

**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  
ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ  
ОКОЛОКОРНЕВОЙ ЗОНЫ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ СОРТА ГАЛА**

Обучающийся 4 курса  
группы 01-905

" 13 " июня 2023 г.



Горбунова М.А.

Научный руководитель

Д-р биол. наук, доцент

" 13 " июня 2023 г.



Марданова А.М.

Заведующий кафедрой  
микробиологии

Д-р биол. наук, профессор

" 13 " июня 2023 г.



Ильинская О.Н.

Казань – 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	7
1.1 Общая характеристика ризосферы почвы .....	7
1.2 Роль ризосферных бактерий в физиологии растений .....	9
1.3 Биоконтрольная роль ризобактерий.....	12
1.4 Ризосферные бактерии как основа биопрепаратов .....	17
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	24
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	24
2.1 Объект исследования.....	24
2.2 Питательные среды и условия культивирования .....	24
2.3 Исследование микрофлоры ризосферы картофеля сорта Гала.....	25
2.4 Окраска по Граму .....	25
2.5 Выделение чистой культуры микромицетов .....	26
2.6 Исследование патогенности выделенных микромицетов.....	26
2.7 Исследование фунгицидной активности бактерий .....	26
2.8 Модельный эксперимент на растении картофеля .....	26
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....	28
3.1 Характеристика микробиоты ризосферы картофеля сорта Гала.....	28
3.1.1 Сравнительная характеристика микробных сообществ ризосферы здоровых и инфицированных растений картофеля.....	28
3.1.2 Сравнительный анализ структуры грибных сообществ ризосферы картофеля сорта Гала .....	29
3.2 Выделение микромицетов рода <i>Fusarium</i> и характеристика их вирулентности.....	31
3.3 Скрининг лабораторной коллекции штаммов <i>Bacillus</i> sp. на антигрибковую активность.....	34
3.4 Исследование влияния <i>Bacillus</i> sp. 1 на рост и развитие картофеля в условиях наличия и отсутствия инфекционной нагрузки.....	37
3.4.1 Измерение параметров роста и развития растений картофеля.....	38

3.4.2 Анализ влияния штамма <i>Bacillus</i> sp. 1 на микробиоту свободной почвы прикорневой зоны растений картофеля.....	40
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>42</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....</b>	<b>43</b>

ВУБА - метод определения содержания хитиназа

ИПТ - метод определения титра

ССС - метод определения содержания

СК - метод определения

СА - метод определения

ИМ - метод определения содержания

ЛА - метод определения

НО - метод определения

ICR - Plant Growth Regulation

ICM - Plant Growth-Stimulating Microbes

ICP - Plant Growth-Promoting

IP - Plant Growth-Promoting Bacteria

IR - Plant Growth-Promoting

IS - Plant Growth-Promoting

IT - Plant Growth-Promoting

IV - Plant Growth-Promoting

## ВВЕДЕНИЕ

Распространенной проблемой для растущего населения Земли является применение чрезмерного количества химических удобрений для повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Все более широкое использование химических удобрений привело к ухудшению почвы обрабатываемых земель и развитию устойчивости у серьезных патогенов для растений, что оказало огромное влияние на мировое сельское хозяйство [Xiang *et al.*, 2023]. Использование химических удобрений оказывает вредное воздействие на окружающую среду, начиная от парникового эффекта, загрязнения нитратами подземных и поверхностных вод, проблем с качеством воды, снижения уровня кислорода и опасности для рыбных запасов, прямого воздействия на здоровье человека [Rana *et al.*, 2020].

В последнее время интенсивное сельскохозяйственное производство побуждает уделять больше внимания защите сельскохозяйственных культур от патогенов, снижающих урожайность, а также микробиологическому качеству этих культур как сырья [Cazorla *et al.*, 2007]. Производство продуктов питания наряду с агроэкологической устойчивостью может быть достигнуто путем поощрения фермеров использовать экологически устойчивые продукты, такие как биоудобрения и биопестициды, состоящие из живых микробов или растительного экстракта, вместо химических компонентов [Devi *et al.*, 2022].

