

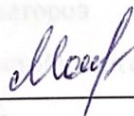
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки (специальность): 06.04.01 – Биология

Профиль (специализация, магистерская программа): Микробиология и вирусология

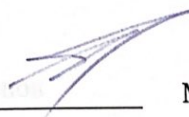
МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБНОСТИ РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИХ
РИЗОБАКТЕРИЙ К ПОВЫШЕНИЮ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ
РАСТЕНИЙ

Обучающийся 2 курса
группы 01-940-2



О.Э. Моисеева

Научный руководитель
Асс., б.с.



М.Т. Лутфуллин

Заведующий кафедрой микробиологии
д-р биол. наук, профессор



О.Н. Ильинская

Казань – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ЮБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Растительная микробиота и микробиом	7
1.1.1 Ризобиом	8
1.2 Характеристика ризобактерий, способствующих росту растений	9
1.2.1 Ризобактерии в качестве биоудобрений	10
1.2.1.1 Фосфатгидролизующая активность	10
1.2.1.2 Азотфиксирующая активность	12
1.2.1.3 Сидерофоры	13
1.2.2 Ризобактерии в качестве фитостимуляторов	16
1.2.2.1 Ауксины	16
1.2.2.2 Цитокинины	18
1.2.2.3 Гиббереллины	18
1.2.2.4 АЦК - дезаминазная активность	19
1.2.3 Колонизирующая активность	21
1.2.4 Ризобактерии в качестве биопестицидов	22
1.2.5 Ризобактерии в качестве ремедиаторов	23
1.2.6 Роль ризобактерий в развитии устойчивого сельского хозяйства	23
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	25
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	25
2.1 Объект исследования, отбор образцов	25
2.2 Питательные среды и условия культивирования	25
2.3 Анализ бактериальных сообществ ризосферы и ризопланы картофеля сорта Жуковский ранний в разные вегетационные периоды	26
2.3.1 Выделение ДНК	26

2.3.2 Анализ бактериального сообщества	27
2.3.3 Биоинформатический анализ	27
2.4 Выделение бактерий из ризосферы картофеля	27
2.5 Идентификация на MALDI BioTyper (Bruker Daltonik)	28
2.6 Изучение морфологии бактерий	28
2.7 Определение продукции ИУК	28
2.8 Исследование ростостимулирующей активности бактерий	29
2.9 Исследование способности ризосферных штаммов к стимуляции роста и развития растений в условиях солевого стресса	30
2.10 Статистическая обработка результатов	30
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	31
3.1 Анализ бактериальных сообществ ризосферы и ризопланы картофеля	31
3.1.1 Альфа и бета-разнообразие бактериальных популяций	31
3.1.2 Анализ динамики изменения структуры основных групп бактерий между компартментами и в зависимости от стадии роста растений	33
3.2 Выделение, описание морфологии, идентификация ризосферных изолятов	39
3.3 Исследование динамики роста ризосферных бактерий на средах LB и M9	40
3.4 Исследование синтеза ауксинов ризосферными бактериями	40
3.5 Исследование ростостимулирующей активности ризосферных бактерий	43
3.6 Исследование влияния ризосферных бактерий на солеустойчивость растений пшеницы	45
ВЫВОДЫ	48
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	49

ВВЕДЕНИЕ

Различные виды биотических и абиотических стрессов влияют на характеристики роста, продуктивность и выживаемость сельскохозяйственных культур. К числу абиотических стрессов относятся высокие и низкие температуры, соленость, засуха, наводнения, ультрафиолетовое излучение, загрязнение воздуха (озон) и тяжелые металлы. Абиотические стрессы являются основными лимитирующими факторами для сельскохозяйственного производства во всем мире. Потери урожая, связанные с абиотическими стрессовыми условиями, могут достигать 50-82% в зависимости от типа сельскохозяйственной культуры и периода стресса [Kumari *et al.*, 2019].

