

Министерство образования и науки РФ  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

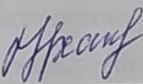
Направление: 06.03.01 (ОКСО 020400.62) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Дипломная работа

**РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭНДОФИТНЫХ  
БАКТЕРИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ**


Работа завершена:

" 22 " мая 2018г.  (Г.И.Хакимуллина)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

к.б.н., доцент

" 23 " мая 2018 г.  (Н.С. Карамова)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

" " 2018г.  (О.Н. Ильинская)

Казань–2018

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4	
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	Ошибка! Закладка не определена.	
1.1 Взаимоотношения между растениями и микроорганизмами	Ошибка! Закладка не определена.	
1.2 Эпифитные микроорганизмы .....	Ошибка! Закладка не определена.	
1.3 Эндифитные микроорганизмы.....	Ошибка! Закладка не определена.	
1.4 Применение эндифитных бактерий в сельском хозяйстве и биотехнологии	..... Ошибка! Закладка не определена.	
1.5 Гормоны роста растений .....	Ошибка! Закладка не определена.	
1.5.1 Синтез фитогормонов микроорганизмами .....	Ошибка! Закладка не определена.	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	Ошибка! Закладка не определена.	
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.1.Объект исследования .....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.2 Питательные среды и растворы .....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.3 Культивирование бактерий.....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.4. Идентификация эндифитных бактерий по определению нуклеотидной	последовательности гена 16S РНК .....	Ошибка! Закладка не определена.
2.4.1 Выделение ДНК.....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.4.2 Электрофорез ДНК .....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.4.3 Полимеразная цепная реакция .....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.4.4 Секвенирование ДНК .....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.5 Исследование морфологии эндифитных бактерий (изолят 22) методом	сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) .....	Ошибка! Закладка не определена.
2.6. Экстракция эндо- и экзо метаболитов бактерий	Ошибка! Закладка не определена.	
2.6.1 Экстракция экзо метаболитов из культуральной жидкости бактерий .	Ошибка! Закладка не определена.	
2.6.2 Выделение эндометаболитов из гомоегната клеток бактерий.	Ошибка! Закладка не определена.	
2.7 Тонкослойная хроматография (ТСХ) .....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.8. Оценка ростостимулирующей активности эндифитных бактерий .....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.8.1 Тестерные растения.....	Ошибка! Закладка не определена.	
2.8.2 Подготовка культуры эндифитных бактерий для обработки семян тестерных	растений.....	Ошибка! Закладка не определена.
2.8.3 Проведение эксперимента по оценке фитостимулирующей активности	эндифитных бактерий .....	Ошибка! Закладка не определена.

2.9 Статистическая обработка результатов .....	Ошибка! Закладка не определена.
<b>РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....</b>	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
3.1 Идентификация эндофитных бактерий (изолят 22), выделенных из растений картофеля .....	Ошибка! Закладка не определена.
3.2 Сканирующая электронная микроскопия клеток эндофитных бактерий .....	Ошибка! Закладка не определена.
3.3 Оценка фитостимулирующей активности изолята 22 .....	Ошибка! Закладка не определена.
3.4 Качественное определение регуляторов роста в культуральной жидкости изолята 22 .....	Ошибка! Закладка не определена.
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>8</b>

## РЕФЕРАТ

Ранее в нашей лаборатории были выделены эндофитные бактерии из разных частей растений картофеля сорта Регги. Было установлено, что изолят 22 эндофитных бактерий оказывает хорошо заметный ростостимулирующий эффект по отношению к растению картофелю сорта Регги.

Целью данной работы явилось оценка ростостимулирующего потенциала эндофитных бактерий растений картофеля сорта Регги. Для достижения данной цели выполнялись следующие задачи:

- 1) Идентифицировать эндофитный бактериальный изолят, выделенный из растений картофеля сорта Регги.
- 2) Оценить фитостимулирующую активность эндофитных бактерий по влиянию на прорастание семян кресс-салата и гороха.
- 3) Определить способность эндофитных бактерий синтезировать регуляторы роста растений.

Видовую принадлежность изолята 22 определяли по гомологии гена 16S рРНК.

При сканирующей электронной микроскопии установили, что клетки изолята 22 представляют собой палочки, правильной формы, преимущественно одиночные.

Далее нами была исследована ростостимулирующая активность культуральной жидкости изолята 22 в разных разведениях по отношению к растению кресс-салата сорта «Забава» и гороха сорта «Кабан».

