

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

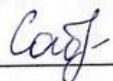
Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭНДОФИТНЫХ
БАКТЕРИЙ КАРТОФЕЛЯ

Студент 4 курса
группы 01-805

"31" мая 2022 г.



(Сабилова З.Р.)

Научный руководитель
к.б.н., доцент

"31" мая 2022 г.



(Карамова Н.С.)

Заведующий кафедрой
микробиологии
д.б.н., профессор

"31" мая 2022 г.



(Ильинская О.Н.)

Казань – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Взаимоотношение растений и микроорганизмов	7
1.2 Механизмы стимуляции роста растений микроорганизмами	11
1.2.1 Синтез фитогормонов микроорганизмами	12
1.2.2 Улучшение питания растений	17
1.2.2.1 Повышение доступности фосфора для растений	18
1.2.2.2 Фиксация молекулярного азота микроорганизмами	20
1.3 Антагонистическая активность эндофитных бактерий в отношении фитопатогенов	22
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	25
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	25
2.1 Объекты исследования	25
2.1.1 Изоляты эндофитных бактерий	25
2.1.2 Фитопатогенные микроорганизмы	25
2.2 Питательные среды, растворы и реактивы	25
2.3 Культивирование микроорганизмов	26
2.4 Методы исследования	27
2.4.1 Оценка ростостимулирующего потенциала изолятов эндофитных бактерий в условиях защищенного грунта	27
2.4.2 Количественное определение ИУК в культуральной жидкости изолятов эндофитных бактерий	28
2.4.3 Исследование фитатгидролизующей активности бактерий	28
2.4.4 Исследование фосфат-мобилизующей активности бактерий	29
2.4.5 Исследование способности изолятов фиксировать атмосферный азот	29

2.4.6 Исследование способности бактерий продуцировать сидерофоры катехолового типа	29
2.4.7 Оценка антимикробной активности методом агаровых блоков	30
2.4.8 Исследование способности изолятов эндофитных бактерий продуцировать аммиак	30
2.4.9 Определение способности изолятов эндофитов синтезировать синильную кислоту	31
2.4.10 Количественное определение суммы фенольных соединений	31
2.4.11 Экстракция экзометаболитов изолятов бактерий из культуральной жидкости	31
2.4.12 Исследование чувствительности изолятов эндофитных бактерий к антибиотикам	32
2.5 Статистический анализ данных	33
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	34
3.1 Влияние изолятов эндофитных бактерий на рост и развитие растений картофеля сорта Самба	34
3.2 Оценка способности эндофитных бактерий синтезировать ИУК	35
3.3 Фитатгидролизующая и фосфат-мобилизующая активность	37
3.4 Оценка способности эндофитных бактерий к фиксации азота	39
3.5 Продукция сидерофор	41
3.6 Антимикробная активность изолятов эндофитных бактерий	42
3.7 Оценка способности изолятов эндофитных бактерий продуцировать синильную кислоту и аммиак	43
3.8 Количественное определение суммы фенольных соединений в экстрактах культуральной жидкости изолятов эндофитов	44
3.9 Чувствительность бактериальных изолятов к антибиотикам	45
ВЫВОДЫ	47
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	48

