БОЛЬШИЕ ВЫЗОВЫ

ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНКУРС
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЕКТОВ

МГК2021

Региональный трек
Всероссийского конкурса
научно-технологических проектов

«БОЛЬШИЕ ВЫЗОВЫ»

направление

Агропромышленные и биотехнологии

название работы

Днк-типирование аллелей генов устойчивости томата solanum lycopersicum к мелойдогинозу и вирусу мозаики

участник(и)

Яворовская Елизавета Андреевна

#большиевызовы
#мгк

mgk.olimpiada.ru

г. Москва
2021

Актуальность и практическая значимости

Молекулярно-генетические методы особенно актуальны при создании сортов и гибридов, сочетающих в себе устойчивость одновременно к нескольким заболеваниям.

Корневые галловые нематоды (род Meloidogyne), и вирус мозаики томата (ВМТо, ToMV, Tomato mosaic virus) на сегодняшний день остаются для томата одними из наиболее вредоносных патогенов.

Оба заболевания значительно снижают урожайность культуры, поэтому важно научиться выявлять гетерозиготные и гомозиготные образцы одновременно по генам Mi-1.2 и Tm-22, которые в дальнейшем будут использованы для селекции.

Цель проекта:

- Выявить сорта томата (Solanum lycopersicum), устойчивые одновременно к мелойдогинозу и вирусу мозаики среди новых селекционных форм

Задачи:

- 1. Дать характеристику корневой нематоде и вирусу мозаики томата как патогенов;
- 2. Изучить проблему устойчивости томата к мелойдогинозу и вирусу мозаики;
- 3. Освоить молекулярно-генетические методы работы с растительным материалом;
- 4. Проанализировать исследуемую коллекцию селекционных образцов томата Solanum lycopersicum на наличие аллелей генов Mi-1.2 и Tm-22 и выявить устойчивые сорта

Корневые галловые нематоды

Это микроскопические черви с округлым в поперечном сечение телом. 1м^{2}почвы пахотного слоя поля может содержать несколько миллионов особей нематод.

Симптомы мелойдогенез

угнетенный вид;
скручивание листьев;
прекращение роста;
образование галлов желтого оттенка;
отрастание множества нитевидных корней.

Вирус мозаики томата

РНК содержащий вирус – один из самых распространённых вирусов семейства пасленовых.

Симптомы

Образование светло- и темно-зеленой крапчатости ткани листа и отставание растения в росте.

В периоды умеренных температур листья могут приобретать папоротниколистный вид,
Тогда как при высоких температурах симптомы на листьях могут быть скрытыми.

На плодах симптомы болезни проявляются время от времени и варьируют от неравномерного созревания до побурения внутренней стенки плода.

Меры борьбы

Вирус томатной мозаики

Необходимо начинать с обеззараживания на стадии семян

В систему мер борьбы включается обеззараживание почвы и перегнойно-почвенной смеси путём пропаривания

Нематоды

Если обнаруживают зараженные растения, их аккуратно выкапывают и удаляют с участка или сжигают.

Для исключения распространения заболевания в диаметре 1м растения томатов выкапывают.

Грунт пропаривают. Избавляются от растительных остатков

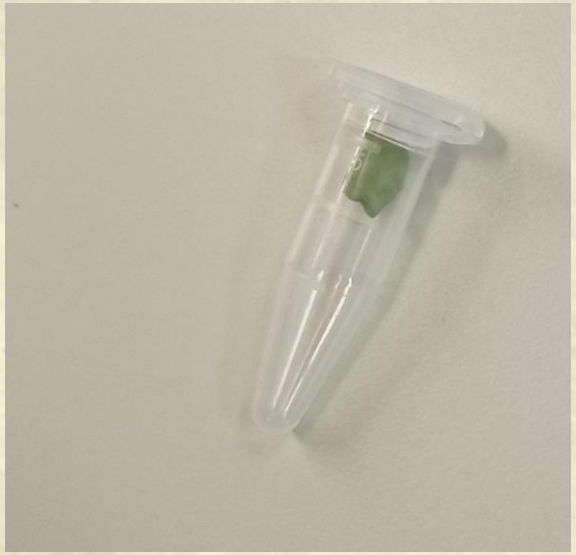
После снятия урожая сеют сидератные культуры – овес, фацелию, рожь.

