

Όνομα φοιτητή: Ελευθερία Δημητρίου

Αριθμός φοιτητικής ταυτότητας: 2010955097

Αριθμός ταυτότητας: 972188

Επιβλέπων: Δρ. Ιάκωβος Παντελίδης

Τίτλος πτυχιακής μελέτης: “Μοριακή ταυτοποίηση του μικροβιακού πληθυσμού ζυμωμένου οργανικού υποστρώματος φυτικής προέλευσης”

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ένα από τα πιο σημαντικά θέματα που απασχολούν την επιστημονική κοινότητα την περίοδο που διανύουμε είναι η συνεχώς αυξανόμενη απαίτηση των καταναλωτών για γεωργικά προϊόντα με λιγότερα χημικά κατάλοιπα και η προστασία του περιβάλλοντος. Επιπλέον, σε ότι έχει να κάνει με τα εδαφογενή παθογόνα, των οποίων η χημική καταπολέμηση είναι δύσκολη, πολλά από τα σκευάσματα που χρησιμοποιούνταν για την απολύμανση των εδαφών καταργήθηκαν κάνοντας ακόμα πιο σημαντική την βιολογική καταπολέμηση αυτών. Μέσα σε αυτό το πλαίσιο, έχει αναφερθεί σε πολλές εργασίες ότι τα ζυμωμένα οργανικά υποστρώματα (κόμποστ) περιέχουν μικροοργανισμούς που μπορούν να καταστέλλουν εδαφογενή και εναέρια φυτοπαθογόνα. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η απομόνωση και καταμέτρηση του μικροβιακού φορτίου, η μοριακή ταυτοποίηση και η συχνότητα εμφάνισης των μικροοργανισμών ενός κόμποστ, που σε προκαταρκτικά πειράματα έδειξε ότι μπορεί να μειώσει τα συμπτώματα που προκαλούν τα παθογόνα των αδρομυκώσεων στην τομάτα. Για την πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε κόμποστ κυπριακής παραγωγής αποκλειστικά φυτικής προέλευσης. Αρχικά, έγινε απομόνωση μικροοργανισμών σε κατάλληλα θρεπτικά υποστρώματα για βακτήρια και μύκητες, μετά από δεκαδικές αραιώσεις αιωρήματος κόμποστ σε νερό. Με βάση τους αριθμούς των μικροοργανισμών που μετρήθηκαν στα τριβλία υπολογίστηκε ότι το μικροβιακό φορτίο του κόμποστ ήταν $8.67 \log \text{ cfu/g}$ για τα βακτήρια και $7.48 \log \text{ cfu/g}$ για τους μύκητες. Στη συνέχεια επιλέχθηκαν για μοριακή ταυτοποίηση όλοι οι μικροοργανισμοί που αναπτύχθηκαν στα τριβλία της κατάλληλης αραιώσης (όπου οι αποικίες ήταν διακριτές μεταξύ τους). Από το μοριακό χαρακτηρισμό διαπιστώθηκε ότι το γένος βακτηρίων που εμφανίστηκε σε μεγαλύτερη συχνότητα ήταν το *Bacillus* ταυτοποιήθηκαν τα είδη *Bacillus foraminis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus endophyticus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus niabensis*. Σε μικρότερους πληθυσμούς ταυτοποιήθηκαν άλλα είδη που ανήκουν στα γένη *Staphylococcus*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Cellulosimicrobium*, *Arthrobacter*, *Lysinibacillus*, *Paucisalibacillus* και *Brevundimonas*. Τα γένη μυκήτων που ταυτοποιήθηκαν και απομονώθηκαν με μεγαλύτερη συχνότητα από το υπό εξέταση κόμποστ ανήκαν στα γένη *Aspergillus* και *Scedosporium* ενώ σε μικρότερους πληθυσμούς έχουν βρεθεί μύκητες *Penicillium sp.*, *Microascus sp.*, *Hydrophisphaera sp.*, *Alternaria sp.*, *Arthrographis sp.*, *Fusarium sp.*, *Lichtheimia sp.* Έξι είδη βακτηρίων, που απομονώθηκαν από το κόμποστ στην παρούσα εργασία, έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία ως βιολογικοί παράγοντες ελέγχου των ασθενειών των φυτών. Παρόλα αυτά είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι πολλοί από τους ευεργετικούς μικροοργανισμούς που βρέθηκαν πιθανό να μην αποικίσουν τη ρίζα των φυτών, αφού για να συμβεί αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία το φυτικό είδος και οι

εκκρίσεις των ριζών του. Για αυτό το λόγο κρίνεται απαραίτητο να εξεταστούν και οι μικροβιακοί πληθυσμοί που καταλήγουν στη ριζόσφαιρα των φυτών αφού αυτοί θα βρίσκονται σε άμεση επαφή με τη ρίζα και θα αλληλεπιδρούν με αυτή. Με αυτό τον τρόπο θα έχουμε μια ολοκληρωμένη εικόνα για το ποιοι από τους βιολογικούς παράγοντες που βρέθηκαν στο κόμποστ έχουν μετακινηθεί και εγκατασταθεί στη ριζόσφαιρα και πιθανόν να λειτουργούν ως βιολογικοί παράγοντες καταπολέμησης των ασθενειών των φυτών.

TITLE: “Molecular identification of the microorganisms’ population of a compost from recycled plant origin material”

ABSTRACT

One of the most important issues the scientific community has to confront is the increasing consumer demand for agricultural products with less chemical residues and the protection of the environment at the same time. Moreover, regarding the soilborne plant pathogens, the efficient chemicals used to control them are now banned rendering biological control most important. In this frame, a number of studies report the usage of compost containing beneficial microorganisms that are able to suppress soilborne and aerial plant pathogens. The aim of this study was the isolation and enumeration of the microbial community, the molecular identification and the incidence of microorganisms in compost, which in preliminary experiments showed suppressive effects on the wilt pathogens of tomato. For the implementation of this study, compost produced exclusively of Cyprus was used. Initially, bacteria and fungi were isolated on suitable nutrient media after serial dilutions of compost in water. Based on the colony forming units (cfu) counted on plates the microbial load of the compost was calculated and was found 8.67 log cfu/g for bacteria and 7.48 log cfu/g for fungi. Then, all microorganisms grown on plates (dilution plates with separate cfu’s) were selected for molecular identification. It was revealed that *Bacillus* was the most frequent bacterial genus isolated from the compost. The species identified were: *Bacillus foraminis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus firmus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus endophyticus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus niabensis*. Other bacteria identified in lower frequencies were *Staphylococcus*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Cellulosimicrobium*, *Arthrobacter*, *Lysinibacillus*, *Paucisalibacillus* and *Brevundimonas*. The fungi *Aspergillus* and *Scedosporium* were identified and isolated from the compost at a greater incidence whereas *Penicillium sp.*, *Microascus sp.*, *Hydropisphaera sp.*, *Alternaria sp.*, *Arthrographis sp.*, *Fusarium sp* and *Lichtheimia sp* were isolated in lower frequencies. Six bacterial species isolated from the compost have been reported in the literature as biological control agents. However, it is important to note that many of the microorganisms found in the compost are not likely to colonize the plant roots since plant species and roots secretions play a key role and directly influence the microorganisms associated with the roots. For this reason it is necessary to consider the microbial populations ending in the rhizosphere of plants since they will be in contact with the roots and interact with them. In this manner the microorganisms in the compost that were attracted to the roots and probably act as biological control agents will be identified.