Ростостимулирующую активность определяли по различным морфологическим показателям и сухой биомассы растений.

Показано, что наибольшим ростостимулирующим эффектом по отношению к обоим видам растений обладает культуральная жидкость в разведении 1/10000.

Чтобы определить, действием каких метаболитов обусловлен такой ростостимулирующий эффект нами было проведено ВТСХ. Для этого были предварительно были получены экстракты экзо- и эндометаболитов.

По полученной хроматограмме следует, что исследуемые нами экстракты изолята 22 содержат различные метаболиты. Причем некоторые вещества, содержащиеся в экстрактах 2-х суточной культуры, уже не обнаруживаются на 10 сутки, но в то же время в экстрактах 10-ти суточной культуры появляются новые соединения.

Денситометрический анализ полученной хроматограммы позволило установить, что в ацетоновом экстракте гомогената клеток выявлено 7 веществ из них 5 являются предшественниками ИУК. В этилацетатном экстракте выявлено 18 веществ.

Таким образом, из полученных результатов следует, что исследуемый нами штамм способен синтезировать различные экзо- и эндометаболиты, в том числе и известные регуляторы роста растений.

## ВВЕДЕНИЕ

Увеличение уровня продуктивности сельскохозяйственного производства является одной из важнейших проблем современности. Для сохранения плодородия почвы и предотвращения поступления в нее химических удобрений, в настоящее время разрабатываются комплексные меры по повышению урожайности экономически важных культур, в том числе ведутся исследования по созданию новых, эффективных биопрепаратов на основе перспективных штаммов микроорганизмов [Сидоренко, 2012].

На сегодняшний день, на нашей планете произрастает около 300 000 видов растений и предполагается, что каждое растение содержит в своих тканях эндофитные микроорганизмы [Gustavo Santoyo *et al.*, 2016]. Согласно Partida-Martinez and Heil (2011) растения, лишённые эндофитных микоризоорганизмов, являются редким исключением. Основываясь на исследования Тиммуск с соавт. [Timmusk *et al.*, 2011] можно сказать, что растения без эндофитных бактерий являются уязвимыми, и менее устойчивы к действию различных патогенов и внешних стрессовых состояний.

Благоприятное действие микроорганизмов на рост и накопление биомассы культурных растений связано с улучшением усвояемости питательных веществ клетками растений, выделением различных регуляторов роста растений, вторичных метаболитов, участвующих в защите от патогенов, осмолпротекторов, способствующих преодолению растениями абиотических стрессов. Сильное ростостимулирующее действие многих эндофитных бактерий основано на том, что они могут модифицировать растительные экссудаты и макромолекулы в формы, доступные для других ростостимулирующих микроорганизмов [Самарина с соавт., 2017].

Использование эндофитных бактерий для обработки семян или взрослых растений направлено, прежде всего, на повышение урожайности сельскохозяйственных культур, а также их устойчивости к разным фитопатогенам и неблагоприятным условиям среды. Такая отрасль

применения микроорганизмов рассматривается как направление, связанное с экологически чистой технологией производства продуктов питания.

На сегодняшний день представители рода *Bacillus* считаются самыми перспективными и широко используемыми в данной отрасли микроорганизмами т.к. обладают рядом благоприятных свойств, главными из которых являются:

- 1) Синтез фитогормонов;
- 2) Способность к фосфат-мобилизации;
- 3) Высокая приспособляемость и выживаемость в неблагоприятных условиях [Кузьмина с соавт., 2014].

Целью данной работы явилось оценка ростостимулирующего потенциала эндофитных бактерий растений картофеля сорта Регги. Для достижения данной цели выполнялись следующие задачи:

- 1) Идентифицировать эндофитный бактериальный изолят, выделенный из растений картофеля сорта Рэгги.
- 2) Оценить фитостимулирующую активность эндофитных бактерий по влиянию на прорастание семян кресс-салата и гороха.
- 3) Определить способность эндофитных бактерий синтезировать регуляторы роста растений.

## **ВЫВОДЫ**

- 1) Изолят №22 эндофитных бактерий растений картофеля сорта Регги идентифицирован на основании фенотипических признаков и анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.
- 2) Культуральная жидкость изолята 22 в разведении 1/10000 оказывает наибольший ростостимулирующий эффект в отношении растений гороха и кресс-салата, выражающийся в увеличении длины стеблей и корешков и общей сухой биомассы растений.
- 3) Эндофитный штамм способен синтезировать широкий спектр эндо- и экзометаболитов, в том числе регуляторы роста растений.