

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 (магистерская программа): Микробиология и вирусология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛА ИЗОЛЯТОВ *PANTOEA BRENNERI* К
КОЛОНИЗАЦИИ РАСТЕНИЙ И ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В КАЧЕСТВЕ
БИОУДОБРЕНИЙ

Обучающийся 2 курса
группы 01-240-2




Беркутова Е.С.

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент



Сулейманова А.Д.

Заведующий кафедрой микробиологии
д-р биол. наук, профессор



Ильинская О.Н.

СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ	2
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Ризосферные микроорганизмы	7
1.2 Факторы, способствующие колонизации ризосферы растений	9
1.3 Характеристика рода <i>Pantoea</i> как одного из представителей ризосферной микрофлоры	10
1.4 Взаимодействие рода <i>Pantoea</i> с растениями	11
1.5 Использование микроорганизмов как биоудобрений	12
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	15
2.1 Штаммы бактерий и плазмиды	15
2.2 Питательные среды и условия культивирования	16
2.3 Получение трансформантов методом электропорации	16
2.4 Продукция маркерных флюоресцентных белков	17
2.5 Динамика роста	17
2.6 Динамика продукции ИУК	18
2.7 Продукция сидерофоров	18
2.8 Экстракция метаболитов на среде M9	19
2.9 ВЭЖХ-анализ смеси метаболитов	19
2.10 Фунгицидная активность смеси метаболитов	19
2.11 Формирование биопленок	20
2.12 Колонизация лабораторных растений	20
2.12 Выживаемость в почве	22
2.13 Взаимодействие с пестицидами	23
2.14 Математическая обработка результатов	23
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	24

3.1 Получение штаммов <i>P. brenneri</i>, несущих флуоресцентные белки	24
3.2 Продукция маркерных флюоресцентных белков	26
3.3 Динамика роста	30
3.4 Динамика продукции ИУК	31
3.5 Продукция сидерофоров	31
3.6 ВЭЖХ-анализ смеси метаболитов	33
3.7 Фунгицидная активность смеси метаболитов <i>P. brenneri</i> 3.2	34
3.8 Формирование биопленок	36
3.7 Колонизация лабораторных растений	37
3.8 Выживаемость в почве	39
3.9 Взаимодействие с пестицидами	40
ВЫВОДЫ	43
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	44

ВВЕДЕНИЕ

Почвенные микробные сообщества играют важную роль в функционировании растений, влияя на их рост и развитие. Хотя многие из представителей почвенной микрофлоры полезны или нейтральны для растений, ризосферу колонизируют и фитопатогенные микроорганизмы. Несмотря на широкое признание важности почвенного микробиома для роста растений, механизмы положительного влияния ризосферных микроорганизмов не до конца известны. По этой причине в настоящее время активно изучается влияние почвенных микроорганизмов на развитие растений, в том числе их способность колонизировать ризосферу и сами корни.

Pantoea brenneri является одним из видов микроорганизмов, выделенных из прикорневой зоны растений. Их способность к продукции индол-3-уксусной кислоты (ИУК), синтезу соединений с антибиотической активностью и различных гидролитических ферментов позволяет отнести представителей данного вида к потенциальным кандидатам на роль биоудобрений.

Целью настоящей работы явилась оценка способности почвенных изолятов *Pantoea brenneri* к колонизации растений для использования в качестве биоудобрений.

В соответствии с поставленной целью, в работе решались следующие задачи:

- 1) Получить и охарактеризовать рекомбинантные штаммы *Pantoea brenneri*, экспрессирующие флуоресцентный белок.
- 2) Изучить свойства *Pantoea brenneri*, способствующие колонизации растений.
- 3) Исследовать способность штаммов колонизировать корни растений *Arabidopsis thaliana* и картофеля.

4) Оценить выживаемость штаммов *Pantoea brenneri* в почве и их взаимодействие с пестицидами.

ВЫВОДЫ

1) Получены рекомбинантные штаммы *Pantoea brenneri* 3.2 и 3.5.2, несущие зеленый и красный флуоресцентные белки. Интродукция флюоресцентного белка не влияла на динамику роста бактерий, продукцию индол-3-уксусной кислоты и сидерофоров.

2) Установлены свойства *Pantoea brenneri*, демонстрирующие ее потенциал к колонизации растений: продукция индол-3-уксусной кислоты, образование биопленок, синтез сидерофоров катехолового типа.

3) Ризосферные штаммы *Pantoea brenneri* 3.2 и 3.5.2 обладали способностью к колонизации как корней модельного растения *Arabidopsis thaliana*, так и картофеля сорта Жуковский в условиях *in vitro* путем образовывания микроколоний на поверхности, вдоль и внутри корней.

4) Штаммы *Pantoea brenneri* сохраняли жизнеспособность в почве в течение 15 суток и устойчивы к фунгициду дифеноконазолу и препарату «Триходерма»; инсектициду имидаклоприду; гербициду метрибузину.