Наиболее эффективным способом, обеспечивающим получение стабильных урожаев, является возделывание устойчивых сортов и гибридов

Материалы и методы исследования :

15 селекционных образцов Solanum lycopersicum

1) Выделение ДНК
2) ПЦР
3) Электрофорез



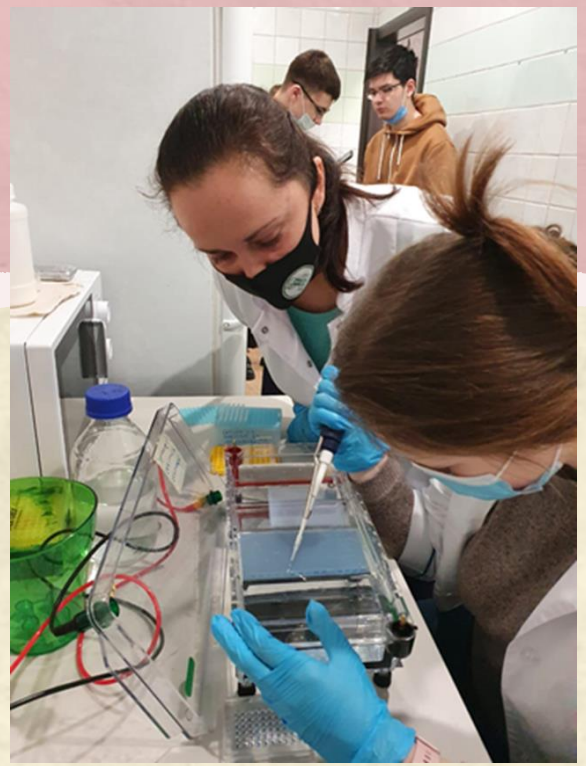
Выделение ДНК

1) Лизис (SDS, 650С, 25 мин.)
2) Центрифугирование/ AcNH4/ осаждение изопропанолом/ очистка этанолом
3) Сушка, добавление ТЕ – буфера (хранение)

Постановка ПЦР

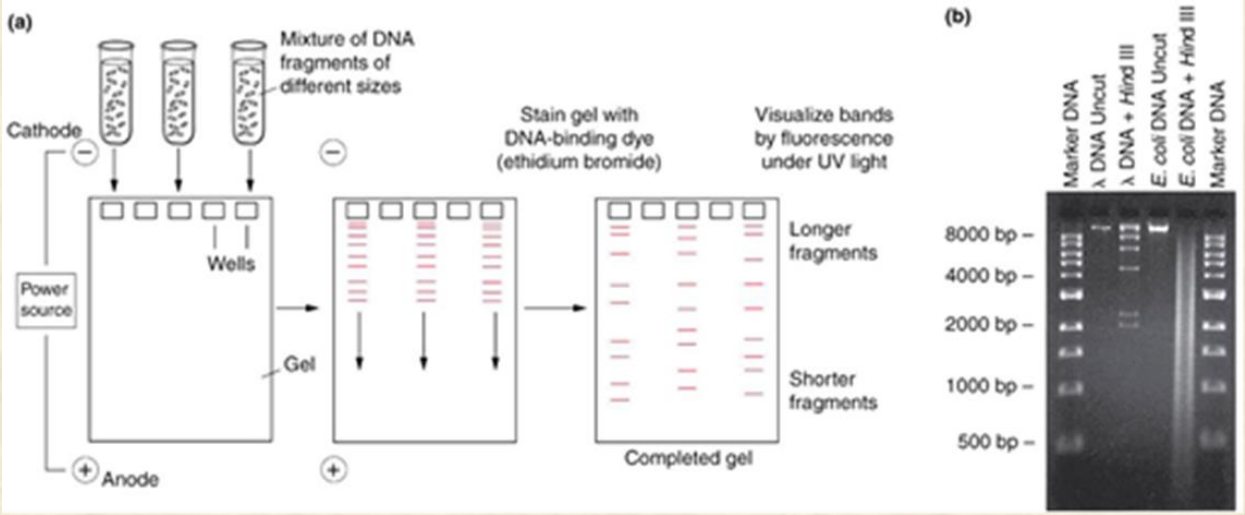
Программа амплификации

1. 95°с – 5 мин. 35 циклов:
2. 95°с – 20 сек. (денатурация)
3. 61°с – 30 сек. (отжиг праймеров)
4. 72°с – 40 сек. (элонгация)
5. Финальная элонгация – 5 минут.
6. Хранение – 4 °С бесконечно



