

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**МИКРОБНЫЕ АССОЦИАЦИИ РАСТЕНИЙ РЖИ СОРТА
«МАРУСЕНЬКА»**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 422 группы

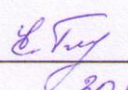
Направления подготовки 06.03.01 Биология

Биологического факультета

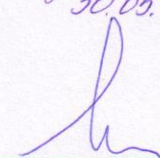
Дымнич Антонины Сергеевны

Научный руководитель:

доцент кафедры микробиологии
и физиологии растений, к.б.н., доцент

 Е.В. Глинская
30.05.18

Зав. кафедрой микробиологии
и физиологии растений, д.б.н., профессор

 С.А. Степанов
30.05.18

Саратов 2018

Введение

Актуальность темы. Растения занимают важное место в нашей жизни. Они не только являются основным источником кислорода, но и широко применяются в разных сферах человеческой деятельности, в частности – пищевой промышленности [1]. В России главным продуктом питания населения является хлеб, его полезные качества зависят от злаков. Для изготовления хлеба и выпечки используют овес, ячмень, просо, пшеницу и рожь. Наиболее полезной считается рожь, и это обоснованно. В ней, помимо основных компонентов – углеводы, клетчатка, белки, вода и жиры – присутствует ряд витаминов [2]. К преимуществам этого растения, в сравнении с другими злаковыми культурами, можно отнести устойчивость к морозам, сильным засухам, способность давать рентабельный урожай на малоплодородных, песчаных и кислых почвах. Но даже она не застрахована от паразитов и болезней, которые могут быть вызваны фитопатогенными микроорганизмами [3]. Поэтому своевременное обнаружение возбудителей различных заболеваний растений и их локализация, а так же повышение устойчивости к различным неблагоприятным факторам среды – это основная проблема сельского хозяйства [4].

Микробные ассоциации играют важную роль в жизни растений. Они минерализуют органические вещества, делая доступными многие химические элементы, продуцируют стимуляторы роста, смягчают неблагоприятные воздействия среды, удаляют токсичные вещества из корневой зоны, обеспечивают экосистемы азотом (азотфиксаторы). Но микроорганизмы способны оказывать и негативное воздействие на растения. Создавать анаэробные условия в переувлажненных почвах, продуцировать большое количество ядовитого для всего живого сероводорода, вызывать болезни (фитопатогенные) [5]. В настоящее время микробные ассоциации злаковых культур изучены слабо. Поэтому целью настоящей работы являлось изучение микробных ассоциаций растений ржи сорта «Марусенька» [6].

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлось изучение микробных ассоциаций растений ржи сорта «Марусенька». Для достижения указанной цели были определены следующие задачи.

1. Определить видовой состав ассоциативных микроорганизмов побегов и ризосферы растений в разные фазы развития (колошение, созревание, молочная спелость).
2. Определить индекс встречаемости и количественные показатели ассоциативных микроорганизмов растений ржи сорта «Марусенька».
3. Изучить биохимические свойства выделенных культур микроорганизмов.
4. Выявить наличие фитопатогенных и энтомопатогенных бактерий в исследуемых пробах растений и почвы.

Материал и методы исследования. Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского» в период с 2017 г. по 2018 г.

Объектом исследования являлись растения ржи сорта «Марусенька», собранные на полях ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока» (Саратов, Россия).

Микробиологические исследования осуществляли стандартными методами, такими как посев поверхности растений, посев внутренней среды растений, посев ризосферы, изучение биологической активности выделенных штаммов, идентификация выделенных штаммов.

Структура и объем работы. Работа изложена на 62 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 2 рисунками. Список использованных источников 151 наименование.

Основное содержание работы

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных о злаковых культурах, их систематическом положении, биологических и экологических особенностях, фенотипических фазах развития, о микроорганизмах - ассоциантах, обитающих на поверхности, внутри и прикорневой почве растений. Представлены сорта ржи Саратовской селекции, и злаковая тля, как вредитель сельскохозяйственных культур, переносчик возбудителей болезней растений, а так же основные методы борьбы с ней.

В главе «Результаты исследования» изложены экспериментально полученные данные о составе, количественных показателях, индексе встречаемости ассоциативных микроорганизмов, которые были выделены с поверхности, внутренней среды и ризосферы растений озимой ржи сорта «Марусенька» на разных фенофазах развития. Представлены данные о биологических свойствах выделенных культур микроорганизмов, и наличии фитопатогенных и энтомопатогенных бактерий в исследуемых пробах растений и почвы.

