

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 (специальность): 06.04.01 – Биология

Профиль (специализация, магистерская программа): Микробиология и вирусология


МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
МИКРОМИЦЕТЫ РОДА *FUSARIUM* КАК ВОЗБУДИТЕЛИ СУХОЙ
ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ

Обучающийся 2 курса
группы 01-040-2



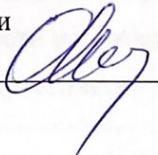
М.А. Галимов

Научный руководитель
д-р биол. наук, профессор



А.М. Марданова

Заведующий кафедрой микробиологии
д-р биол. наук, профессор



О.Н. Ильинская

Казань – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Факторы патогенности и апоптоз у <i>Fusarium</i>	7
1.1.1 Микромитеты рода <i>Fusarium</i> – патогены растений.....	7
1.1.2 Связь вирулентности с регулируемой клеточной гибелью у <i>Fusarium</i>	11
1.2 Идентификация грибных медиаторов апоптоза	12
1.3 Программируемая клеточная смерть у дрожжей	15
1.3.1 Роль программируемой клеточной смерти в физиологии дрожжей	15
1.3.2 Молекулярные механизмы и фенотипические проявления регулируемой клеточной смерти дрожжевых грибов.....	16
1.4 Программируемая клеточная смерть у мицелиальных грибов.....	21
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	28
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	28
2.1 Выделение чистых культур <i>Fusarium sp.</i>	28
2.2 Среды для культивирования микромитетов.....	29
2.3 Анализ вирулентности выделенных штаммов на клубнях картофеля.....	29
2.4 Поиск генов, связанных с программируемой клеточной смертью у <i>Fusarium oxysporum</i>	29
2.5 Филогенетический анализ AIF – подобных белков <i>Fusarium oxysporum</i>	30
2.6 Статистическая обработка данных	30
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	31
3.1 Выделение из почвы и клубней изолятов микромитетов рода <i>Fusarium</i>	31
3.2 Характеристика вирулентности изолятов <i>Fusarium</i>	34
3.3 Поиск и идентификация гипотетических белков <i>Fusarium</i> , индуцирующих апоптоз	37
3.4 Сравнительный биоинформатический анализ ассоциированных с апоптозом белков <i>F. oxysporum</i> и <i>Neurospora crassa</i>	40
ВЫВОДЫ	43

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....44

ВВЕДЕНИЕ

Fusarium — один из важнейших родов фитопатогенных грибов, приводящих к большим потерям урожая многих экономически важных сельскохозяйственных культур. Этот род занимает 5 место из 10 основных патогенов растений [Deanetal., 2012]. Фузариозная гниль наносит экономический ущерб в полевых условиях, при хранении, транспортировке и коммерциализации картофеля и встречается везде, где он выращивается. Помимо экономических потерь, *Fusariumspp.* продуцируют различные токсины, опасные для человека и животных [Bennet, Klich, 2003].

Процессы запрограммированной гибели клеток играют важную роль во взаимодействиях растений и грибов и могут принести пользу как хозяину, так и патогену в зависимости от достигнутого баланса [Shlezingeretal., 2012]. Программы регулируемой клеточной смерти играют одну из ключевых ролей на разных этапах патогенеза у нескольких фитопатогенов [Schelezingeretal., 2011; Chenetal., 2014].

Наиболее распространенным методом борьбы с фитопатогенными грибами в общем и фузариями, в частности, является использование фунгицидов. Но они имеют нецелевые эффекты и через некоторое время патогены приобретают устойчивость к фунгицидным препаратам. Более того, помимо экологической опасности и токсического воздействия через продукты питания, фунгициды, используемые в сельском хозяйстве, приводят к распространению резистентности у опасных для человека видов грибов [Fisheretal., 2018].

Быстро возрастающая резистентность различных грибковых патогенов и появление панрезистентных штаммов (*Candidaauris*, *Lomentosporaprolificans*) требует поиска новых методов контроля грибковых инфекций. Одной из стратегий может стать фармакологическая манипуляция программируемой клеточной смертью грибных клеток. В отличие от клеток млекопитающих, микроскопические грибы имеют клеточные стенки, живут в

совершенно разных средах и генетически разнообразны. Представляется вероятным, что грибковые механизмы клеточной гибели должны были быть выбраны отбором под воздействием столь же различных движущих сил.

Кроме того, исследования дрожжей пролили свет на болезни человека, предоставив клеточную платформу для изучения, например, метаболических заболеваний, нейродегенеративных расстройств, рака или старения, но по своей клеточной биологии, мицелиальные грибы (в частности *Fusarium*) куда ближе к человеку [deCabo *et al.*, 2014; Shreshtha *et al.*, 2015].

Таким образом, целью нашей работы явилось выделение и характеристика микромицетов рода *Fusarium* и идентификация генов, участвующих в реализации программируемой клеточной смерти.

В работе решались следующие задачи:

- 1) Выделение микромицетов рода *Fusarium* из различных источников в чистую культуру и характеристика морфологии.
- 2) Характеристика способности изолятов *Fusarium* sp. вызывать сухую гниль в клубнях картофеля разных сортов.
- 3) Поиск и идентификация гипотетических белков *Fusarium*, участвующих в программируемой клеточной смерти.
- 4) Сравнительный биоинформатический анализ белков *F. oxysporum* и *Neurospora crassa*, ассоциированных с программируемой клеточной смертью.

ВЫВОДЫ

1) Было выделено в чистую культуру 7 изолятов с макро- и микроморфологией характерной для *Fusarium sp.*

2) По результатам анализа на вирулентность изоляты разделены на 3 группы по способности вызывать сухую гниль в клубнях картофеля различных сортов. Клубни разных сортов различались по чувствительности к фузариозной гнили: наибольшую устойчивость проявили сорта картофеля Дебют, Зумба, Казачок, Корчма, Краса Мешера и Нарымская ночка.

3) В геноме *F. oxysporum* идентифицировано 12 гипотетических белков, связанных с программируемой клеточной смертью. AIF-подобные белки мицелиальных грибов обнаруживают большее сходство с AIF-подобным белкам человека, чем с гомологичными белками дрожжей.

4) В геноме *N. crassa* идентифицировано 11 гипотетических белков, связанных с программируемой клеточной смертью. Доменная организация идентифицированных белков у *F. oxysporum* схожа с белками *N. crassa*, отличие наблюдалось только в последовательностях.