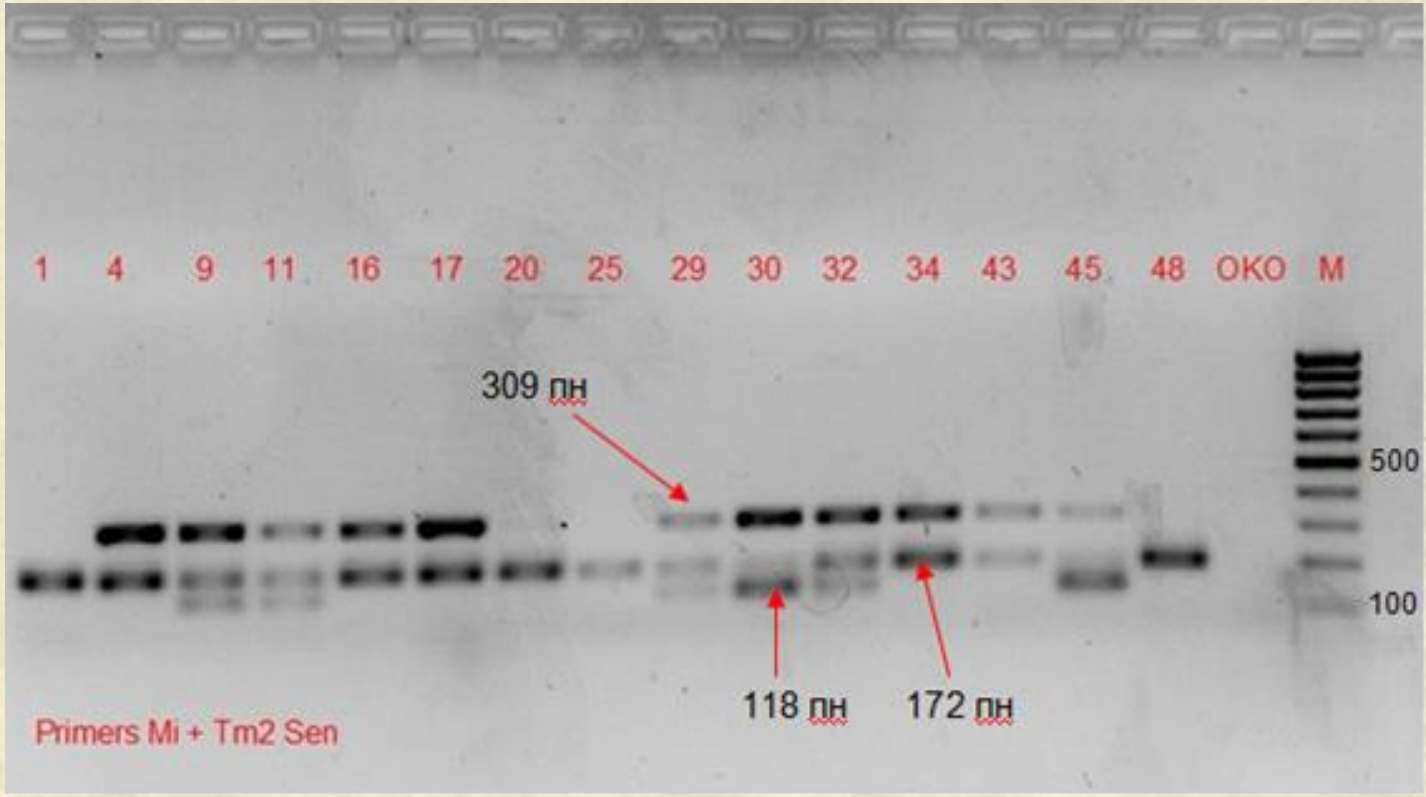
Электрофорез

1,7% агарозный гель
1х ТАЕ буфер
напряжение:
3В/см - 10 мин
3,5В/см-110мин



Результаты

Образцы 4, 9, 11, 16, 17, 29, 30, 32, 34, 43, 45 – восприимчивы к вирусу томатной мозаики (фрагмент 309 пн);
Образцы 9, 11, 29, 30, 32, 45 – гетерозиготы, устойчивы к мелойдогинозу (фрагменты 118пн и 172пн);
Образцы 1, 4, 16, 17, 20, 25, 34, 43, 48 – восприимчивы к мелойдогинозу (рецессивные гомозиготы).
Гомозиготных устойчивых к мелойдогинозу образцов не выявлено



Выводы

- Среди изучаемых селекционных образцов идентифицированы восприимчивые и устойчивые к вирусу мозаики образцы
- Выявлены гетерозиготные генотипы, устойчивые к поражению нематодами
- Выявлены генотипы, восприимчивые к мелойдогинозу
- Образцов устойчивых и к вирусу мозаики, и к поражению нематодами выявлено не было
- **Данная работа значительно сократила апробацию новых сортов на устойчивость к данным заболеваниям и позволяет продолжать разработку новых сортов**