

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ МИКРОМИЦЕТОВ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ СОРТА РЕД СКАРЛЕТ

Обучающийся 4 курса
группы 01-905

« 14 » июля 2023г.



Сабирова Л.М.

Научный руководитель
д-р биол. наук, профессор

« 14 » июля 2023г.



Марданова А.М.

Заведующий кафедрой
микробиологии

д-р биол. наук, профессор

« 14 » июля 2023 г.



Ильинская О.Н.

Казань – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Общая характеристика микромицетов рода <i>Fusarium</i>	6
1.1.1 Таксономическое положение грибов рода <i>Fusarium</i>	6
1.1.2 Морфологические особенности микромицетов рода <i>Fusarium</i>	8
1.1.3 Фитопатогенные свойства грибов рода <i>Fusarium</i>	10
1.1.4 Болезнь сухой гнили картофеля	11
1.2 Биологические методы борьбы с фитопатогенными грибами рода <i>Fusarium</i>	15
1.3 Факторы вирулентности <i>Fusarium spp.</i>	16
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	21
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	21
2.1 Объект исследования и условия культивирования	21
2.2 Выделение грибов из клубней и шейки картофеля	21
2.3 Изучение макроморфологических особенностей методом микроскопии	22
2.4 Выделение геномной ДНК	22
2.5 Идентификация грибковой ДНК	23
2.6 Заражение клубней картофеля	24
2.7 Статистическая обработка данных	24
2.8 ПЦР-анализ генов SIX-эффекторов	24
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	26
3.1 Выделение изолятов из корневой шейки и клубней картофеля сорта Ред Скарлет и их морфологическая характеристика	26

3.2 Молекулярная идентификация изолятов микромицетов на основе ITS	29
3.3 Оценка способности изолятов <i>Fusarium sp.</i> вызывать сухую гниль в клубнях картофеля сорта Жуковский ранний	32
3.4 ПЦР-скрининг генов патогенности SIX1-SIX14 в геномах штаммов <i>Fusarium</i>	35
ВЫВОДЫ	38
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	39

ВВЕДЕНИЕ

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является одной из наиболее распространенных и широко используемых культур в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Данная культура занимает четвертое место по возделыванию после пшеницы, риса и кукурузы, и во всем мире ежегодно ее потребляют более миллиарда человек в 150 странах [Devaux *et al.*, 2020]. Так, в тройку ведущих стран по мировому производству картофеля входят Китай, Индия и Россия, которые произвели 99.0, 43.8 и 31.1 млн тонн картофеля, соответственно, в 2020 году [Muthoni *et.al*, 2022]. И учитывая огромный спрос со стороны растущего населения и перерабатывающей промышленности, требуется с каждым годом увеличивать темпы производства. Вместе с тем, из-за того, что картофель является вегетативно размножаемой подземной овощной культурой, сильно повышается вероятность возникновения заболеваний, передающихся через почву и клубни. По всему миру сообщается о более чем 40 почвенных болезнях, которые препятствуют производству картофеля, повреждая клубни [Larkin *et. al*, 2018].

В течение последнего десятилетия особенно отмечается поражение картофеля сухой гнилью, которое, вызывается несколькими видами грибов рода *Fusarium*. Болезнь поражает корни растений, вызывая фузариозное увядание. Но наиболее серьезные проблемы возникают именно при хранении урожая, когда из-за латентной фузариозной инфекции в здоровых клубнях возникает сухая гниль. Так, имеются сообщения, в которых говорится о количественных потерях собранного урожая достигающих 60 % [Tiwari *et al.*, 2018].

В Республике Татарстан первые сообщения о сухой гнили картофеля появились в 2010 году. Развитию данного заболевания способствовали погодные условия – обильные осадки и последовавшие затем высокие температуры обеспечили все условия, необходимые для размножения и

распространения микромицетов рода *Fusarium*. И с эпифитного заражения картофеля фузарием в 2011 году, болезнь сухой гнили продолжает распространяться и демонстрировать разнообразные проявления [Замалиева с соавт., 2015]. Несмотря на то, что ведутся активные исследования фитопатогенных видов и штаммов *Fusarium*, данных о возбудителях фузариозного увядания на территории Российской Федерации и Республики Татарстан крайне мало, также практически отсутствует характеристика вирулентности данных патогенов.

Цель работы – выделение микромицетов рода *Fusarium* из картофеля сорта Ред Скарлет и характеристика их вирулентных свойств.

Для достижения этой цели решались следующие **задачи**:

1. Выделить чистые культуры микромицетов из корневой шейки и клубней картофеля и охарактеризовать их морфологически.
2. Провести молекулярно-генетическую идентификацию изолятов микромицетов рода *Fusarium* до вида.
3. Охарактеризовать вирулентные свойства изолятов *Fusarium sp.* по их способности вызывать сухую гниль в клубнях картофеля сорта Жуковский ранний.
4. Провести ПЦР-скрининг генов SIX-эффекторных белков в геномах выделенных изолятов.

ВЫВОДЫ

1) Из корневых шеек и клубней здоровых и инфицированных растений картофеля сорта Ред Скарлетт выделили 5 изолятов микромицетов, имеющих морфологию колоний и спор, характерных для рода *Fusarium*. Выделенные изоляты различались по размерам конидий и эффективности спороношения. По морфологическим признакам все изоляты были идентифицированы как *Fusarium* sp.

2) Молекулярно-генетическая идентификация по гомологии внутренней транскрибируемой спейсерной области рибосомного гена (ITS) позволила идентифицировать выделенные изоляты как штаммы *Fusarium solani*, который также может вызывать сухую гниль в клубнях картофеля.

3) Все исследуемые штаммы *Fusarium solani* способны вызывать сухую гниль в клубнях сорта Жуковский ранний. Самые высокие вирулентные свойства проявил штамм *Fusarium solani* RS1hs, выделенный из корневой шейки растения без признаков фузариозного увядания.

4) ПЦР-скрининг в геномах изолятов *Fusarium solani* генов SIX-эффекторных белков показал, что исследуемые штаммы содержат разный набор этих генов, количество которых в геномах варьирует от 3 до 6. Во всех штаммах идентифицированы гены SIX7 и SIX11.