В ходе проведенных исследований из 90 образцов стеблей, листьев и почвы было выделено 32 штамма бактерий, которые были отнесены к 7 родам и 18 видам, из которых 9 – грамотрицательные палочки, 1 – грамположительная палочка, 5 – грамположительных споровых палочки и 3 – грамположительных кокка.

С поверхности растений ржи сорта «Марусенька», методом отпечатка, выделены и идентифицированы, 6 видов микроорганизмов, отнесенных к 4 родам (*Bacillus*, *Erwinia*, *Listeria*, *Staphylococcus*). В период колошения наблюдается наибольшее количество микроорганизмов рода *Erwinia* с индексом встречаемости до 80 %. *Bacillus oleranius* присутствует в большом количестве (5,9 КОЕ / см²) на стадии созревания, но с меньшим индексом встречаемости (30 %), по сравнению с предыдущим периодом. На этапе «молочная спелость», ходе работы, были выявлены только микроорганизмы вида *Erwinia persicinus* (индекс встречаемости 90 %), в количестве 1,1 КОЕ / см².

При изучении внутренней среды было выделено 8 видов бактерий, отнесенных к 3 родам (*Erwinia*, *Paracoccus*, *Staphylococcus*), где род *Erwinia* представлен наибольшим числом видов. Во внутренней среде растения в период колошения присутствуют микроорганизмы рода *Erwinia*, в особенности виды *E. stewarti* (10^5 КОЕ / г, индекс встречаемости 100 %) и *E. chrysanthemi* (10^3 КОЕ / г, индекс встречаемости 80 %). В фазе созревания присутствуют другие виды микроорганизмов из рода *Erwinia*, преимущественно вид *E. carotovora* (10^4 КОЕ / г, индекс встречаемости 70 %). Вид *Paracoccus alcaliphillus* обнаружен в количестве 10^5 КОЕ / г, с индексом встречаемости 50 %, а вид *Staphylococcus capitis* (в количестве 10^3 КОЕ / г, индекс встречаемости 40 %). На стадии молочной спелости обнаружен вид *Erwinia uredovora* в количестве 10^5 КОЕ / г с индексом встречаемости 50 %.

При исследовании прикорневой почвы, выделено 7 видов микроорганизмов, отнесенных к 4 родам (*Bacillus*, *Kocuria*, *Xenorhabdus*, *Staphylococcus*), где род *Bacillus* представлен наибольшим числом видов. Наибольшая обсемененность наблюдалась в период колошения, и представлена в основном микроорганизмами рода *Bacillus*, а также представителями рода *Staphylococcus* и *Kocuria*. На стадии созревания обнаружен энтомопатогенный вид *Xenorhabdus luminescens* в количестве 10^4 КОЕ / г, и с индексом встречаемости 30 %. В фенофазе молочная спелость были выделены представители рода *Bacillus*. Вид *Bacillus weihenstephanensis* обнаружен в количестве 10^7 КОЕ / г, с индексом встречаемости 40 %. Вид *Bacillus okuhidensis* выделен в количестве 10^4 КОЕ / г, с индексом встречаемости 60 %, что значительно меньше, чем на стадии колошения, где его количество составило 10^8 КОЕ / г, а индекс встречаемости до 100 %.

Идентификация проводилась по Определителю бактерий Берджи путем анализа 30 фенотипических признаков [7, 8]. Статистическая обработка проводилась с использованием программы Statistica 6.0. При статистической обработке полученных данных проводился расчет основных вероятностных характеристик случайных величин: первого или нижнего квартиля (25 %), ме-

дианы (второго квартиля) для центрирования распределения и третьего или верхнего (75 %) квартиля. При проверке статистических гипотез критический уровень показателя достоверности p принимали равным 0,05. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Штаммы, полученные в ходе исследования, обладают каталазной активностью и не обладают оксидазной. Многие способны к редукции нитратов, и больше половины – к фиксации азота. Половина способна образовывать ацетоин при ферментации глюкозы, и утилизировать цитрат.

