

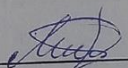
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология


ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
АНТИМИКРОБНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ИЗОЛЯТА ЭНДОФИТНЫХ
БАКТЕРИЙ КАРТОФЕЛЯ

Обучающийся 4 курса
группы 01-901
"14" июня 2023 г.




Миннуллина Л.Н.

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент
"14" июня 2023 г.



Карамова Н.С.

Заведующий кафедрой
микробиологии
д-р биол. наук, профессор
"14" июня 2023 г.



Ильинская О.Н.

Казань – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Экологические ниши и биоразнообразие эндофитных микроорганизмов	7
1.2 Эндофитные микроорганизмы растений картофеля	10
1.3 Эндофитные микроорганизмы как перспективные агенты биологического контроля фитопатогенов	11
1.3.1 Фитопатогенные микроорганизмы	11
1.3.2. Антагонистический потенциал эндофитных микроорганизмов в отношении грибных фитопатогенов.	16
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	22
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	22
2.1 Материалы	22
2.1.1 Объект исследования	22
2.1.2 Тестерные микроорганизмы	22
2.1.3 Растительный материал	22
2.1.4 Питательные среды и растворы	22
2.2 Методы исследования	24
2.2.1 Приготовление инокулята бактерий и грибов	24
2.2.2 Экстрагирование культуральной жидкости эндофитной бактерии	24
2.2.3 Методы оценки антимикробной активности	25
2.2.3.1 Метод агаровых блоков	25
2.2.3.2 Диско-диффузионный метод	26
2.2.3.3 Оценка антимикробной активности эндофитного штамма на микрорастениях картофеля в условиях <i>in vitro</i>	26
2.2.4 Оценка влияния эндофитного штамма на прорастание спор тестерных грибов	28

2.2.5 Исследование способности эндофитного штамма продуцировать сидерофоры	28
2.2.5.1 Качественный метод определения продукции сидерофор на плотной питательной среде	28
2.2.5.2 Количественный метод определения продукции сидерофор	28
2.2.6 Характеристика генетических детерминант синтеза потенциальных антимикробных метаболитов в геноме эндофитного штамма	29
2.2.7 Статистический анализ результатов	29
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	31
3.1 Оценка антагонистического потенциала эндофитного штамма	31
3.2 Влияние эндофитного штамма на прорастание спор грибов	32
3.3 Антимикробный эффект экстракта культуральной жидкости эндофитного штамма	34
3.4 Антимикробный потенциал эндофитного штамма в отношении фитопатогена <i>Rhizactonia solani</i> на асептических микрорастениях картофеля в условиях <i>in vitro</i> .	36
3.5 Способность эндофитного штамма продуцировать сидерофоры	37
3.6 Характеристика генетических детерминантов, ответственных за синтез антимикробных метаболитов	39
ВЫВОДЫ	44
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	45

ВВЕДЕНИЕ

Большое значение для сельскохозяйственного производства имеет поддержание качества культурных растений и увеличение их продуктивности. В настоящее время все большее внимание уделяется биологическим методам повышения урожайности экономически важных культур. Весьма перспективными кандидатами для создания биопрепаратов являются эндофитные микроорганизмы, так как они обладают высокой биологической активностью, а именно способны стимулировать рост растений, улучшать их питание, снижать уровень заболеваемости растений, вызванных патогенными грибами, вирусами и бактериями [Lacava *et al.*, 2022]. В нашей стране потери зерна пшеницы от фитопатогенов составляют в среднем 12.4%, что в сумме означает недополучение одной трети урожая (34%) [Кекало с соавт., 2017]. По данным, опубликованным Организацией по сельскохозяйственным вопросам и продовольствию при ООН (ФАО), мировые потери урожая картофеля от болезней ежегодно составляют 88.9 млн. т на сумму 3.4 млрд. долл., или 11.6% валового сбора, что в 2 раза превышает потери зерновых культур, овощей и сахарной свеклы [Неменуцкая, 2020]. В России фитофтороз, альтернариоз, вирусные и бактериальные болезни уничтожают в среднем 20-40% урожая картофеля, из них в зависимости от погодных условий 25-75% приходится на долю бактериозов, около 7% – вирусных болезней [Жевора, 2019]. Поэтому своевременное выявление и борьба с патогенами, вызывающими болезни картофеля, являются важным резервом увеличения его производства.

Эндофитные бактерии могут обладать следующими позитивными функциями: переводят атмосферный азот в доступные для усвоения формы, солюбилизируют нерастворимые соединения фосфора, тем самым улучшая азотное и фосфорное питание растения-хозяина, соответственно; синтезируют фитогормоны, стимулирующие усиленный рост растений; усиливают резистентность растения-хозяина к действию фитопатогенов и абиотических факторов окружающей среды.

Целью данного исследования явилась оценка антимикробного потенциала эндофитного штамма, выделенного из растений семенного картофеля.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

1) Оценить фунгистатический потенциал эндофитного штамма в отношении фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani* VKM F-895, *Colletotrichum coccodes* C18TKC3, *Fusarium oxysporum* DR57.

2) Оценить влияние эндофитного штамма на прорастание спор фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani* VKM F-895, *Colletotrichum coccodes* C18TKC3, *Fusarium oxysporum* DR57.

3) Определить антимикробный эффект этилацетатного экстракта культуральной жидкости эндофитного штамма на грибные и бактериальные фитопатогены.

4) Охарактеризовать антимикробное действие эндофитного штамма в отношении фитопатогена *Rhizactonia solani* на асептических микрорастениях картофеля в условиях *in vitro*.

5) Определить способность эндофитного штамма синтезировать сидерофоры.

6) Охарактеризовать генетические детерминанты, ответственные за синтез потенциальных антимикробных вторичных метаболитов, в геноме эндофитного штамма.

ВЫВОДЫ

1) Эндوفитный штамм растений картофеля обладает фунгистатическим потенциалом в отношении фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani* VKM F-895, *Colletotrichum coccodes* C18TKC3, *Fusarium oxysporum* DR57.

2) Исследованный эндوفитный штамм замедляет прорастание спор фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani* VKM F-895, *Colletotrichum coccodes* C18TKC3, *Fusarium oxysporum* DR57.

3) Этилацетатный экстракт культуральной жидкости эндوفитного штамма проявляет дозо-зависимый антимикробный эффект в отношении шести штаммов фитопатогенных бактерий и грибов.

4) Штамм эндوفитных бактерий картофеля проявляет протекторный эффект в отношении асептических микрорастений картофеля в условиях развития инфекции, вызванной фитопатогеном *Rhizactonia solani*.

5) Эндوفитный штамм продуцирует сидерофоры. Пик синтеза сидерофор наблюдается на 24 час роста бактерий.

6) Геном эндوفитного штамма, выделенного из листьев картофеля, содержит генные кластеры, ответственные за синтез потенциальных вторичных метаболитов разных классов: сидерофоры, биосурфактанты, терпеновые соединения.