

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

СТОЛЫБКО
Валерия Евгеньевна

**ИЗУЧЕНИЕ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ *CUCUMIS*
SATIVUS L. НА ОБРАБОТКУ БИОИНДУКТОРАМИ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
старший преподаватель
О.В. Лагодич

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа содержит 46 с., 11 рис., 12 табл., 57 источников.

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

Цель дипломной работы: изучить ответную реакцию растений *Cucumis sativus* L. на обработку биоиндукторами.

Объекты исследования: огурцы сорта «Верасень»; ризосферные бактерии *P. fluorescens* 172; биопрепарат «Фитоспорин», содержащий не менее 1×10^9 /мл живых спор и клеток *Bacillus subtilis* 26Д; фитопатогенный гриб *Botrytis cinerea*.

Методы: культивирование ризосферных бактерий, культивирование растений огурца *in vitro*, выделение РНК фенол-хлороформным методом, обратная транскрипция, ПЦР, электрофоретический анализ.

Огурец (*Cucumis sativus* L.) – это широко культивируемая по всему миру овощная культура, болезни которой могут наносить значительный экономический ущерб (до 50% урожая). Поэтому очень важными являются мероприятия по профилактике заболеваний и защите растений. К таким мероприятиям можно отнести использование ризосферных бактерий, которые запускают индуцированную системную устойчивость (ISR) у растений. Ризосферные бактерии, как правило, не обладают биоцидным действием, а воздействуют на патогенный организм через растение, активируя его эндогенные защитные механизмы.

Полученные в исследовании результаты показали, что обработка растений внеклеточными метаболитами *P. fluorescens* 172 и биопрепаратом «Фитоспорин» оказывает положительное влияние на защиту растений огурца от фитопатогенного гриба *B. cinerea*. При изучении ростостимулирующего эффекта было показано, что у группы, обработанной культуральной жидкостью наблюдалось сильное развитие корневой системы, в то время как у группы, обработанной биопрепаратом, наземная часть растения сильно преобладала над корневой системой. Такой эффект наблюдается из-за различия в синтезируемых метаболитах у разных объектов.

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 гену *Lox2* с размером ампликона 186 п.н., со второй парой праймеров с размером ампликона 164 п.н. выход продукты был значительно ниже. Однако определить наличие экспрессии генов липоксигеназ *Lox2* путем качественной оценки электрофореграмм удалось не во всех образцах.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца ўтрылівае 46 с., 11 мал., 12 табл., 57 крыніц.

Ключавыя словы: ІНДУКАВАНАЯ СІСТЭМНАЯ ЎСТОЙЛІВАСЦЬ, РЫЗОАСФЕРНЫЕ БАКТЭРЫ, ЛІПОКСІГЕНАЗЫ, БІАДУКТАРЫ, АХОЎНЫЯ МЕХАНІЗМЫ.

Мэта дыпломнай працы: вывучыць рэакцыю ў адказ раслін *Cucumis sativus* L. на апрацоўку біяіндуктарамі.

Аб'екты даследавання: агуркі гатунку “Верасень”; рызасферныя бактэрыі *P. fluorescens* 172; біяпрэпарат “Фитоспорин”, які змяшчае не менш 1×10^9 / мл жывых спор і клетак *Bacillus subtilis* 26Д; фітапатагенны грыб *Botrytis cinerea*.

Метады даследавання: культываванне рызасферных бактэрый, культываванне раслін агурка *in vitro*, вылучэнне РНК фенол-хлараформным метадам, зваротная транскрыпцыя, ПЦР, электрофарэтычны аналіз.

