

неизвестны факторы, запускающие этот каскад, то ген *hrpL* был клонирован на высококопийный вектор pUC18 и низкокопийный pJQ200 под контролем *lac*-промотора и введен в *Eca* JN42. Это было сделано, чтобы облегчить изучение отдельных компонентов системы секреции III типа, так как при обычных условиях культивирования не происходит индукции системы секреции.

В настоящей работе изучалось изменение экспрессии белка HrpJ под влиянием различных доз гена *hrpL*. Для этого в клетки *Eca* вводили низкокопийный и высококопийный векторы, содержащие клонированный ген *hrpL* под контролем *lac*-промотора, культивирование проводилось в условиях с индукцией ИПТГ и без индукции. Из полученных штаммов была выделена фракция клеточного белка, которая затем исследовалась на содержание белка HrpJ путем вестерн-блоттинга (использовались полученные ранее антитела к HrpJ). Было показано, что в штаммах, содержащих вектор с *hrpL*, наблюдается увеличение экспрессии белка HrpJ в 25-35 раз, причем достоверной разницы между количеством белка в случае вектора с высокой копийностью и низкой копийностью не было. Также наблюдалось незначительное различие в индуцированных ИПТГ и неиндуцированных штаммах. Из этих данных можно сделать вывод о том, что *lac*-промотор обеспечивает достаточно высокую экспрессию гена *hrpL* даже без индуктора, а введение дополнительных копий *hrpL* дальнейшего усиления экспрессии находящихся под его контролем генов не вызывает.

В ходе последующих экспериментов со штаммами *Eca* с повышенной экспрессией TTSS планируется изучить влияние различных условий культивирования на экспрессию и локализацию белка HrpJ у бактерий *Eca*.

ПОЛУЧЕНИЕ ДВОЙНОГО МУТАНТА *ERWINIA CAROTOVORA* SUBSP. *ATROSEPTICA* ПО ГЕНАМ *PELW* И *KDGR*

С.А. Скобляков

Научный руководитель – к.б.н. А.Г. Песнякевич
Белорусский государственный университет

Дефектные по синтезу внутриклеточной пектацетилазы PelW возбудители черной ножки картофеля *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Eca*) характеризуются сниженным уровнем продукции основных факторов патогенности и вирулентности – ферментов пекто-, целлюло- и протеолитического комплексов. С целью выяснения причин этого плейотропного эффекта проведено направленное получение мутации в *kdgR*-гене, кодирующем общий негативный регулятор продукции факторов патогенности и вирулентности. Для этого осуществлена трансформация бактерий *E.coli* BW19851 ДНК плазмиды pKDGR4, несущей инактивированный вставкой кассеты антибиотикорезистентности «омега» ген *kdgR*_{*Eca*}. Отобранные по наличию гентамицинрезистентности трансформанты были использованы в качестве доноров в конъюгационных скрещиваниях с бактериями *Eca* JN5084, в хромосоме которых ген *pelW* инактивирован инсерцией транспозона mini-Tn5 хуIE. Полученные в результате скрещивания трансконъюганты *Eca* JN5084 pKDGR4 высевали на среду с сахарозой (5%) и стрептомицином (10 мкг/мл) и далее сформировавшиеся на такой среде клоны проверяли на резистентность к гентамицину. ДНК одного из отобранных гентамицинчувствительных клонов была использована для проведения ПЦР в присутствии праймеров, определяющих амплификацию нуклеотидной последовательности гена *kdgR*_{*Eca*}. Электрофоретический анализ продуктов ПЦР показал наличие вставки в пределах анализируемого гена, что служит подтверждением на молекулярном уровне замены интактного гена *kdgR*_{*Eca*} на мутированный.

Фенотипическим подтверждением наличия мутации именно в гене *kdgR*_{*Eca*} являются данные по активности беспромоторного репортёрного гена хуIE, экспрессирующегося с промотора гена *pelW*. В клетках полученного двойного мутанта количество катехол-2,3-диоксигеназы в 17 раз превышает таковое в клетках *Eca* JN5084, что свидетельствует о снятии репрессии с гена *Eca* JN5084, а, следовательно, об отсутствии белка-репрессора KdgR.