ВВЕДЕНИЕ

Эндوفитные бактерии – это живые микроорганизмы, обитающие внутри тканей растений, не оказывая им видимого отрицательного воздействия [Golinska *et al.*, 2015; Oukala *et al.*, 2021]. Напротив, в литературе встречается много информации о том, что для эндوفитов характерно мутуалистическое взаимодействие с растением-хозяином [Hallman *et al.*, 1997, Zhou *et al.*, 2021; Казарцев с соавт., 2021]. Эндوفитные бактерии повсеместно распространены у большинства видов растений, включая дикорастущие и культурные виды, начиная от лекарственных трав и заканчивая сельскохозяйственными культурами [Rayan *et al.*, 2021]. Помимо проникновения в растения через естественные отверстия или раны, эндوفитные бактерии, по-видимому, активно проникают в ткани растений, используя гидролитические ферменты, такие как целлюлаза и пектиназа [Хайруллин, Сарварова, 2016]. Стоит отметить, что, как правило, эндوفитные бактерии происходят из эпифитных бактериальных сообществ ризосферы и филлопланы, а также семян или посадочного материала [Hallman *et al.*, 1997 ; Феоктистова с соавт., 2016]. В настоящее время изучение эндوفитных бактерий является довольно актуальной и перспективной областью для исследований ввиду того, что эндوفиты могут производить различные биологически активные вещества: фитогормоны, витаминные, антибактериальные, противоопухолевые соединения, а также повышать устойчивость растений к фитопатогенам и различного рода паразитам [Adegboye *et al.*, 2012 ; Igarashi *et al.*, 2012 ; Wu *et al.*, 2021]. Также во многих научных работах подробно описываются разные механизмы стимуляции роста растений эндوفитными бактериями: повышение доступности фосфора и молекулярного азота, выработка гормональных соединений [Ступин., 2021; Imade, Babalola., 2021].

Широко известен факт, что химические средства защиты могут оказывать вредное воздействие на человека и на биосферу Земли в целом

[Дьякова с соавт., 2021; Брик, Ефимова, 2022]. Именно поэтому создание и использование биопрепаратов на основе полезных для растений микроорганизмов для сельскохозяйственного производства (растениеводства) вместо химических средств защиты растений является остроактуальной темой в современном мире [Бесчастнова, 2021; Ji *et al.*, 2021]. Вот почему в последние десятилетия все активнее и активнее обсуждается использование препаратов, созданных на основе эндофитных микроорганизмов [Гарипова, 2014 ; Кулабухова, 2017 ; Сорокань с соавт., 2021].

Целью настоящей работы явилась оценка ростостимулирующего потенциала эндофитных бактерий картофеля.

В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**:

- 1) Охарактеризовать ростостимулирующую активность изолятов эндофитных бактерий на растениях картофеля в условиях защищенного грунта.
- 2) Оценить способность изолятов эндофитных бактерий синтезировать фитогормон индолил-3-уксусную кислоту и сидерофоры.
- 3) Определить фитатгидролизующий, фосфатмобилизующий, азотфиксирующий потенциалы исследуемых изолятов.
- 4) Охарактеризовать антимикробное действие изолятов эндофитов в отношении фитопатогенных микромицетов.
- 5) Оценить способность исследуемых изолятов синтезировать антимикробные метаболиты (аммиак, синильная кислота, фенольные соединения).
- 6) Определить антибиотикочувствительность исследуемых изолятов.

ВЫВОДЫ

1) Изоляты эндофитных бактерий оказывает ростостимулирующий эффект в отношении растений картофеля в условиях защищенного грунта, выражающийся в увеличении длины и количества стеблей, количества и массы клубней, содержания сухого вещества и крахмала в клубнях растений.

2) Исследуемые изоляты эндофитных бактерий продуцируют сидерофоры катехолового типа и фитогормон индолил-3-уксусную кислоту. Изолят 1 продуцирует максимальное количество ИУК на пятый день (14.57 мкг/мл), а изолят 2 – на седьмой день (6.32 мкг/мл) культивирования.

3) Изоляты эндофитных бактерий обладают фитатгидролизующей и фосфатмобилизующей активностью. Изолят 1 демонстрирует азотфиксирующий потенциал.

4) Фунгистатический эффект, проявляемый изолятом 1 в отношении *Colletotrichum sp.* С18ТКС3 составляет 59 %, изолятом 2 – 60.6 %; Ингибирование роста *Rhizoctonia solani* VKM F-895 изолятом 1 достигает 66.2%, а изолятом 2 – 51.2 %.

5) Исследуемые изоляты способны синтезировать аммиак и фенольные соединения.

6) Изоляты эндофитных бактерий проявляют чувствительность к четырем из 5 исследованных антибиотиков. Изолят 1 резистентен к полимиксину, а изолят 2 – к ванкомицину.