Особое внимание исследователей в данной области привлекает использование биоудобрений. Микробиологические удобрения могут эффективно обеспечить экологически чистое и устойчивое развитие агропромышленного производства [Nosheen *et al.*, 2021]. В этой связи актуальны исследования по применению и стабильности различных биопестицидов. Живые клетки микробов, являются лучшей заменой химическим удобрениям, благодаря их способности обеспечивать растения питательными веществами через их корневую систему, а также бороться с

различными болезнями, переносимыми почвой, улучшать здоровье и свойства почвы [Rana *et al.*, 2020]. Например, стимулирующие рост растений ризобактерии (PGPR) широко используются в консорциумах для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и преодоления стресса [Wang *et al.*, 2022].

Возросшая обеспокоенность по поводу воздействия химических веществ на окружающую среду привела к росту интереса к стратегиям биоконтроля. Так, альтернативным подходом контроля, например, грибковых или бактериальных фитопатогенов может быть использования отобранных бактерий-антагонистов [Tan *et al.*, 2013]. На сегодняшний день одними из перспективных биоконтрольных бактерий являются представители рода *Bacillus*. Однако мы еще плохо понимаем, как происходят сложные взаимодействия между растениями, их патогенами и почвенной микробиотой, что и определяет развитие болезней в естественных полевых условиях [Wei *et al.*, 2019].

В связи с изложенным выше, целью настоящей работы стал сравнительный анализ микробиоты прикорневой зоны растений картофеля, поиск активных штаммов и оценка их потенциала как агентов биоконтроля.

В ходе работы решали следующие задачи:

- 1) Сравнительный анализ ризосферных микробных сообществ условно-здоровых и инфицированных растений картофеля.
- 2) Анализ структуры грибных сообществ ризосферы здоровых и инфицированных растений картофеля.
- 3) Выделение микромицетов рода *Fusarium* из ризосферы и характеристика их вирулентности.
- 4) Скрининг лабораторной коллекции штаммов *Bacillus* sp. на фунгистатическую активность. Отбор активного штамма.
- 5) Оценка биоконтрольных и ростостимулирующих свойств штамма *Bacillus* sp. в модельном эксперименте с растениями картофеля.

## ВЫВОДЫ

- 1) Сравнительный анализ структуры микробиоты ризосферной почвы условно-здоровых и больных растений картофеля свидетельствуют о доминировании в микробиотах бактерий и актиномицетов, а также о вариабельности численности микробных сообществ в различных образцах.
- 2) В структуре грибных сообществ ризосферы здоровых и инфицированных растений картофеля преобладали микромицеты родов *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor* и *Aspergillus*. При этом, в ризосфере здоровых растений картофеля доминировали представители *Fusarium* (47.9%), тогда как в ризосфере инфицированных растений – *Penicillium* (42%).
- 3) Из ризосферы картофеля выделены три изолята микромицетов *Fusarium* sp., которые различались способностью вызывать сухую гниль в клубнях картофеля.
- 4) Скрининг лабораторной коллекции из 13 штаммов *Bacillus* sp., выделенных ранее из ризосферы, по антагонистической активности в отношении *Fusarium oxysporum* и *Alternaria alternata* показал, что штаммы различаются по антигрибковой активности. Для дальнейших исследований был отобран штамм с наибольшей фунгистатической активностью – *Bacillus* sp. 1.
- 5) В модельном опыте продемонстрировали положительное влияние на рост и развитие растений картофеля бактерий *B. subtilis* 1. Показали, что инфицирование почвы патогенным штаммом *Fusarium oxysporum* негативно влияет на развитие растений картофеля. Обработка клубней штаммом *B. subtilis* 1 подавляет негативное влияние патогенных грибов на растение и снижает инфекционную нагрузку в прикорневой почве. Штамм *B. subtilis* 1 обладает биоконтрольными свойствами.