Растения являются нишей для роста и размножения разнообразных микроорганизмов: бактерий, грибов, простейших, нематод и вирусов. Эти микроорганизмы образуют сложные коассоциации с растениями и играют важную роль в повышении их стрессоустойчивости и продуктивности в естественной среде [Niu *et al.*, 2017]. Сложные коассоциации растений и микробных сообществ состоят из различных бактериальных таксонов, среди которых выделяют полезные, нейтральные и патогенные микроорганизмы. В последние годы благодаря высокопроизводительному секвенированию значительно расширился качественный и количественный состав микробных сообществ, которые образуют коассоциации с растениями [Jiang *et al.*, 2017]. Растения, ассоциированные с РСРР, выдерживают стрессовые условия, которые могут изменить их физиологические и биологические свойства из-за проявления белков, устойчивых к холоду, жаре, засухе, засолению и щелочности [Vejan *et al.*, 2016]. Эти стрессы являются основным препятствием для повышения урожайности, качества продуктов питания и глобальной продовольственной безопасности. Альтернативным решением проблемы влияния стресса на растения является изучение методов взаимодействия растений с микробным сообществом [Delshadi *et al.*, 2017].

Известно, что инокуляция растений бактериями, стимулирующими рост растений (БСРР), модулирует регуляцию абиотического стресса через прямые и косвенные механизмы, которые индуцируют системную устойчивость растений [Prasad *et al.*, 2019]. Применение стрессоустойчивого микробного консорциума штаммов БСРР может быть использовано для усиления роста растений в условиях абиотического и биотического стресса. Эти микробы могут способствовать росту растений путем регулирования гормонов растений, улучшения питания, образования сидерофоров и усиления антиоксидантной системы. БСРР способны продуцировать гидролитические ферменты и биоактивные соединения, такие как гиббереллины и индолилуксусная кислота, в условиях засухи и присутствия в среде тяжелых металлов и солей. Известно, что БСРР способны увеличивать урожайность растений в условиях стресса [Kumari *et al.*, 2019]. Актуальным является изучение ассоциации растений и БСРР в условиях абиотического и биотического стресса.

Целью работы являлась характеристика бактериальных сообществ ризосферы и ризопланы картофеля и исследование ростостимулирующих свойств ризосферных бактерий

Для достижения этой цели были поставлены следующие **задачи**:

- 1) Характеристика бактериальных сообществ ризосферы и ризопланы картофеля сорта Жуковский ранний в разные вегетационные периоды
- 2) Выделение, идентификация и изучение способности ризосферных бактерий к синтезу индолил-3-уксусной кислоты
- 3) Изучение влияния ризосферных бактерий на рост корней и стеблей растений пшеницы
- 4) Изучение способности ризосферных бактерий к повышению устойчивости растений пшеницы к абиотическим факторам

ВЫВОДЫ

1) Сравнительный анализ бактериальных сообществ корней картофеля сорта Жуковский ранний показал, что в ризосфере и ризоплане всех образцов доминировали бактерии из фил *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. В фазе цветения представленность бактерий рода *Pseudomonas*, относящихся к классу *Gamma**proteobacteria*, была выше в ризоплане (10.98%) по сравнению с ризосферой (5.49%), в то время как в фазе старения представленность этих бактерий в ризоплане снижалась до 8.58%, в ризосфере незначительно повышалась (5.63%). Бактериальные популяции ризосферы и ризопланы картофеля являются мобильными, зависят и от компартмента, и от фазы роста растений.

2) Из ризосферы картофеля выделены 6 изолятов, идентифицированные как *Pseudomonas putida* MG-8, *Pseudomonas libanensis* MG-3, *Pseudomonas* sp. D4, *Pseudomonas* sp. D5, *Ochrobactrum grignonense* MG-4 и *Achromobacter spanius* MG-5. Максимальный синтез ИУК (27.90 ± 0.70 мкг/мл) на среде LB наблюдали у штамма *P. putida* MG-8, на среде M9 (триптофан-независимый путь синтеза) – у штаммов *P. libanensis* MG-3, *O. grignonense* MG-4 и *B. subtilis* GM27.

3) Инокуляция семян пшеницы бактериями *P. putida* MG-8 и *O. grignonense* MG-4 повышает биомассу корней и листьев проростков. При обработке *P. putida* MG-8 прирост сухой биомассы листьев составлял $4.17 \pm 0.10\%$, корней – $3.54 \pm 0.09\%$. При обработке *O. grignonense* MG-4 прирост сухой биомассы листьев составлял $11.68 \pm 0.30\%$, корней – $13.04 \pm 0.33\%$.

4) Бактерии *P. putida* MG-8 и *O. grignonense* MG-4 позитивно влияют на рост растений в условиях засоленности, подавляя ингибирующий эффект соли. Обработка растений суспензией бактерий *P. putida* MG-8 снижала ингибирование роста корней и листьев на $33.75 \pm 0.84\%$ и $19.29 \pm 0.48\%$ соответственно.