Молекулярная дифференциация изолятов Phytophthora infestans методом RAPD ПЦР

Магистерская диссертация Викторовича В.Н.

Научный руководитель: д. б. н.,профессор Евтушенков А.Н.

Целями данной работы были:

- молекулярная дифференциация природных изолятов P. infestans методом RAPD ПЦР
- Расчёт коэффициентов генетического сходства между различными штаммами патогена

Phytophthora infestans – экономически значимый патоген картофеля во всём мире

- Оомицет P. infestans является патогеном, вызывающим фитофтороз растений семейства паслёновых; его считают одним из наиболее важных патогенов картофеля во всём мире. Патоген отличается способностью быстро уничтожать целые поля томатов и картофеля.

Генетический полиморфизм Phytophthora infestans

- Изучение генетического полиморфизма P. infestans имеет важное прикладное значение, поскольку определение различных генетических особенностей патогена на той или иной территории позволяет выбрать наиболее оптимальный метод контроля заболевания, а также спрогнозировать его распространение

Методы, применяемые в изучении генетического полиморфизма P. infestans

- AFLP анализ
- RAPD анализ
- RFLP анализ
- Изучение гаплотипов митохондриальной ДНК

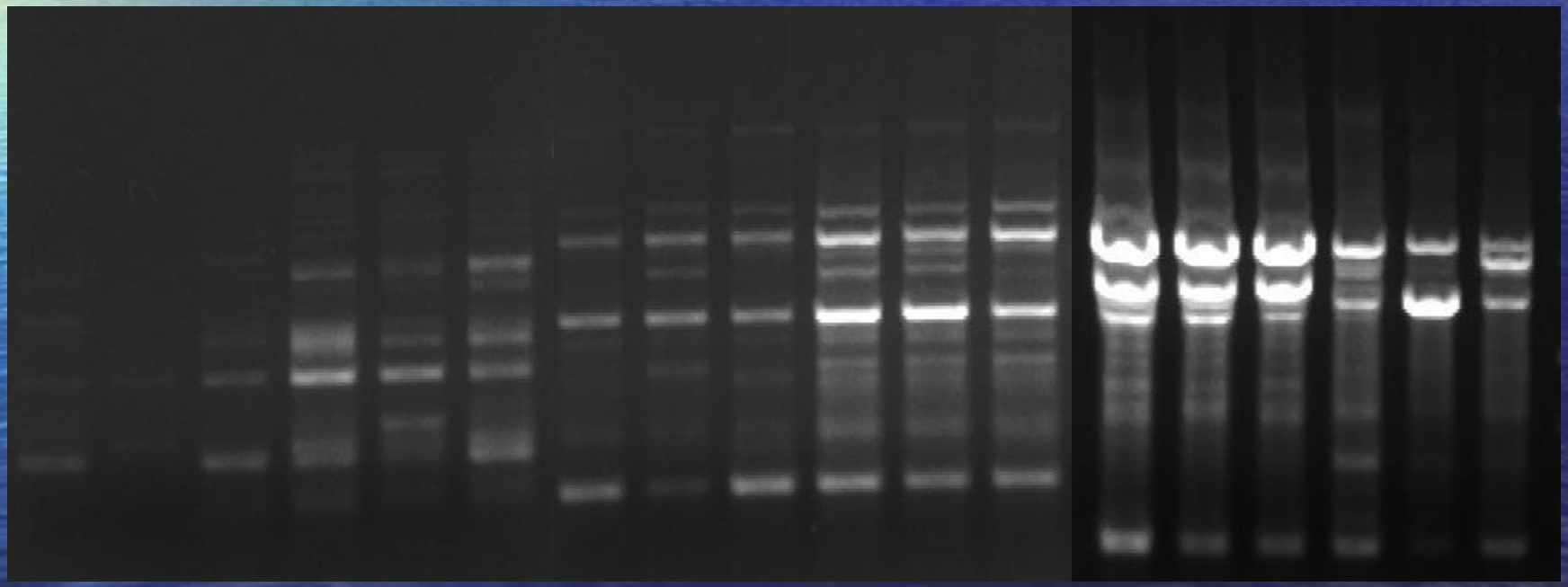
Штаммы микроорганизмов, использованных в работе

- В работе были использованы следующие штаммы; P. infestans 3/032, 3/033, ДК1, ДаСК4 11.01, ДаСК4 26.01, ЗарСК1. Штаммы любезно предоставлены научно-исследовательским институтом картофелеводства НАНБ.