Агурок (*Cucumis sativus* L.) – гэта агароднінная культура, якая шырока культывуецца ва ўсім свеце, хваробы якой могуць наносіць значныя эканамічныя шкоды (да 50% ураджаю). Таму вельмі важнымі з’яўляюцца мерапрыемствы па прафілактыцы захворванняў і абароне раслін. Да такіх мерапрыемстваў можна аднесці выкарыстанне рызасферных бактэрый, якія запускаюць індукаваную сістэмную ўстойлівасць (ISR) у раслін. Рызасферныя бактэрыі, як правіла, не валодаюць біяцыдным дзеяннем, а ўздзейнічаюць на патагенны арганізм праз расліну, актывуючы яго эндагенныя ахоўныя механізмы.

Атрыманыя ў даследаванні вынікі паказалі, што апрацоўка раслін пазаклеткавымі метабалітамі *P. fluorescens* 172 і біяпрэпаратам “Фитоспорин” аказвае станоўчы ўплыў на абарону раслін агурка ад фітапатагеннага грыба *B. cinerea*. Пры вывучэнні ростастымулюючага эфекту было паказана, што ў групы, апрацаванай культуральнай вадкасцю назіралася моцнае развіццё каранёвай сістэмы, у той час як у групы, апрацаванай біяпрэпаратам, наземная частка расліны моцна пераважала над каранёвай сістэмай. Такі эфект назіраецца з-за адрознення ў сінтэзаваных метабалітах ў розных аб'ектаў.

Быў праведзены аналіз падбору праймераў і ўмоў іх функцыянавання для пастаноўкі ПЦР. У выніку было паказана, па якасці атрыманых прадуктаў найбольш удалымі з’яўляюцца праймер да гену *Lox2* з памерам амплікона 186 п.н., з другой парай праймераў з памерам амплікона 164 п.н. выхад прадукту быў значна ніжэй. Аднак вызначыць наяўнасць экспрэсіі генаў ліпоксігеназ *Lox2* шляхам якаснай ацэнкі электрофарэграм атрымалася не ва ўсіх узорах.

ABSTRACT

Thesis contains 46 pages, 11 figures, 12 tables, 57 sources.

Keywords: INDUCED SYSTEMIC RESISTANCE, RHIZOSPHERIC BACTERIA, LIPOXYGENASES, BIOINDUCTORS, PROTECTIVE MECHANISMS.

The purpose of the thesis: to study the response of *Cucumis sativus* L. plants to treatment with bioinductors.

Objects of research: cucumbers of the “Verasen” variety; rhizospheric bacteria *P. fluorescens* 172; biopreparation "Phytosporin" containing at least 1×10^9 /ml of live spores and cells of *Bacillus subtilis* 26D; phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*.

Methods of research: cultivation of rhizospheric bacteria, cultivation of cucumber plants *in vitro*, RNA extraction by phenol-chloroform method, reverse transcription, PCR, electrophoretic analysis.

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is a vegetable crop widely cultivated around the world, whose diseases can cause significant economic damage (up to 50% of the crop). Therefore, measures for the prevention of diseases and plant protection are very important. Such measures include the use of rhizospheric bacteria that trigger induced systemic resistance (ISR) in plants. Rhizospheric bacteria, as a rule, do not have a biocidal effect, but affect the pathogenic organism through the plant, activating its endogenous defense mechanisms.

The results obtained in the study showed that the treatment of plants with extracellular metabolites of *P. fluorescens* 172 and the biopreparation "Phytosporin" has a positive effect on the protection of cucumber plants from the phytopathogenic fungus *B. cinerea*. When studying the growth-stimulating effect, it was shown that the group treated with culture fluid had a strong development of the root system, while in the group treated with a biopreparation, the ground part of the plant strongly prevailed over the root system. This effect is observed due to differences in synthesized metabolites in different objects.

The analysis of the selection of primers and the conditions of their functioning for PCR was carried out. As a result, it was shown that in terms of the quality of the products obtained, the most successful are primers for the Lox2 gene with an amplicon size of 186 bp. The yield of the products was significantly lower with the second pair of primers with an amplicon size of 164 bp. However, it was not possible to determine the presence of expression of Lox2 lipooxygenase genes by qualitative evaluation of electrophoregrams in all samples.