗИЯ
БАКТЕРИОФАГОВ *ERWINIA AMYLOVORA*

Научный руководитель:
старший преподаватель
Н.В. Бесараб

Минск, 2023

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 63 с., 29 рис., 7 табл., 67 источников.

Ключевые слова: бактериальный ожог, *Erwinia amylovora*, бактериофаги.

Объект исследования: бактериофаги бактерии *Erwinia amylovora*.

Цель: характеристика биоразнообразия бактериофагов *Erwinia amylovora* и изучение возможности применения бактериофагов в качестве биологического способа контроля бактериального ожога.

Методы исследования: микробиологические (выделение и культивирование бактериофагов, морфологическая характеристика бляшек, спектр литического действия, криоконсервация), молекулярно-генетические (выделение ДНК, ПЦР-анализ ДНК, рестрикционный анализ ДНК, электронная микроскопия).

В результате исследовательской работы была проведена характеристика биоразнообразия бактериофагов *E. amylovora* и выделено 4 новых бактериофага (PZ321, Voitsik, FE4, Zazer).

Все бактериофаги на газоне индикаторных культур формировали круглые, прозрачные негативные колонии различного размера с мутными нечеткими или ровными и четкими краями, без признаков вторичного роста. Многократные пассажи как крупных, так и мелких негативных колоний всех изолятов приводили к одинаковому результату – формированию разнородных по размеру колоний.

Литическая активность бактериофагов выявлена в отношении большинства штаммов бактерий *E. amylovora*, *P. agglomerans*.

В результате ПЦР-анализа со специфичными к последовательностям геномов фагов праймерами Loshitsa2 и Micant, сделано предположение о родственных связях, бактериофагов PZ321 и FE4 с фагом Loshitsa2, относящегося к подовирусам. Так же выяснено, что у бактериофагов Voitsik и Zazer отсутствует НК-мишени в анализируемой ДНК.

Проведенный ПЭМ-анализ позволил охарактеризовать морфологию частицы для одного из фагов, а также доказать родственные связи бактериофагов Loshitsa2 и PZ321.

С помощью ПДРФ-анализа установлено, что у бактериофагов PZ321, FE4 и Voitsik имеются сайты для рестрикции EcoR1.

После замораживания в присутствии 10% глицерина бактериофаги сохраняют жизнеспособное состояние: падение титра происходит в пределах одного порядка.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 63 старонкі, 29 малюнкаў, 7 табліц, 67 крыніцы.

Ключавыя словы: бактэрыяльны апёк, *Erwinia amylovora*, бактэрыяфага

Аб’екты даследвання: бактэрыяфага бактэрыі *Erwinia amylovora*.

Мэта даследвання: характарыстыка біразнастайнасці бактэрыяфагаў *Erwinia amylovora* і вывучэнне магчымасці прымянення бактэрыяфагаў ў якасці біялагічнай спосабу кантролю бактэрыяльнага апёку.

Метады даследвання: мікрабіялагічныя (вылучэнне і культываванне бактэрыяфагаў, марфалагічная характарыстыка бляшак, спектр літыческаго дзеяння, криоконсервация), малекулярна-генетычныя (вылучэнне ДНК, ПЦР-аналіз ДНК, рестрикционный анализ ДНК, электронная мікраскапія).

У выніку даследчай працы была праведзена характарыстыка біразнастайнасці бактэрыяфагаў *E. amylovora* і выдзелена 4 новых бактэрыяфага (PZ321, Voitsik, FE4, Zazer).

Усе бактэрыяфага на газоне індыкатарных культур фармавалі круглыя, празрыстыя негатыўныя калоніі рознага памеру з каламутнымі невыразнымі або роўнымі і выразнымі бакамі, без прыкмет другаснага росту. Шматразовыя пасажы як буйных, так і дробных негатыўных калоній ўсіх ізолятов прыводзілі да аднолькавага выніку – фармаванню разнастайных па памеры калоній.

Літыческая актыўнасць бактэрыяфагаў выяўлена ў дачыненні да большасці штамаў бактэрыі *E. amylovora*, *P. agglomerans*.

У выніку ПЦР-аналізу са спецыфічнымі да паслядоўнасцяў геномаў фагов праймер Loshitsa2 і Micant, зроблена здагадка аб роднасных сувязях, бактэрыяфагаў PZ321 і FE4 з фагом Loshitsa2, які адносіцца да падавірусы. Гэтак жа высветлена, што ў бактэрыяфагаў Voitsik і Zazer адсутнічае НК-мішэні ў аналізаванай ДНК.

Праведзены ПЭМ-аналіз дазволіў ахарактарызаваць марфалогію часціцы для аднаго з фагов, а таксама даказаць роднасныя сувязі бактэрыяфагаў Loshitsa2 і PZ321.

З дапамогай ПДРФ-аналізу ўстаноўлена, што ў бактэрыяфагаў PZ321, FE4 і Voitsik маюцца сайты для рэстрыкцыі EcoR1.

Пасля замарожвання ў прысутнасці 10% гліцэрыны бактэрыяфага захоўваюць жыццяздольнае стан: падзенне тытра адбываецца ў межах аднаго парадку.

ABSTRACT

Diploma project 63 p., 29 fig., 7 tables, 67 sources.

Key words: Fire blight, *Erwinia amylovora*, bacteriophages.

The object of research: bacteriophages bacteria *Erwinia amylovora*.

The aim of the research: to characterize the biodiversity of bacteriophages of *Erwinia amylovora* and to study the possibility of using bacteriophages as a biological method for controlling bacterial burn.

The research methods: microbiological (isolation and cultivation of bacteriophages, morphological characteristics of plaques, spectrum of lytic action, cryopreservation), molecular genetic (DNA isolation, PCR-analysis, PDRF-analysis, TEM-analysis).

As a result of the research work, we characterized the biodiversity of *E. amylovora* bacteriophages and isolated 4 new bacteriophages (PZ321, Voitsik, FE4, Zazer).

All bacteriophages on the lawn of indicator cultures formed round, transparent negative colonies of various sizes with cloudy fuzzy or even and clear edges, without signs of secondary growth. Multiple passages of both large and small negative colonies of all isolates led to the formation of heterogeneous sized colonies.

The lytic activity of bacteriophages was detected against most strains of *E. amylovora* and *P. agglomerans*.

As a result of PCR-analysis with primers specific to the genome sequences of phages Loshitsa2 and Micant, it was assumed that the bacteriophages PZ321 and FE4 are related to the Loshitsa2 (podoviruses group). We also found out that Voitsik and Zazer bacteriophages lack NK targets in the analyzed DNA.

The TEM-analysis made it possible to characterize the morphology of the particle for one of the phages, as well as to prove the relations of the bacteriophages Loshitsa2 and PZ321.

Using PDRF-analysis, it was found that bacteriophages PZ321, FE4 and Voitsik have sites for EcoR1 restriction.

After freezing in the presence of 10% glycerin, bacteriophages retain a viable state (the titer drop occurs within one order).