

«УТВЕРЖДАЮ»



директор ФГБНУ ВНИИСБ

Карлов Г.И. .

2019г.

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПЛАН РАБОТЫ АСПИРАНТА

Фамилия, имя, отчество **Блинова София Алексеевна**

Срок обучения с 1 февраля 2019 г по 31 августа 2021 г.

Лаборатория Лаборатория клеточной инженерии растений

Специальность 03.01.06 биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Тема диссертации

Разработка комплекса диагностических ПЦР-тест систем для выявления и видовой идентификации возбудителей грибных болезней древесины винограда

Научный руководитель д.б.н. А.А. Соловьев

Пояснительная записка к выбору темы диссертации

Актуальность темы диссертации основывается на необходимости создания диагностических систем для идентификации фитопатогенных грибов винограда основанных на методах полимеразной цепной реакции и проведения скрининговых исследований с помощью молекулярно-генетических методов на территории виноградных насаждений Южнобережного агроклиматического района полуострова Крым и Краснодарского края. На сегодняшний день, основная часть исследований по скринингу и диагностике посадочного материала винограда, как собственного, так и привозного, проводится по визуальным признакам. Наличие латентной фазы у большинства возбудителей болезней древесины винограда делает такой метод диагностики нецелесообразным. Методы диагностики, основанные на полимеразной цепной реакции помимо высокой чувствительности и специфичности, позволяют выявлять и идентифицировать возбудителей на любой стадии заражения растения.

Целью работы является разработка комплекса диагностических ПЦР-тест систем для выявления и видовой идентификации возбудителей грибных болезней древесины винограда: *Phaemoniella chlamydospora*, *Togninia minima*, *Fomotiporia mediterranea*, *Diplodia seriata*, *Eutypa lata*,

Campylocarpon fasciculare, Campylocarpon pseudofasciculare, Ilyonectria destructans, Ilyonectria liriodendra, Dactylonectria macrodidyma, Dactylonectria pauciseptata.

Задачами работы являются:

1. Оптимизировать пробоподготовку и разработать метод выделения нуклеиновых кислот фитопатогенов различной природы из винограда;
2. Дизайн праймеров для создания мультиплексных ПЦР систем;
3. Разработка мультиплексной ПЦР-тест системы для выявления 11 возбудителей болезней древесины винограда методом капиллярного электрофореза;
4. Разработка наборов реагентов, основанных на мультиплексной количественной ПЦР в реальном времени, для выявления и идентификации возбудителей болезней древесины винограда: Эска, болезнь Петри, сухорукавность, черная ножка винограда;
5. Апробация ПЦР-систем на зараженном материале;
6. Оценка генетического полиморфизма фитопатогенных грибов возбудителей болезней древесины винограда, на территории Южнобережного агроклиматического района полуострова Крым и Краснодарского края.

Предполагается создание комплекса тест - систем, основанных на ПЦР-в реальном времени с возможностью количественной оценки исходной концентрации ДНК грибов, вызывающих болезни древесины винограда, в пробе и ПЦР тест-системы для одновременного обнаружения ДНК грибов методом капиллярного гель-электрофореза. С помощью разработанной технологии планируется впервые провести апробацию ПЦР систем на зараженном материале, полученном с территории Южнобережного агроклиматического района полуострова Крым и Краснодарского края с использованием молекулярно-генетических методов. В ходе исследований планируется впервые провести описание генетического полиморфизма целевых грибов на исследуемой территории с использованием методов полногеномного секвенирования.

Результаты исследования позволят проводить диагностику грибных возбудителей болезней древесины винограда на любой стадии заражения, в том числе выявление заболевания в латентной фазе его развития, а также диагностику посадочного материала, в том числе подвойных и привойных растений, с использованием методов, основанных на полимеразной цепной реакции. Для некоторых из исследуемых фитопатогенных грибов нет допущенного к использованию фунгицида и своевременная диагностика дает возможность оперативного удаления пораженных растений

Рабочий телефон sofya.blinova@yandex.ru

Аспирант





Научный руководитель





I. Экзамены кандидатского минимума:

(оценка, дата сдачи экзамена)

Английский язык _____

Философия _____

Специальность _____

II. Научная работа

ПЕРВЫЙ ГОД ОБУЧЕНИЯ

Что планируется выполнить (включая публикацию статей)

1-ый год подготовки.

1) Создание мультиплексной системы для выявления 11 возбудителей болезней древесины винограда методом капиллярного гель-электрофореза.

2) Оценка повторяемости, специфичности и воспроизводимости результатов разработанной системы.

3) Разработка и оптимизация методов пробоподготовки и выделения НК фитопатогенов из растений винограда.

4) Апробация разработанной мультиплексной системы на зараженном материале.

5) Дизайн праймеров для изучения генетического разнообразия исследуемых грибов.

6) Публикация по теме диссертации в научном издании.

Отчет аспиранта о проделанной работе:

Аспирант _____

Заключение научного руководителя:

Научный руководитель _____

Решение метод. комиссии от _____ г. об аттестации за первый год обучения

Председатель комиссии:

Научный руководитель института

академик РАН _____

Харченко П.Н.

Зав. аспирантурой

к.х.н. _____

Елинова В.И.

ВТОРОЙ ГОД ОБУЧЕНИЯ

что планируется выполнить (заполняется при аттестации за первый год обучения)

2-ой год подготовки.

1) Разработка мультиплексных ПЦР-РВ тест систем с возможностью количественной оценки исходной концентрации ДНК грибов в пробе.

2) Определение аналитических характеристик разработанных систем: чувствительности, специфичности, воспроизводимости, повторяемости.

3) Апробация разработанных ПЦР-РВ тест систем на зараженном материале.

4) Отработка разработанной технологии (выделение НК фитопатогенов, постановка ПЦР и последующего капиллярного гель-электрофореза для обнаружения исследуемых грибов, постановка ПЦР-РВ для количественного анализа обнаруженных патогенов)

5) Публикация полученных результатов в научном издании.

6) Участие в конференциях, семинарах и т.п.

7) Оформление диссертации.

8) Апробация диссертационной работы на научном семинаре ФГБНУ ВНИИСБ.

9) Представление диссертационной работы к защите в диссертационный совет ФГБНУ ВНИИСБ.

Отчет аспиранта о проделанной работе:

Аспирант _____

Заключение научного руководителя:

Научный руководитель _____

Решение метод. комиссии от _____ г. об аттестации за первый год обучения

Председатель комиссии:

Научный руководитель института

академик РАН _____ Харченко П.Н.

Зав. аспирантурой

к.х.н. _____ Елинова В.И.