Исследуемые микроорганизмы практически не образуют газообразные продукты из пептона (такие как аммиак и сероводород). Большая часть выделенных микроорганизмов обладает протеолитическими свойствами. Хорошо выражены сахаролитические свойства, что может быть связано с высоким содержанием углеводов во флоэмном соке растений. Многие предпочитают анаэробные условия. Штаммы чувствительны к резким колебаниям температуры и устойчивы к pH в среде (5, 9, 10). Галлофилов не обнаружено, так как с повышением концентрации хлорида натрия (NaCl) в среде (от 2 до 15 %), наблюдается угнетение роста выделенных микроорганизмов.

Анализируя данные полученные в ходе исследования можно сделать заключение о том, что на поверхности растений и во внутренней среде обнаружены фитопатогенные микроорганизмы рода *Erwinia*, которые могут вызывать различные болезни растений. К примеру, *E. rhapontici* вызывает порошение зерна злаков, бобовых культур и масличного рапса. *E. stewartii* вызывает бактериоз листьев кукурузы. *E. uredovora* вызывает сердцевинную гниль у растений хлопчатника, ананаса, риса и сахарного тростника.

Особый интерес представляют энтомопатогенные микроорганизмы, выделенные из прикорневой почвы растений – *Xenorhabdus luminescens*, которые являются смертельным патогеном насекомых. Проведенное комплексное изучение микробных ассоциаций растений ржи сорта «Марусенька» открывает перспективы использования данного вида в качестве биологических методов борьбы с насекомыми - вредителями злаковых культур.

Выводы

Из побегов и ризосферы озимой ржи сорта «Марусенька» выделено 32 штамма бактерий, которые отнесены к 7 родам (*Bacillus*, *Erwinia*, *Kocuria*, *Listeria*, *Paracoccus*, *Staphylococcus*, *Xenorhabdus*) и 18 видам.

Количественные показатели и индекс встречаемости ассоциативных микроорганизмов, выделенных из побегов и ризосферы растений, различны: на поверхности растений численность бактерий варьирует от 0,1 до 10 КОЕ / см², индекс встречаемости – от 30 до 90 %;

во внутренней среде количественные показатели микроорганизмов находятся в диапазоне от 10² до 10⁵ КОЕ / г, индекс встречаемости – от 30 до 100 %;

в ризосфере растений численность бактерий составляет от 10³ до 10⁸ КОЕ / г, индекс встречаемости – 30 до 100 %.

Индекс общности видового состава поверхности и внутренней среды растений в фенофазу колошения составил 29 %, индекс общности поверхности растений и прикорневой почвы – 11 %.

Выделенные культуры микроорганизмов не образуют газообразные продукты из пептона. 94 % штаммов обладают протеолитическими и сахаролитическими свойствами, чувствительны к резким колебаниям температуры, устойчивы к рН в среде (5, 9, 10).

С поверхности и из внутренней среды растений изолированы фитопатогенные микроорганизмы рода *Erwinia*. Из ризосферы растений выделены энтомопатогенные микроорганизмы *Xenorhabdus luminescens* в количестве 10⁴ КОЕ / г с индексом встречаемости 30 %.

Список использованных источников

1. Жученко, А. А. Рожь – важнейшая продовольственная и кормовая культура России / А. А. Жученко // Агропродовольственная политика. 2012. № 3. С. 14 - 21.
2. Плешков, Б. П. Биохимия сельскохозяйственных растений / Б. П. Плешков. М.: Колос, 1965. 446 с.
3. Сортные признаки озимой ржи [Электронный ресурс]: [сайт]. URL: http://studbooks.net/1034561/agropromyshlennost/sortovye_priznaki_ozimoy#73 (дата обращения: 10.03.2018). Загл. с экрана. Яз. рус.
4. Ващенко, И. М. Биологические основы сельского хозяйства / И. М. Ващенко. М.: Академия, 2004. 544 с.
5. Юдакова, О. Ю. Справочные материалы для подготовки к итоговой аттестации по биологии / О. Ю. Юдакова [и др.]. Саратов, 2014. 183 с.
6. Сорт «Марусенька» [Электронный ресурс]: [сайт]. URL: <https://www.arisersar.ru/marusenka.htm> (дата обращения: 25.02.2018). Загл. с экрана. Яз. рус.
7. Определитель бактерий Берджи / под ред. Дж. Хоулта, И. Крига, П. Синта, Д. Стейми: в 2 Т. М.: Мир, 1997. Т. 1. 432 с.
8. Определитель бактерий Берджи / под ред. Дж. Хоулта, И. Крига, П. Синта, Д. Стейми: в 2 Т. М.: Мир, 1997. Т. 2. 368 с.