В настоящее время проводится сравнительный анализ продукции факторов патогенности

и вирулентности мутантом *Eca JN5084* и полученным в ходе данного исследования двойным мутантом *pe1W::mini-Tn5 xylE, kdgR:: «омега»*.

ОСОБЕННОСТИ ЦВЕТЕНИЯ И ПЛОДООБРАЗОВАНИЯ ЯРОВОГО РАПСА

Н.С. Воробьева

Научный руководитель – к.с.-х.н., доцент *Г.А. Жолик*

Белорусская государственная сельскохозяйственная академия

В Республике Беларусь в настоящее время принята программа "Растительное масло" для выполнения которой необходимо подключить использование всех имеющихся ресурсов. Одним из путей решения данной программы является увеличение производства маслосемян ярового рапса. Яровой рапс наиболее подходящая для возделывания в условиях республики культура. Не смотря на достаточно широкие научные исследования и практический опыт в работе с этой культурой средняя урожайность семян в республике находится на уровне 6-9 ц/га при возможности сбора семян до 30-40 ц/га. Это в первую очередь связано с низкой реализацией биологического потенциала культуры.

Цель нашей работы - изучить динамику цветения, плодообразования ярового рапса, установить завязываемость и сохраняемость плодов к уборке в зависимости от погодных условий на различном фоне азотного питания.

Исследования проводились в 2000, 2002-2003 годах на опытном поле БГСХА с сортом ярового рапса "Явар". Опытное поле имеет выравненный рельеф с глубоким залегание грунтовых вод. Почва опытных участков дерново-подзолистая, легко суглинистая, развивающаяся на лесовидном суглинке, подстилаемая с глубины около 1 м моренным суглинком. Схема опыта была следующей: 1) контроль; 2) 60 кг д.в. азота в предпосевное внесение (N60); 3) 60 кг д.в. азота в предпосевное внесение + 30 кг д.в. в подкормку в фазу розетки (N60+30); 4) N 90; 5) N 90+30; 6) N 90+60; 7) N 120; 8) N 120+30; 9) N 150; 10) N 180. Фосфорные и калийные удобрения вносились в дозе 90 кг д.в. P₂O₅ и 90 кг д.в. K₂O.

Проведенные исследования показали, что различные погодные условия по годам исследования создавали различную картину хода цветения и плодообразования ярового рапса. Дефицит влаги и высокая температура в 2002г способствовали высокой интенсивности цветения. На растении отмечалось значительно больше цветков (максимальное количество распустившихся бутонов в сутки находилось на уровне 33-99шт) по сравнению с более влажным 2000 и 2003 г.г. (24-50шт в сутки). В условиях дефицита влаги в 2002 году отмечалось увеличение количества осыпавшихся цветков и завязей плодов на растениях (в 1,5-3 раза больше чем в 2000 и 2003 г.г.), кроме того продолжительность жизни цветка сокращается с 1-4 суток (2000, 2003гг) до 1-2 суток (2002г.). Цветки ярового рапса в первые сутки жизни отличны от цветков распустившихся на 2-4 сутки, что проявляется в более бледной окраске и ином угле наклона лепестков.

Установлено, что период цветения у ярового рапса по годам варьирует слабо и составляет 30 дней (± 4 дня), т.е. погодные условия сильнее влияют на картину цветения, чем на его продолжительность.

Отмечено, что наблюдается рост сформировавшихся и сохранившихся плодов с увеличением доз азотных удобрений, особенно до уровня N 90+30 кг д.в. При дальнейшем увеличении дозы азота увеличении урожайности происходит медленнее.

Т.о. изменяя условия произрастания ярового рапса путем применения комплекса агротехнических мероприятий в т.ч. использование достаточного количества азотного удобрения можно значительно повысить индивидуальную семенную продуктивность ярового рапса, а значит увеличить сбор семян в целом.