Методы, использованные в работе

- Выделение тотальной ДНК из P. infestans
- Электрофорез молекулярной ДНК в агарозном геле
- Полимеразная цепная реакция (RAPD анализ)

RAPD – паттерны штаммов P. infestans, полученные с праймерами C12 (А),C13(Б), C5(В)

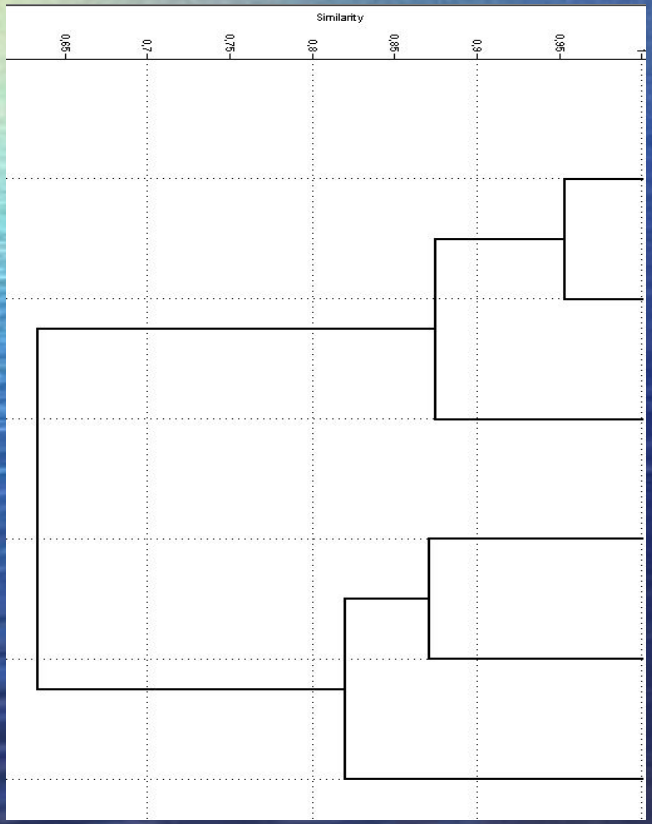


А Б В

Коэффициенты генетического сходства,, (нижний треугольник) и количество полиморфных фрагментов (верхний треугольник) между проанализированными штаммами P. infestans

	3/032	3/033	ДК1	ДаСК4 11. 01	ДаСК4 26. 01	ЗарСК1
3/032	1,000000	7	6	23	18	20
3/033	0,837209	1,000000	9	20	19	19
ДК1	0,869565	0,800000	1,000000	19	18	18
ДаСК4 11.1	0,566038	0,615385	0,654545	1,000000	7	3
ДаСК4 26.01	0,640000	0,612245	0,653846	0,881356	1,000000	8
ЗарСК1	0,629630	0,641509	0,678571	0,952381	0,866667	1,000000

Дендрограмма, отражающая филогенетические отношения между штаммами P. infestans



ДаСК4 11. 01

ЗарСК1

ДаСК4 26.01

ДК1

3/032

3/033

Выводы, сделанные в работе

- Компьютерная программа PAST при изучении филогенетического родства штаммов P. infestans позволяет получать корректные данные, которые подтверждаются данными географического распределения.
- Проанализированные штаммы P. infestans характеризуются высоким уровнем генетического полиморфизма (27,2 – 93,9 %), а также обнаруживают достаточно высокую генетическую разнородность (коэффициенты генетического сходства варьируют от 0,566038 - 0,881356).
- На основании коэффициентов генетического сходства, и построенной дендрограммы штаммы можно разделить на две группы, в группу 1 включены штаммы P. infestans 3/032, 3/033, ДК1; в группу 2 штаммы ДаСК4 11. 01, ЗарСК1, ДаСК4 26.01.

Спасибо за внимание!