

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  
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА РАСЩЕПЛЕНИЕ  
ПОЧВЕННЫХ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ФОСФАТОВ ШТАММАМИ  
*PANTOEA BRENNERI*

Студент 4 курса  
группы 01-803

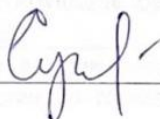
" 1 " июня 2022 г.



(Сокольникова Л.В.)

Научный руководитель  
к.б.н., доцент

" 1 " июня 2022 г.



(Сулейманова А. Д.)

Заведующий кафедрой  
микробиологии  
д.б.н., профессор

" 1 " июня 2022 г.



(Ильинская О.Н.)

Казань – 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	7
1.1 Механизмы действия RGPB	7
1.1.1 Фитогормоны	7
1.1.1.1 Ауксин	8
1.1.1.2 Гиббереллин	9
1.1.1.3 Цитокинин	9
1.1.1.4 Абсцизовая кислота	9
1.1.1.5 Этилен и АЦК-дезаминаза	9
1.1.2 Сидерофоры	10
1.1.3 Увеличение доступности макроэлементов	11
1.1.4 Индуцированная системная резистентность	13
1.2 Круговорот фосфора	14
1.3 Минерализация органического фосфора	16
1.4 Солюбилизация неорганического фосфора	17
1.5 Влияние бактерий рода <i>Pantoea</i> на растения	19
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	25
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b>	25
2.1 Объекты исследования	25
2.2 Питательные среды и условия культивирования	25
2.3 Оценка солюбилизации трикальцийфосфата штаммом <i>P. brenneri</i>	25
3.5.2	
2.4 Исследование влияния компонентов питательной среды на солюбилизацию трикальцийфосфата штаммом <i>P. brenneri</i>	27
3.5.2	
2.5 Стерилизация семян	27
2.6 Изучение влияния штамма <i>P. brenneri</i> 3.5.2 на рост и развитие	28

пшеницы	
2.7 Биоинформатический анализ	28
2.8 Математическая обработка результатов	28
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b>	<b>30</b>
3.1 Способность штамма <i>P. brenneri</i> 3.5.2 к солюбилизации $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	30
3.2 Влияние различных источников углерода на фосфатсолюбилизирующую способность штамма <i>P. brenneri</i> 3.5.2 в среде NBRIP с $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	32
3.3 Влияние различных источников азота на фосфатсолюбилизирующую способность штамма <i>P. brenneri</i> 3.5.2 в среде NBRIP с $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	34
3.4 Функциональная аннотация генома штамма <i>P. brenneri</i> 3.5.2	36
3.5 Влияние штамма <i>P. brenneri</i> 3.5.2 на рост и развитие пшеницы	37
<b>ВЫВОДЫ</b>	<b>44</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	<b>45</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Урожайность сельскохозяйственных культур главным образом ограничивается истощением почв и действием патогенных микроорганизмов [Vasseur-Coronado *et al.*, 2021]. Одним из наиболее ограничивающих продуктивность растительной биомассы макроэлементов является фосфор. Его дефицит – распространенная проблема сельского хозяйства во всем мире [Zhu *et al.*, 2018]. Фосфор является вторым важнейшим элементом после азота, который необходим для роста и развития растений. Его содержание составляет 0.2% от сухого веса растений [Alori *et al.*, 2017]. Фосфор содержится в различных биологических молекулах растений, например, в нуклеиновых кислотах, фосфолипидах, фосфопротеинах, коферментах. Большинство почв содержит высокое количество фосфора. Однако более 80% от всего объема является труднодоступным для растений. Для обеспечения растений фосфором в почву обычно вносят минеральные удобрения, которых, однако, недостаточно для полноценного развития сельскохозяйственных культур. К тому же, предыдущие исследования показали, что пик добычи фосфатных пород, которые используются для производства удобрений, должен прийти на 2030 год, и данные запасы будут исчерпаны в ближайшие 50-100 лет [Tian *et al.*, 2021].

Постоянное использование химикатов имеет негативные последствия, например, ведет к эвтрофикации водоемов и загрязнению подземных вод. Альтернативным решением может служить внедрение в сельское хозяйство биоудобрений. Данный подход является более экологичным и перспективным решением, чем использование химикатов и пестицидов [Alori *et al.*, 2017]. Биоудобрения состоят из микроорганизмов, относящихся к группе RGPB. Они обладают различными механизмами стимулирования роста растений, а, следовательно, и повышения урожайности [Olanrewaju *et al.*, 2017].

Представители рода *Pantoea* способны к солюбилизации фосфатов и обладают другими PGP-свойствами, вследствие чего могут потенциально быть использованы в качестве биоудобрений [Estenson *et al.*, 2018].

Целью работы явилось исследование влияния компонентов питательной среды на солюбилизацию трикальцийфосфата штаммом *P. brenneri* 3.5.2 и влияния бактерий на рост и развитие пшеницы.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Изучить влияние компонентов питательной среды на высвобождение фосфатов штаммом *P. brenneri* 3.5.2.
- 2) Провести биоинформатический анализ генома штамма *P. brenneri* 3.5.2 для идентификации генов, ассоциированных с PGP-свойствами штамма.
- 3) Оценить влияние штамма *P. brenneri* 3.5.2 на рост и развитие пшеницы.

## ВЫВОДЫ

1) Установили, что штамм *P. brenneri* 3.5.2 обладал высокой способностью к высвобождению фосфатов из труднорастворимого трикальцийфосфата - эффективность солубилизации составила 87.33%, а количество свободных фосфатов достигало 1253.49 мг/л на 24 ч культивирования. Максимальный выход фосфатов наблюдался при использовании глюкозы и сульфата аммония в качестве источников углерода и азота, соответственно.

2) При проведении биоинформатического анализа генома штамма *P. brenneri* 3.5.2 были идентифицированы гены, ассоциированные с RGP-свойствами: 4 гена, ответственных за биосинтез ауксина, 20 генов, кодирующих сидерофоры, 23 гена, задействованных в выработке органических кислот, 11 генов, задействованных в ассимиляции аммиака, 26 генов, связанных с фосфатным обменом, 8 генов, ответственных за производство колицина V.

3) При оценке влияния штамма *P. brenneri* 3.5.2 на рост и развитие пшеницы было установлено, что предпосевная обработка семян увеличивает их энергию прорастания и лабораторную всхожесть. Длина корней семян сорта «Тулаевская», инокулированных штаммом *P. brenneri* 3.5.2, была увеличена на 37.2% по сравнению с контролем, а длина корней семян сорта «Злата» - на 16.6%. Длина побегов семян сорта «Тулаевская», инокулированных штаммом *P. brenneri* 3.5.2, была увеличена на 10.7% по сравнению с контролем, а длина побегов семян сорта «Злата» - на 15.4%. При исследовании влияния дополнительной обработки семян культуральной жидкостью штамма *P. brenneri* 3.5.2 было установлено, что рост корней у инокулированных растений ингибировался по сравнению с контрольными растениями. Длина побегов семян сорта «Тулаевская», инокулированных штаммом *P. brenneri* 3.5.2, была увеличена на 57.7% по сравнению с контролем, а длина побегов семян сорта «Злата» - на 67.9%.